

На правах рукописи

ШАКИРОВА ВЕНЕРА ГУСМАНОВНА

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ
И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ
С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ**

3.1.22. Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва 2022

Работа выполнена в Казанской государственной медицинской академии – филиале ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Хаертынова Ильсияр Мансуровна, доктор медицинских наук, профессор
Хайбуллина Светлана Францевна, доктор медицинских наук.

Официальные оппоненты:

Никифоров Владимир Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, заведующий.

Валишин Дамир Асхатович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра инфекционных болезней с курсом ИДПО, заведующий.

Бондаренко Алла Львовна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра инфекционных болезней, заведующий.

Ведущая организация: ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора

Защита состоится «26» мая 2022г. в 10 час. на заседании диссертационного совета 21.3.054.02 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России по адресу 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д. 19/38 и на сайте РМАНПО: <http://www.rmapo.ru>

Автореферат разослан «___»_ марта 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Мазанкова Людмила Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является актуальной проблемой в медицине, имеющая высокую распространенность в мире с региональными клинико-эпидемиологическими особенностями. Ежегодно в мире регистрируется более 100 тыс. случаев ГЛПС. Одно из лидирующих мест по заболеваемости принадлежит России, где диагностируется до 5–6 тыс. случаев в год (Суздальцев А.А. и др., 2014). Республика Татарстан (РТ) входит в число регионов Российской Федерации (РФ) с наиболее высокими показателями заболеваемости ГЛПС. Возбудителем ГЛПС являются ортохантавирусы принадлежащие к семейству *Bunyaviridae*, представляющие собой оболочечные вирусы с одноцепочечной РНК отрицательной полярности. ГЛПС характеризуется лихорадкой, повышенной проницаемостью сосудов, тромбоцитопенией и острым повреждением почек. При этом течение болезни в зависимости от серотипа вируса может иметь многообразие клинических проявлений (Суздальцев А.А. и др., 2014; Рошупкин В.И. и др., 1995; Сидельников Ю.Н. и др., 1998; Lee H. W. et al., 1998). Например, Puumala orthohantavirus (PUUV) вызывает эпидемическую нефропатию – лёгкую форму ГЛПС в Европейских странах (Mustonen J. et al., 2013). Природным резервуаром PUUV является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*), которая обитает в Европе и Западной Сибири. Эпидемическая нефропатия является эндемичной для Приволжского федерального округа России, в который входит РТ. Несмотря на многочисленные исследования, молекулярные патогенетические механизмы ГЛПС остаются недостаточно изученными. На основании приобретенных за последние годы данных для объяснения патогенеза хантавирусной инфекции «была предложена гипотеза *цитокинового шторма*» (Figueiredo L. T. et al., 2014). Считается, что в ответ на хантавирусную инфекцию происходит активация воспалительных цитокинов, стимулирующая иммунный ответ и эндотелиальные клетки, что приводит к нарушению регуляторных механизмов гемодинамики. Все это может нарушать физиологические процессы коагуляции, способствовать агрегации тромбоцитов и развитию коагулопатии, клинически проявляющуюся геморрагическим синдромом (Хайбуллина С. Ф., 2015).

Доказано, что ведущим клиническим синдромом ГЛПС является почечный синдром. Гистологически хантавирусная инфекция определяется как тубулоинтерстициальный нефрит с инфильтрацией лейкоцитов и интерстициальными кровоизлияниями (Mustonen J. et al., 1994; Groen J. et al., 1996). Наиболее значительные патологические изменения при ГЛПС были выявлены в почечных канальцах нефрона и менее выраженные повреждения – в клубочковой области. (Temonen M. et al., 1996).

Поиск рациональных неинвазивных методов ранней диагностики острого почечного повреждения (ОПП) при ГЛПС приобретает особую актуальность, так как классические способы оценки функциональной активности почек, которые включают измерение мочевины и креатинина крови, имеют ряд недостатков, ограничивающих ценность их применения.

Таким образом, высокие показатели заболеваемости, отсутствие глубокого понимания молекулярных основ патогенеза хантавирусной инфекции, вызывает необходимость дальнейшего изучения циркуляции хантавирусов, особенностей клинического течения патологического процесса в зависимости от типа вируса и определения четких критериев диагностики ОПП и формирования тяжелого течения ГЛПС.

Степень разработанности проблемы

Как в отечественной, так и в зарубежной литературе существуют обзоры, включающие изучение циркуляции хантавирусов среди грызунов и людей. Однако на территории РТ эта проблема остается не изученной. В настоящий момент отсутствуют сведения о взаимосвязи развития клинической картины ГЛПС с серотипами хантавируса, циркулирующих на территории РТ. Несмотря на проведение большого количества исследований при ГЛПС, остается не изученной роль хемокинов, интерлейкинов, ростовых факторов, липидов в патогенезе заболевания и их взаимосвязь с иммунным воспалением. Не решены вопросы прогнозирования тяжести ГЛПС в ранние сроки заболевания. В настоящий момент в клинической практике для диагностики ОПП используются традиционные методы с исследованием уровня мочевины и креатина, хотя существуют более специфичные методы диагностики нарушения функции почек на основе применения уренальных маркеров.

Цель исследования: определить клинико-патогенетические и эпидемиологические характеристики ГЛПС с учетом генетических

вариантов хантавирусов, имеющих прогностическое значение в формировании тяжести заболевания.

Задачи исследования

1. Провести генотипирование и филогенетический анализ хантавирусов, циркулирующих на территории Республики Татарстан среди людей и грызунов с оценкой гетерогенности популяций хантавирусов, формирующих природные очаги инфекции.

2. Выявить клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в зависимости от серотипа PUUV.

3. Оценить цитокиновый статус больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в зависимости от тяжести течения в динамике инфекционного процесса.

4. Провести динамический анализ липидного профиля у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в зависимости от тяжести течения инфекционного процесса.

5. Изучить диагностическую значимость маркеров острого почечного повреждения у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом.

6. Определить прогностические факторы формирования тяжести течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Использование молекулярно-генетических методов (на основе ПЦР-анализа и секвенирования фрагментов генома) позволило впервые изучить генетическое разнообразие популяций PUUV, циркулирующих среди людей и грызунов на территории Республики Татарстан. Впервые установлено, что на территории Республики Татарстан циркулирует только PUUV двух генетических линий – «Россия» и «Финляндия», единственным переносчиком которого является рыжая полевка (*Myodes glareolus*).

Показаны возможности использования ПЦР-анализа для оптимизации решения задач, связанных с верификацией клинического диагноза ГЛПС, выявлением основных источников инфекции. Дана клинико-лабораторная характеристика ГЛПС в зависимости от серотипов PUUV.

На основании определения цитокинового, липидного профиля и серотипов PUUV определены факторы формирования тяжести течения заболевания у больных ГЛПС.

Выявлены патологические изменения в почечной ткани на основании исследования 12 биомаркеров в моче больных ГЛПС, указывающие на разные уровни повреждения нефрона.

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложена научная идея генотипирования и филогенетического анализа хантавирусов, циркулирующих на территории Республики Татарстан, позволяющая построить прогноз тяжести течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом и разработать персонализированный подход к выбору тактики ведения пациентов.

Получены данные о циркуляции нескольких штаммов PUUV среди грызунов и людей на территории Республики Татарстан. Сиквенсы штаммов PUUV, выделенные от больных ГЛПС, могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров для определения территории заражения и могут быть применены в практике работы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) с целью оптимизации прогнозирования и профилактики заболеваемости ГЛПС.

Выявленная генетическая неоднородность PUUV вирусов определяет различные клинические варианты течения ГЛПС.

Установлено, что тяжелое течение ГЛПС сопровождается активацией хемокинов CCL3, CCL4, CCL5 в сочетании с активацией Th17 иммунного ответа с повышением IL-17, активацией Th2 с повышением IL-4, IL-5 и IL-13 и выраженной эндотелиальной дисфункцией с повышением ростовых факторов FGF-b, VEGF, PDGF-bb, GM-CSF. Наиболее значимыми маркерами формирования тяжелого течения ГЛПС в начальном периоде заболевания могут служить хемокины CCL5 и CCL4.

Выявлены особенности липидного профиля у больных ГЛПС в динамике инфекционного процесса. Показано, что ГЛПС сопровождается повышением уровня холестерина, триглицеридов и снижением ЛПВП. Повышение уровня триглицеридов и снижение ЛПВП в начале заболевания могут служить прогностическими маркерами тяжелого течения ГЛПС.

Дана характеристика биомаркеров токсического поражения почек, указывающих на повреждение различных отделов нефрона у больных ГЛПС. Повышение активности уренальных маркеров: кластерина, КИМ-1, NGAL, IL-18, цистатина С свидетельствуют о поражении проксимальных, а GST-π -дистальных отделов канальцев

нефрона. Определение кластерина, КИМ-1 в моче, может служить маркером острого почечного повреждения у больных ГЛПС.

На основании полученных результатов разработаны практические рекомендации по совершенствованию клинико-эпидемиологической и иммунологической диагностики ГЛПС, рекомендован индивидуализированный подход в тактике ведения больного с учетом оценки иммуновоспалительных нарушений.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Территория Республики Татарстан является эндемичной по геморрагической лихорадке с почечным синдромом с циркуляцией генетически неоднородных штаммов PUUV, природным резервуаром которых является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*). Выявлены различные серотипы PUUV, определяющие клинические особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом, требующие разработки персонализированного подхода к тактике ведения больного.

2. Установлено, что геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, вызванная заражением хантавирусом штаммов PUUV, характеризуется развитием динамических изменений воспалительных цитокинов, хемокинов, ростовых факторов, отражающих иммуновоспалительную реакцию организма, формированием эндотелиальной дисфункции, дислипидемии. При этом выявляется тесная корреляционная связь между маркерами эндотелиальной дисфункции и биомаркерами токсичности почек, что может быть использовано в качестве потенциальных предикторов ранней диагностики и прогнозирования тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Апробация диссертации

Апробация докторской диссертации в завершённом виде состоялась на расширенном заседании кафедры инфекционных болезней, кафедры эпидемиологии и дезинфектологии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, кафедры инфекционных болезней, кафедры детских инфекций, кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, протокол № 5 от 21 мая 2021 г.

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, (протокол № 5 от 19 мая 2021 года).

По теме диссертации опубликовано 53 печатные работы, в том числе 23 печатные работы в ведущих рецензируемых научных журналах, из них включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России - 7 и 16 – в иностранных журналах из перечней Scopus и Web of Science, а также 3 учебно-методических пособия и 1 патент на изобретение.

Материалы диссертации представлены в виде научных докладов на VII Международной научно-практической конференции «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли» (г. Казань, 2017), VII Ежегодной Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (г. Казань, 2017), Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (г. Казань, 2018), Республиканской научно-практической конференции «Методы традиционной медицины в решении актуальных вопросов практического здравоохранения» (г. Казань, 2018), Первом Всероссийском конгрессе с международным участием им. С.П. Зимницкого (г. Казань, 2018), Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (г. Благовещенск, 2018), Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (г. Казань, 2019), Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (г. Казань, 2020), X Ежегодной Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (г. Казань 2020), Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в 21 веке» (г. Казань, 2021).

Внедрение результатов диссертационного исследования

Результаты работы используются в практической деятельности ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. проф. А.Ф. Агафонова» Министерства здравоохранения Республики Татарстан (акт внедрения от 18.05.2021 года).

Новые научные данные, касающиеся этиологии, патогенеза, клиники и диагностики ГЛПС, включены в программу ординатуры по специальности «Инфекционные болезни» и в учебные планы циклов дополнительного профессионального образования и профессиональной переподготовки, проводимых кафедрой инфекционных болезней КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт внедрения от 11.05.2021 года).

Личный вклад автора в получение результатов

Автор непосредственно принимал участие во всех этапах планирования и проведения диссертационного исследования: научно-информационный поиск, формулирование проблемы, требующей разрешения, клиническое обследование больных, заполнение первичной документации, анализ клинических и лабораторных данных, статистический анализ полученных результатов. Самостоятельно проведено научное обобщение результатов, сформулирована научная идея, положения, выводы, практические рекомендации, подготовлены материалы к публикации.

Соответствие диссертации требованиям, установленным п. 14 «Положения о присуждении ученых степеней». В соответствии с Заключением об оригинальности № 291121-1, проведенным «Экспертно-аналитическим центром РАН», установлено, что «оригинальный текст, за исключением корректных заимствований, в проверяемом документе составляет 91,87%, оставшимся 8,13% соответствуют использованные ссылки на литературные источники, часто повторяющиеся устойчивые выражения, наименования учреждений, термины, цитирования текста, выдержки из документов и т. п. Таким образом, по результатам экспертного анализа на использование заимствования материала без ссылки на автора и источник заимствования, диссертация признана оригинальной (обладает высокой степенью оригинальности)».

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности

Диссертационное исследование «Клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом» соответствует формуле специальности 3.1.22. Инфекционные болезни и областям исследования п. № 2 «Клинические проявления инфекционного процесса, повреждения и нарушения функции различных органов и систем, особенности течения заболевания во всех возрастных группах, в различных условиях окружающей среды и в сочетании с другими болезнями. Прогнозирование течения инфекционного заболевания и его исходов» и п. № 3 «Диагностика инфекционных болезней с использованием клинических, микробиологических, генетических, иммунологических, биохимических, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика с другими болезнями инфекционной и неинфекционной природы».

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 228 страницах компьютерного текста, состоит из введения, литературного обзора, 4 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 129 отечественных и 323 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 28 таблицами и 27 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на базе кафедры инфекционных болезней КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ России, ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. профессора А.Ф. Агафонова» г. Казани.

Клиническая характеристика больных.

Под наблюдением в течение 2015–2019 гг. находилось 417 больных ГЛПС. В зависимости от тяжести течения болезни все больные были разделены на 3 группы (табл. 1). Первую группу составили 125 человек, имеющих легкое течение болезни, средний возраст которых был 33,06 (9,79) лет, вторую группу – 241 человек со среднетяжелым течением, возрастом 42,47 (15,12) лет и третью группу – 51 человек с тяжелым течением в возрасте 40,25 (9,96) лет. В контрольную группу вошли 56 практически здоровых человека (добровольные доноры), в анамнезе у которых не было указаний на перенесенную ГЛПС в возрасте от 18 до 54 лет. Статистически значимых различий по возрасту в группах не было выявлено (табл. 1). Проведенный анализ больных по полу показал, что тяжелой формой чаще болели мужчины (13,3%), чем женщины (9,0%) ($p=0,001$), тогда как легкой формой чаще болели женщины (39,0%), чем мужчины (27,1%) ($p=0,04$).

Диагноз ГЛПС устанавливали на основании общепринятых клинических, эпидемиологических, лабораторных и инструментальных данных. Для подтверждения диагноза использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА) с определением IgM и IgG к хантавирусам и метод ПЦР с определением РНК хантавирусов.

Клиническая характеристика больных ГЛПС в зависимости от тяжести заболевания представлена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных ГЛПС в зависимости от тяжести заболевания (%)

Клинические синдромы		Формы тяжести			P
		Легкая (n=125)	Ср/тяж. (n=241)	Тяжелая (n=51)	
		1	2	3	
ИТС	лихорадка (%)	100	100	100	>0,05
	тошнота	38,4	48,9	78,4	1-3=0,001
	рвота	8,8	34,0	56,8	1-3, 2-3=0,001
АБС	диарея	12,8	32,7	43,1	>0,05
	метеоризм	12,0	33,6	80,4	1-3, 2-3= 0,001
	боли в животе	30,4	51,4	68,6	1-3=0,001
ГС	петехии	0	4,9	62,7	1-3, 2-3=0,001
	носовые кровотечения	5,6	8,7	31,3	1-3, 2-3=0,001
	кровоизлияния в склеры	0	0	15,6	1-3, 2-3=0,001
АВС	слабость	100	100	100	>0,05
	снижение аппетита	100	100	100	>0,05
	бессонница	58,4	100	100	1-3, 2-3=0,001
респираторный		39,2	18,6	9,8	1-3=0,01
краниоцервикальный		27,2	74,2	86,2	1-2, 1-3=0,001
нарушение зрения		18,0	30,2	68,0	1-3, 2-3=0,001
почечный синдром	олигурия	39,2	68,0	100	1-3, 2-3<0,001
	боли в пояснице	35,2	77,1	86,2	1-2, 1-3=0,001

Методы исследования

Для выявления иммуноглобулинов класса G и M к антигенам хантавирусов в сыворотке крови использовали метод ИФА на тест-системе «Хантагност» (Институт полиомиелита и вирусных

энцефалитов, Россия) по методике, рекомендованной производителем.

Отлов грызунов в летне-осенний период проводился зоологами отделения природно-очаговых инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» в 10 районах Республики Татарстан – Лаишевском, Тукаевском (г. Набережные-Челны), Пестречинском, Высокогорском, Заинском, Альметьевском, Бавлинском, Зеленодольском, Нижнекамском, Сабинском. Исследовано 303 грызуна. Образцы тканей легких грызунов исследовались на выявление хантавируса серотипа Пумала, Дуброва, Тула методом ПЦР с обратной транскрипцией.

Таблица 2

Общая характеристика методов исследования

Методы исследования	Обследовано	Группа контроля	Проведено исследований
ИФА на антитела к хантавирусам IgM и IgG	417	56	890
ПЦР РНК хантавируса в крови людей	116		232
ПЦР РНК хантавируса в тканях грызунов	303		303
Секвенирование участка S сегмента РНК PUUV	91		91
Проточная флуориметрия с определением сывороточных цитокинов	233	56	755
Ферментативный метод с определением сывороточного холестерина, триглицеридов, ЛПВП	233	56	755
Мультиплексный анализ образцов мочи с использованием панели нефротоксичности 1 и 2 (Bio-Rad)	64	51	179

Часть лабораторных исследований проводилась с использованием оборудования Междисциплинарного центра коллективного использования Казанского федерального университета при поддержке Министерства образования России (ID RFMEFI59414X0003) и Научно-образовательного центра фармацевтики, Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия (таблица 2).

Общую РНК из биологического материала выделяли с помощью реагента «TRIzol» (Invitrogen, США) по методике, рекомендованной производителем. кДНК синтезировали с помощью обратной транскриптазы Thermo Scientific RevertAid Reverse Transcriptase (ThermoFisher Scientific, USA) согласно рекомендациям производителя.

Аmplификацию участков S сегмента генома PUUV проводили методом ПЦР с использованием праймеров, разработанных НИЛ "Генные и клеточные технологии" КФУ Институт фундаментальной медицины и биологии и Taq ДНК-полимеразы («Sileks», Россия). Для амплификации участков S сегмента генома штаммов PUUV, выявленных у больных ГЛПС, использовали метод nested-ПЦР. Параметры ПЦР подбирали, исходя из длины амплифицируемого участка и рассчитанной температуры плавления праймеров. Полученные ПЦР-продукты, длина которых соответствовала ожидаемой, секвенировали по Сэнгеру. Для первичной обработки и выравнивания, полученных в результате секвенирования нуклеотидных последовательностей (НП) участков S сегмента PUUV по алгоритму ClustalW использовали программы из пакета MEGA v6.0 (Tamura K. et al., 2013). Для проведения филогенетического анализа использовали размещённые в GenBank нуклеотидные последовательности штаммов PUUV, принадлежащие к разным генетическим линиям: Udmurtia/894cg/91, Z21497; Samara_49/CG/2005, AB433843; Puu/Kazan, Z84204; CG1820, M32750; DTK/Ufa-97, AB297665; Sotkamo 2009, HE801633; PUUV/Pieksamaki/human_lung/2008, JN831947; Mu/07/1219, KJ994776; PUUV/Ardennes/Mg156/2011, KT247592; PUUV/Orleans/Mg29/2010, KT247595; Umea/hu, AY526219. Филогенетический анализ проводили методом Maximum Parsimony с помощью пакета MEGA v6.0 (Tamura K. et al., 2013). В качестве внешней группы использовалась последовательность S сегмента хантавируса Tula AF164093.

Мультиплексный анализ. Метод мультиплексного анализа на основе технологии xMAP Luminex использовали для определения сывороточных цитокинов/хемокинов в крови больных ГЛПС и

здоровых доноров. Количественный анализ уровня цитокинов/хемокинов оценивали методом проточной флуориметрии на мультиплексном анализаторе Bioplex®200™ (Bio-Rad) в соответствии с инструкцией фирмы производителя (Bio-Rad).

Определение липидного профиля. Определение концентрации общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке ферментативным методом производили наборами «Холестерин-Ново», «Триглицериды-Ново», «ЛВП – Холестерин – Ново – А» (Новосибирск) по методике, рекомендованной производителем.

Изменения функции почек анализировали по образцам мочи больных ГЛПС и здоровых доноров методом мультиплексного анализа на основе технологии xMAP Luminex с использованием панели нефротоксичности 1 и 2 (Bio-Rad) в соответствии с рекомендациями производителя.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica-version 10.0».

В случае, если распределение совокупности подчиняется законам нормального распределения, в качестве описательных статистик использовали среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение (SD) и выражения формата M (SD). При описания выборочного распределения количественных признаков, которые отличались от нормального указывали: число (n) объектов исследования, медиану (Me), нижний (25%) и верхний (75%) квартили (Q₁ и Q₃) в формате Me [Q₁–Q₃]. Анализируя статистически значимые различия между группами использовали ранговый дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса. Достоверность различий между двумя независимыми совокупностями оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни, между зависимыми – критерия Вилкоксона. Для изучения связи между явлениями использовали непараметрический метод-коэффициент ранговой корреляции Спирмена и критерий χ^2 . Различия показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эпидемиологическая характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в РТ

Заболеваемость в РТ ежегодно превышала среднюю по Российской Федерации более чем в 3–5 раз. На территории РТ располагаются несколько стойких природных очагов ГЛПС. Большая

часть стойких природных очагов выявлены в центральных районах Закамья: Алексеевском, Альметьевском, Лениногорском, Бавлинском, Нижнекамском. На долю этих районов приходится 55% всей заболеваемости по республике (рисунок 1).



Рисунок 1 – Заболеваемость ГЛПС по районам РТ в среднем за период 2005–2019 гг. (на 100 тыс. населения)

Известно, что в Европейской части России основным возбудителем хантавирусной инфекции является вирус *Puumala* (PUUV) – род *Hantavirus*, семейство *Bunyaviridae*, а основным природным носителем вируса выступает рыжая полёвка *Myodes glareolus*. В настоящее время зарегистрировано восемь генетических линий PUUV, которые распространены в различных регионах Европы и Западной Сибири (Razzauti M. et al., 2013). Ранее в России были выявлены штаммы PUUV, принадлежащие к двум генетическим линиям, циркулирующим в популяции рыжих полевков: генетическая линия «Россия», в которую входят штаммы из Самарской области,

Башкирии, Удмуртии и Татарстана (Kariwa H. et al., 2009; Plyusnin A. et al., 1994; Lundkvist A. et al., 1997) и генетическая линия «Финляндии», включающая в себя штаммы из Карелии и Западной Сибири (Dekonenko A. et al., 2003; Yashina L.N. et al., 2015; Asikainen K. et al., 2000).

Таблица 3

Частота выявления хантавирусов в популяции грызунов на территории РТ

Вид	Кол-во, шт.	Найдено						
		PuumalaV			DobravaV		TulaV	
		ПЦР	%	Сиквенс	ПЦР	%	ПЦР	%
Рыжая полёвка (Myodes glareolus)	199	73	36,7	60	-	0	-	0
Обыкновенная полёвка (Microtus arvalis)	25	-	0	-	-	0	-	0
Полевая мышь (Apodemus agrarius)	10	-	0	-	-	0	-	0
Желтогорлая мышь (Apodemus flavicollis)	14	-	0	-	-	0	-	0
Лесная мышь (Apodemus uralensis)	54	-	0	-	-	0	-	0
Землеройка	1	-	0	-	-	0	-	0

Между этими линиями разнообразие нуклеотидных последовательностей S-сегмента достигает 15% и более (Razzauti M. et al., 2012), а в локальной популяции грызунов разнообразие сиквенсов не превышает нескольких процентов в одной линии (Kariwa H. et al., 2009; Razzauti M. et al., 2009; Avsic-Zupanc T. et al., 2007).

Нами были проведены исследования по идентификации хантавирусов в популяциях грызунов и у больных ГЛПС на территории РТ. Среди отловленных грызунов был выявлен хантавирус только у рыжей полевки, причем только серотип *Puumala* (таблица 3).

Наибольший интерес представляли результаты секвенирования участка S-сегмента (171 пн, нуклеотиды 424–594). Всего было получено 60 сиквенсов. Проведенный филогенетический анализ сиквенсов PUUV, позволил построить филогенетическое дерево (рис. 2).

Анализ сиквенсов части S-сегмента (171 пн, нуклеотиды 424–594) показал, что образцы тканей полевок отловленных в Тукаевском, Нижнекамском, Бавлинском, Заинском районах демонстрируют 95,3–

100,0% идентичности между собой и близкое родство со штаммами «Самара» (Samara_49/CG/2005) –94,7–97,7% идентичности.

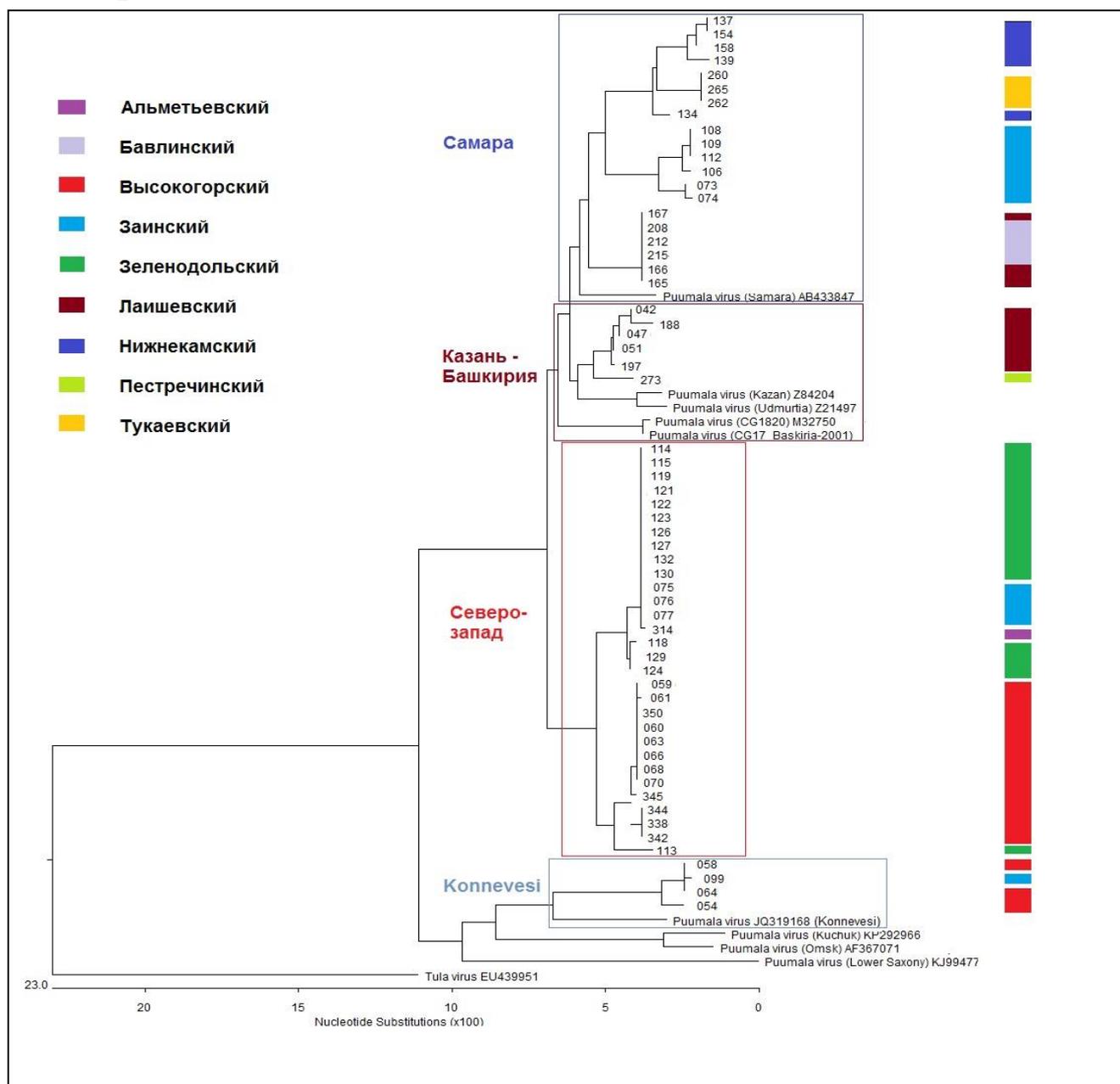


Рисунок 2 – Филогенетическое дерево, построенное на основании сиквенсов участка S-сегмента штаммов PUUV, обнаруженных у рыжих полевок.

В Лаишевском и Пестречинском районах обнаружены штаммы, близкие к штаммам линии «Россия», обнаруженные ранее в Поволжье, таких как «Казань» Puu/Kazan, «Удмуртия» Udmurtia/894Cg/91 и «Башкирия» CG17/Baskiria-2001 – 94,7–97,7% идентичности. Важным оказался анализ штаммов в двух районах (Высокогорском и Зеленодольском), где были выявлены штаммы достаточно специфические и филогенетически отдаленные от обнаруженных ранее в Поволжском регионе (Самара, Казань,

Удмуртия, Башкирия). Условно их можно определить как «Северо-западные». Возможно, они формируют новый подтип линии «Россия». Причем, в Высокогорском районе выявлены штаммы вируса, продемонстрировавшие 100% идентичность сиквенсов со штаммом PUUV «Sotkamo 2009» и 93,0% идентичность со штаммом PUUV «Konnevesi», обнаруженными ранее на территории Финляндии (линия «Финляндия»).

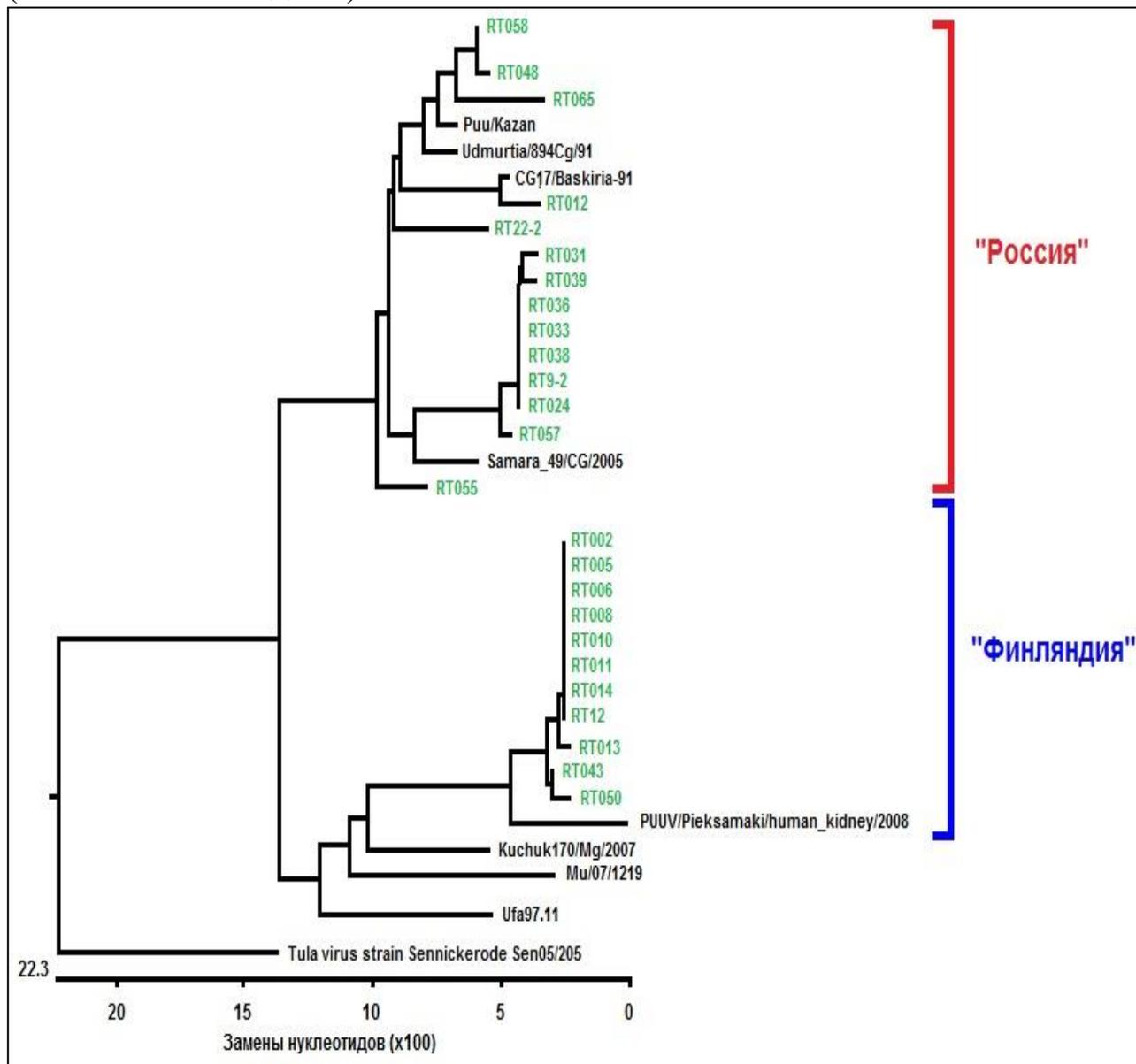


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево PUUV, построенное на основе частичного S-сегмента (171 п.н., н.т. 424–594), обнаруженных у больных ГЛПС в РТ

Одновременно с идентификацией хантавирусов среди грызунов, было проведено определение вирусной РНК в крови 116 больных ГЛПС. Из них у 26 больных обнаружена вирусная РНК методом от-

ПЦР. Секвенированы 25 образцов участка S сегмента длиной 171 пар нуклеозидов (рис. 3).

Сравнительный анализа сиквенсов части S-сегмента (171 пн, нуклеотиды 424–594) показал, что образцы RT048, RT058, RT065 демонстрируют 95,3–100,0% идентичности между собой и близкое родство со штаммами Puu/Kazan и Udmurtia/894Cg/91 – 94,7–97,7% идентичности. Нуклеотидные последовательности образцов RT9-2, RT024, RT031, RT033, RT036, RT038, RT039, RT057 показали идентичность между собой в пределах 98,2–100,0% и наибольшую близость к штамму Samara_49/CG/2005 – 93,6–94,2% идентичности. Причем, только у одного образца RT012 обнаружено высокое генетическое сходство (98,2%) со штаммом CG17/Baskiria-2001. Остальные образцы (RT002, RT005, RT006, RT008, RT010, RT011, RT12, RT013, RT014, RT043 и RT050) были идентичны по нуклеотидной последовательности между собой на 98,2–100,0%. Они показали уровень идентичности 93,0–94,7% со штаммом PUUV/Pieksamaki/human kidney/2008, впервые выделенного из почечной ткани человека в Пиексамаки, Финляндия (Asikainen K. et al., 2000).

Из всех сиквенсов, полученных от полевок, большинство сгруппировано с линией «Россия» (26, что составило 43,3%) и «Северо-западной» линией (30, что составило 50%), а остальные четыре сиквенса (6,7%) сгруппированы с линией «Финляндия». Представляет интерес тот факт, что сиквенсы, полученные от пациентов с диагнозом ГЛПС, показали различную картину: 14 сиквенсов (56%) сгруппированы по линии «Россия», а 11 сиквенсов (44%) были помещены в линию «Финляндия». Значительная доля лиц, инфицированных PUUV линии «Финляндия», можно объяснить тем, что такие штаммы циркулируют в популяциях рыжей полевки в неисследованных районах на территории РТ, а так же тем, что штаммы линии «Финляндия» более вирулентны, чем штаммы линии «Россия». Штаммы «Северо-западной линии», обнаруженные только среди рыжей полевки, возможно, не являются вирулентными для людей.

Клинико-лабораторные показатели у больных ГЛПС вызванных штаммами PUUV линиями «Финляндия» и «Россия»

Был проведен сравнительный анализ клинических проявлений и лабораторных данных у 22 пациентов, инфицированных штаммами PUUV генетической линии «Россия», и «Финляндия» (17 мужчин и 5 женщин). Все пациенты были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли 12 пациентов, у которых были выделены штаммы PUUV

линии «Россия», а во 2-ю группу вошли 10 пациентов, инфицированных штаммами PUUV линии «Финляндия». Средний возраст пациентов составил 35,9 (12,1) лет в группе «Россия» и 49,8 (14,6) лет в группе «Финляндия» ($p > 0,05$).

Продолжительность пребывания пациентов в стационаре, длительность повышения температуры и снижения диуреза существенно не различались в обеих группах. Анализ мочи выявил протеинурию у 10 (83,3%) и 6 (60,0%) пациентов ($p > 0,05$) в группах «Россия» и «Финляндия» соответственно. Гематурия наблюдалась у 6 (50%) больных в группе «Россия» и у 4 (40%) в группе «Финляндия» ($p > 0,05$). Геморрагический синдром в виде носового кровотечения был выявлен у 2 (16,2%) больных в группе «Россия» и лишь у одного (10%) больного в группе «Финляндия» ($p > 0,05$). Респираторный синдром встречался у 5 пациентов (41,7%) из группы «Россия» и у 4 (40,0%) из группы «Финляндия» ($p > 0,05$). При ультразвуковом исследовании, отек почек наблюдался у 9 (75%) пациентов группы «Россия» и у 5 (50%) пациентов группы «Финляндия» ($p > 0,05$). Абдоминальный синдром, проявляющийся в виде болей в животе, тошноты, рвоты и диареи был зарегистрирован у 7 больных (58,3%) в группе «Россия» и у 3 (30%) в группе «Финляндия» ($p > 0,05$). В тоже время, снижение диуреза наблюдалось в группе «Россия» у 9 больных (75%) и у 5 (50%) в группе «Финляндия» ($p > 0,05$). Нарушение зрения наблюдалось только у пациентов инфицированных PUUV группы «Россия» (5 человек, 41,7%, $p = 0,01$). Боли в поясничной области отмечали 11 пациентов (91,7%) из группы «Россия» и лишь 5 пациентов (50%) из группы «Финляндия» ($p = 0,03$). При этом, болевой синдром в поясничной области оказался более продолжительным так же в группе «Россия» (5,5 (1,4) дней), по сравнению с группой «Финляндия» (4,4 (1,2) дней, $p = 0,01$).

При исследовании лабораторных показателей в обеих группах отмечался повышенный уровень мочевины (12,92 (11,1) ммоль/л и 6,2 (2,6) ммоль/л, $p > 0,05$). Уровень креатинина так же повышался, но в первой группе он был существенно выше, чем во второй (216,0 (189,6) мкмоль/л и 104,9 (11,1) мкмоль/л соответственно, $p = 0,01$). У пациентов обеих групп повышалась активность АЛТ: в первой группе – 40,0 (28,4) Ед/л, во второй группе – 26,3 (19,1) Ед/л ($p > 0,05$). Активность АСТ повышалась более значимо у пациентов группы «Россия» (53,8 (23,3) Ед/л) по сравнению с группой линии «Финляндия» (30,6 (9,4) Ед/л, $p = 0,01$). Инфицированные PUUV линии «Россия» пациенты имели значительно меньшее количество

тромбоцитов (72,1 (42,0) $\times 10^9/\text{л}$) в сравнении с группой линии «Финляндия» (131,0 (46,5) $\times 10^9/\text{л}$; $p=0,01$).

В целом, клинические проявления, наблюдаемые у пациентов в обеих группах соответствовали типичной клинической картине ГЛПС, вызванной PUUV (Трусков В.В. и др., 2004; Khismatullina NA. et al., 2016; Rasmuson J. et al., 2013). Тем не менее, значительные различия в клинической картине и биохимических результатах, наблюдаемые в текущем исследовании, дают основания сделать следующие выводы:

Штаммы PUUV линии «Россия» вызывают заболевание, которое чаще сопровождается болью в поясничной области, нарушением зрения, значительным повышением уровня креатинина, АСТ, снижением тромбоцитов, в отличие от штаммов PUUV линии «Финляндия», которые вызывают более легкую форму ГЛПС.

Таким образом, наши данные подтверждают, что штаммы PUUV циркулирующие в РТ (финская и русская генетические линии) генетически связаны со штаммами вируса в Западной и Центральной Европе.

Характеристика цитокинового статуса у больных ГЛПС

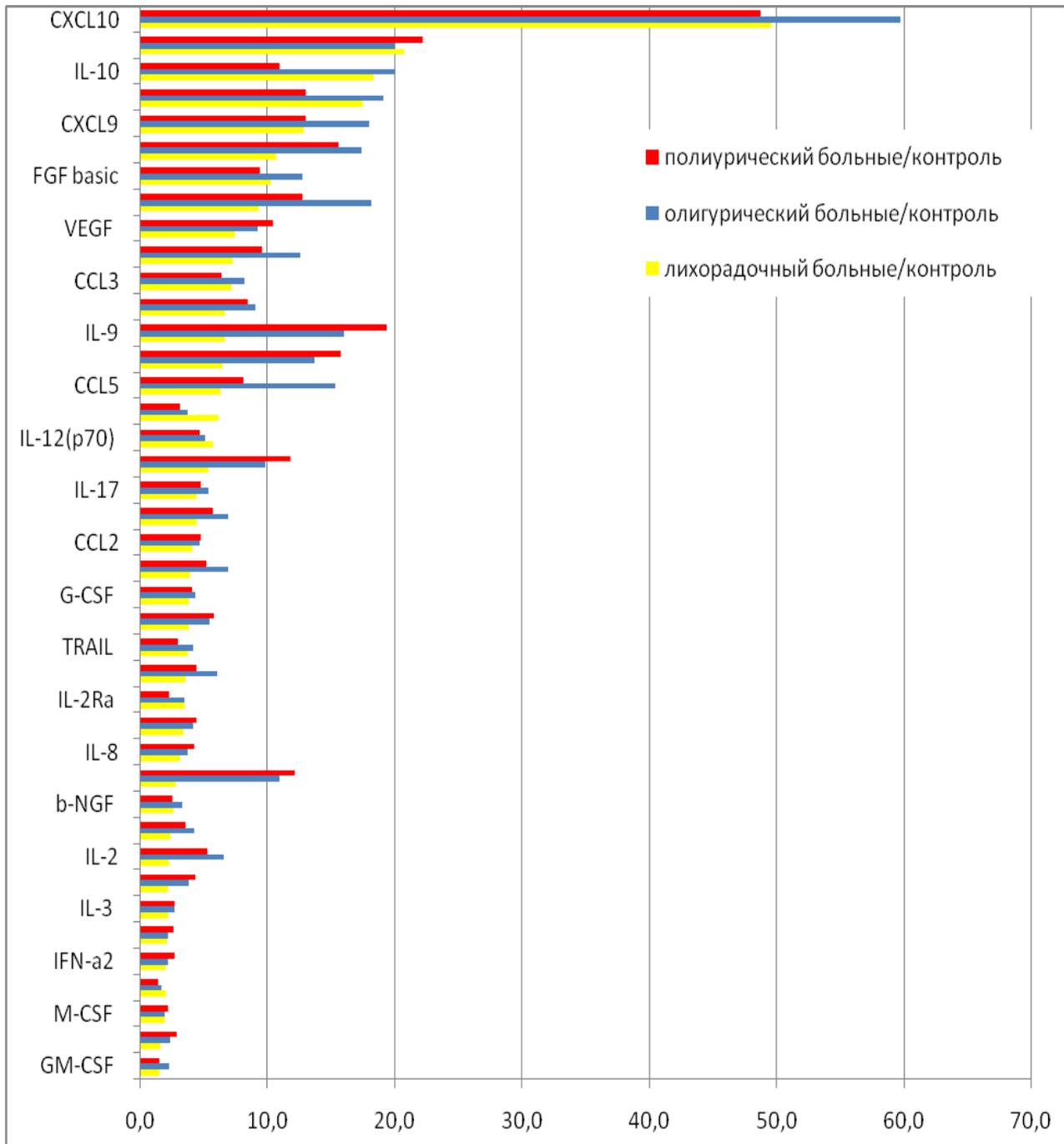
Известно, что важную роль в патогенезе ГЛПС, особенно на ранних стадиях инфекционного процесса принадлежит цитокинам, выполняющим как защитную функцию, так и патологическую.

Проведено динамическое исследование количественных показателей 48 цитокинов в зависимости от периода заболевания. Обследовано 233 пациента (159 мужчин, 74 женщины) с диагнозом ГЛПС, из них 57 человек с легкой формой, 135 человек - со среднетяжелой формой и 41 человек с тяжелой формой заболевания.

Хотя подавляющее большинство исследуемых цитокинов были повышены на протяжении всего заболевания, максимальные уровни наблюдались в лихорадочный и олигурический периоды. IL-16, CXCL1, CXCL12, TNF- β , CCL7 сохранялись в пределах значений контрольной группы. Тогда как IL-1 α и CCL27 были значительно снижены по сравнению с контрольной группой.

Значительное повышение – более чем в 10 раз по сравнению с контролем показали TNF- α , хемокины CXCL10, CXCL9, CCL4, CCL3, CCL5, CCL11, интерлейкины IL-1 β , IL-6, IL-10 IL-15, IL-9, факторы роста PDGF-bb, FGF basic, VEGF, HGF (рис. 4). Более чем в 40 раз повышались уровни хемокинов CXCL10, CXCL9 на протяжении всего заболевания (рис. 4). Так, в лихорадочном периоде уровень CXCL10 составил 1616,4 [287,2–6178,5] пг/мл, в олигурическом –

1947,2 [476,4–6416,0] пг/мл, полиурическом – 1587,9 [444,0–4504,5] пг/мл периодах, тогда как в контрольной группе – 32,6 [16,1–60,7] пг/мл ($p < 0,0001$).



Примечание: данные получены путем деления среднего уровня цитокина в группе на средний уровень в контрольной группе.

Рисунок 4 – Сравнение уровней цитокинов с контролем в зависимости от периода заболевания.

Известно, что CXCL10, CXCL9 играют важную роль в привлечении мононуклеарных клеток и гранулоцитов, способствуют миграции активированных Т- и НК-клеток, тем самым поддерживая воспаление (Qian C. et al., 2007; Gorbachev A.V. et al., 2007). У

больных ГЛПС повышенный уровень CXCL10, CXCL9 может быть связан с лимфоцитарной инфильтрацией в очагах воспаления.

Оценка количественных показателей TNF-а у больных ГЛПС выявила повышение его уровня более чем в 20 раз в лихорадочном (18,0 [2,8–30,6] пг/мл), олигурическом (17,5 [6,1–37,4] пг/мл) и полиурическом (19,3 [13,6–32,1] пг/мл) периодах по сравнению с контролем (0,8 [0,3–6,4] пг/мл, $p < 0,0001$) (рис 4). Одновременно с повышением TNF-а повышался IL-1b с максимальным подъемом в олигурическом (67,4 [35,0–188,0] пг/мл) и полиурическом (63,6 [29,5–147,4] пг/мл) периодах по сравнению с контролем (11,2 [1,7–52,4] пг/мл, $p < 0,0001$), что согласуется с данными других исследователей (Saperstein S. et al., 2009). TNF-а - провоспалительный цитокин, способствующий повышению проницаемости эндотелия, накоплению нейтрофилов и макрофагов в тканях, усилению прокоагулянтных и ослаблению антикоагулянтных свойств эндотелия (Nasonov E.L., 2000; Kalliolias G.D. et al., 2016; Воронина Е.В. и др., 2018). IL-1b – также является мощным провоспалительным цитокином, который имеет решающее значение в защитной реакции на инфекцию (Dinarello C.A. et al., 1996). Известно, что IL-6 является мультифункциональным цитокином, координирующим иммунный и острофазовый воспалительный ответы, а также гемопоэз (Tanaka T. et al., 2014). Изучение динамики количественных показателей IL-6 у больных ГЛПС выявило более чем 10 кратное повышение уровня на протяжении всего заболевания по сравнению с контролем ($p < 0,0001$) (рис 4). Ранее проведенные исследования показали, что IL-6 может использоваться в качестве воспалительного маркера тяжелой инфекции COVID-19 с неблагоприятным прогнозом (Lui T. et al., 2019; Tanaka T. et al., 2014).

Известно, что факторы роста играют важную роль в ангиогенезе. Так, например, VEGF, являющейся провоспалительным цитокином, стимулирует активность макрофагов и эндотелиальных клеток, повышает проницаемость сосудов и способствует проникновению белков плазмы крови в межклеточное пространство, что вызывает протеолиз внеклеточного матрикса (Тепляков А.Т. и др., 2017). Исследуемые факторы роста FGF-b, VEGF, PDGF-bb у наблюдаемых нами больных повышались более чем в 10 раз, начиная с лихорадочного периода по сравнению с контролем ($p < 0,0001$) и сохранялись повышенными в олигурическом и полиурическом периодах ($p < 0,0001$) (рис. 4). Высокая активность факторов роста

FGF-b, VEGF, PDGF-bb может быть признаком эндотелиальной дисфункции у больных ГЛПС.

Типичным проявлением вирусных заболеваний, в частности ВИЧ инфекции является активация воспалительных хемокинов CCL3, CCL4, CCL5 (Cocchi F. et al., 1995; Dong H. et al., 2005; Fatkenheuer G. et al., 2005; Ahmed S. et al., 2014). Признаки активации этих хемокинов наблюдались у всех обследуемых нами больных ГЛПС на всех стадиях инфекционного процесса (более чем в 8-10 раз; $p < 0,0001$). Повышенный уровень CCL3, CCL4, CCL5 свидетельствует об индукции воспалительного ответа на внедрение вируса с привлечением Т-лимфоцитов и является защитной реакцией организма. Например, CCL4 избирательно привлекает активированный CD4⁺Т-клетки (хелперы), CCL3 преимущественно привлекают активированные CD8⁺Т-клетки (цитотоксические) (Taub D.D. et al., 1993). CCL5 индуцирует активацию и пролиферацию естественных клеток-киллеров (Soria G., Ven-Baruch A., 2008). Активность CCL3, CCL4, CCL5 осуществляется опосредованно через его связывание с рецептором CCR5 (Ahmed S. et al., 2014).

Особый интерес представляли результаты изучения Th2 иммунного ответа у больных ГЛПС. Степень выраженности активации, в частности хемокина CCL11, интерлейкинов IL-4, IL-5, IL-13, IL-9 в олигурический и полигурический периоды, превышала более чем в 10 раз уровни в контрольной группе (рис. 4).

Одновременно мы наблюдали повышение уровня CCL2 на протяжении всего острого периода болезни (более чем в 4 раза). CCL2 является регулятором миграции и инфильтрации моноцитов, Т-лимфоцитов памяти и естественных киллеров (NK). Известна его роль и как мощного фактора поляризации клеток Th0 в направлении Th2 фенотипа (Gu L. et al., 2000).

Количественная характеристика IL-15, являющегося одним из важных провоспалительных цитокинов при вирусной инфекции, указала на его активацию у больных ГЛПС более чем в 8 раз. Уровень IL-15 повышался, начиная с лихорадочного и сохранялся высоким в олигурическом и полиурическом периодах (35,1 [1,7–55,0] пг/мл, 32,3 [15,0–63,0] пг/мл, 32,3 [15,0–63,0] пг/мл по сравнению с контролем (3,1 [1,4–5,6] пг/мл, $p < 0,0001$). IL-15 индуцирует пролиферацию естественных киллеров (NK), подавляет апоптоз Т-лимфоцитов (Malamut G. et al., 2010).

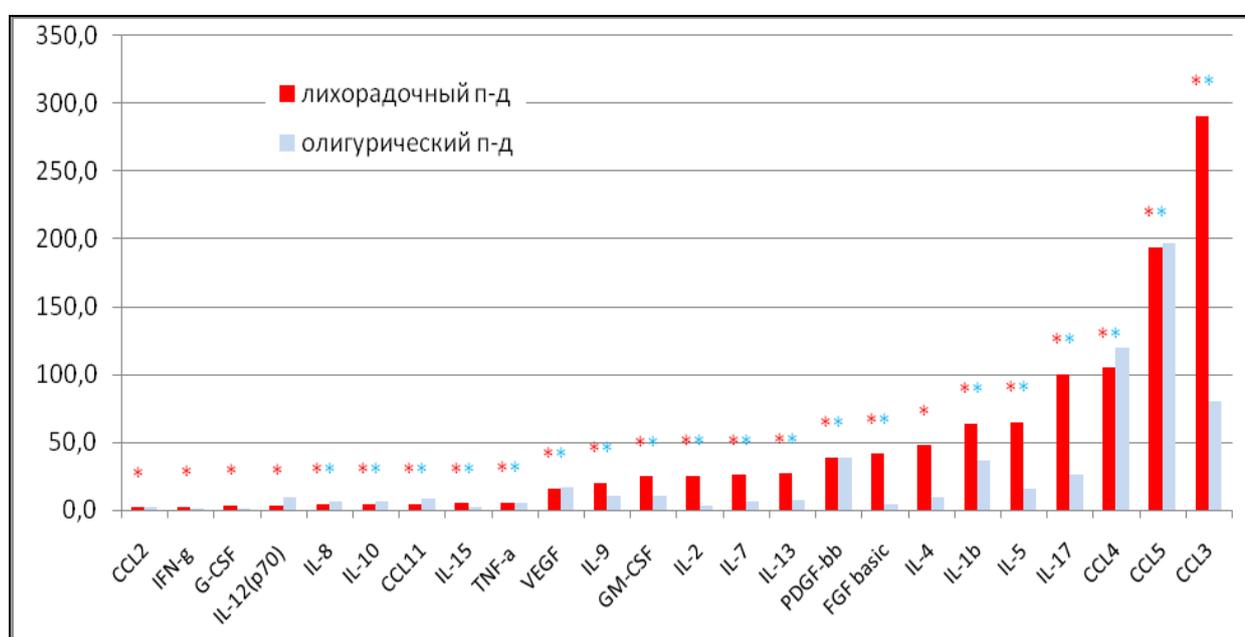
Одновременно повышался уровень и противовоспалительных цитокинов. В частности уровень IL-10 повышался более чем в 10 раз, начиная с лихорадочного периода и сохранялся повышенным в полиурическом (27,2 [5,9–52,5] пг/мл, 38,0 [8,9–82,0] пг/мл, 16,2 [8,8–79,5] пг/мл соответственно) по сравнению с контролем (1,5 [0,8–4,9] пг/мл, $p < 0,0001$) (рис. 4). Возможно, что вирусы активно вызывают повышенную выработку IL-10 для создания более благоприятной среды для репликации и снижения активного противовирусного влияния провоспалительных цитокинов (Othieno C. et al., 1999; Hunter C.A. et al., 1997).

Вместе с тем, два цитокина CCL27 и IL-1 α показали статистически значимый низкий уровень по сравнению с контрольной группой. Уровень CCL27 был снижен во все периоды болезни (28,9 [12,2–115,5] пг/мл, 28,9 [12,2–115,5] пг/мл, 32,2 [16,8–52,4] пг/мл) по сравнению с контролем (116,4 [61,3–161,4] пг/мл, $p = 0,005$). Активация CCL27 в первую очередь связана с патогенезом атопического дерматита (Reiss Y. et al., 2001), однако вполне вероятно, что его роль не ограничивается исключительно воспалением кожи. Возможно также, что снижение CCL27 при ГЛПС связано с отсутствием необходимости формировать длительно существующие лимфоцитарные инфильтраты, характерные для очагов хронического воспаления, т.к. данная инфекция носит острый характер. Изучение медиатора местных защитных реакций, являющегося эпидермальным цитокином IL-1 α показал снижение уровня на протяжении всего заболевания (0,2 [0,1–0,4] пг/мл, 0,3 [0,0–1,3] пг/мл, 0,3 [0,1–0,7] пг/мл соответственно) по сравнению с контролем (1,2 [0,6–1,7] пг/мл, $p < 0,0001$). Согласно данным Moore K.W. et al. (1993) IL-10 подавляет синтез IL-1 α . Вероятно выраженная активация IL-10, которая выявляется при хантавирусной инфекции, способствует подавлению IL-1 α .

Был проведен анализ активации цитокинов в зависимости от тяжести течения ГЛПС (рис. 5). Исследования показали, что при тяжелой форме ГЛПС хемокины CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, интерлейкины IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, факторы роста PDGF-bb, FGF basic, VEGF, GM-CSF, G-CSF, цитокины TNF-a, IFN-g статистически значимо повышались в сравнении с легкой и среднетяжелой формами как в лихорадочном, так и в олигурическом периодах (рис. 5). В то время как при легкой форме ГЛПС повышались уровни других цитокинов TRAIL, IFN-a2, MIF, интерлейкинов IL-3, IL-12(p40), IL-16, хемокинов CCL7, ростовых факторов SCF, b-NGF, HGF по сравнению с тяжелой (рис. 6). Уровни цитокинов LIF, TNF-b, рецептора IL-1ra, интерлейкинов IL-2Ra, IL-6, IL-

18, хемокинов CXCL1, CXCL9, CXCL10, CXCL12, ростовых факторов M-CSF, SCGF-b не отличались в сравниваемых группах. В период полиурии уровни цитокинов при различных формах тяжести не отличались друг от друга.

В лихорадочном периоде наиболее высокая разница – более чем 100 раз была выявлена в уровне хемокинов CCL3, CCL4, CCL5 (рис. 5). В олигурическом периоде уровни этих хемокинов снижались, но продолжали сохраняться значительно высокими в сравнении с легкой и среднетяжелой формами ГЛПС. Чрезмерная активация этих хемокинов приводит к привлечению огромного количества иммунных клеток и выраженному повреждению тканей с развитием тяжелого течения ГЛПС.



Примечания: данные получены путем деления среднего уровня цитокина в группе с тяжелым течением на средний уровень в группе с легким течением;

* – $p < 0,05$ при сравнении между легким и тяжелым течением ГЛПС.

Рисунок 5 – Кратность отличия уровней цитокинов в группах с тяжелым и легким течением ГЛПС в лихорадочном и олигурическом периодах.

Обращала внимание разница в степени повышения CCL3, CCL4, CCL5, составляющая для CCL3 – два порядка (128,0 [61,0-168,2] пг/мл – при тяжелом, 0,4 [0,2–0,7] пг/мл – при легком), для CCL4 – три порядка (2629,2 [1604,2–4133,7] пг/мл – при тяжелом, 25,1 [10,7–51,6] пг/мл – при легком), для CCL5 – четыре порядка (10697,5 [7259,5–11832,5] пг/мл – при тяжелом, 55,2 [26,7–139,7] пг/мл – при легком), что указывало на CCL4 и CCL5, как на наиболее надежные потенциальные маркеры тяжелого течения ГЛПС, особенно в начальный период заболевания.

Уровень IL-17 у больных тяжелой формой в 100 раз превышал показатели при легком и в 19 раз при среднетяжелом течении заболевания в лихорадочном периоде (0,7 [0,4–1,3] пг/мл, 6,4 [0,8–63,0] пг/мл, 70,5 [60,5–85,0] пг/мл соответственно) (рис. 5). Причем, его уровень сохранялся высоким в олигурическом и полиурическом периодах. Напротив, при легком течении ГЛПС уровень IL-17 в лихорадочном и олигурическом периодах сохранялся на уровне контроля. Известно, что IL-17 может участвовать в иммунных ответах при вирусных инфекциях (Yao Z. et al., 1995; Onishi R.M., Gaffen S.L., 2010). В определенных условиях активация IL-17 может носить патологический характер, внося свой вклад в «цитокиновый шторм» (Onishi R.M., Gaffen S.L., 2010). Таким образом, IL-17, стимулируя выработку других провоспалительных цитокинов и хемокинов, участвует в «цитокиновом шторме», приводя к более тяжелому течению заболевания.

Анализ Th2 иммунного ответа, представленный IL-4, IL-5 и IL-13, показал повышение их уровней более, чем в 20 раз у больных с тяжелым течением по сравнению с легким (рис. 5). Обычно активацию Th2 иммунного ответа связывают с аллергией и аллергическим заболеванием дыхательных путей (Kristen M. et al., 2020). В то же время показано, что цитокины Th2 нарушали индуцированную RV-16 продукцию интерферона, увеличивали репликацию риновирусов (Contoli M. et al., 2015). Эти данные предполагают, что Th2-состояние повышает восприимчивость к инфекциям. Таким образом, повышенный уровень IL-4, IL-5 и IL-13 свидетельствует об активации Th2 иммунного ответа и снижении противовирусной резистентности, что способствует формированию более тяжелого течения ГЛПС.

У больных тяжелой формой ГЛПС происходит активация Th1 иммунного ответа, о чем свидетельствует высокий уровень IL-2 в этой группе – более чем в 20 раз выше, чем у больных с легкой и среднетяжелой формами заболевания (рис. 5). При легком и среднетяжелом течении заболевания в лихорадочном периоде уровень IL-2 сохранялся на уровне контроля и повышался в олигурическом и полиурическом периодах. Известно, что высокий уровень IL-2 указывает на активацию Т-клеток, естественных киллеров для борьбы с вирусной инфекцией, что является актуальным для больных с тяжелой формой ГЛПС.

IL-1b – известный как лейкоцитарный пироген, представляет собой мощный провоспалительный цитокин, который имеет

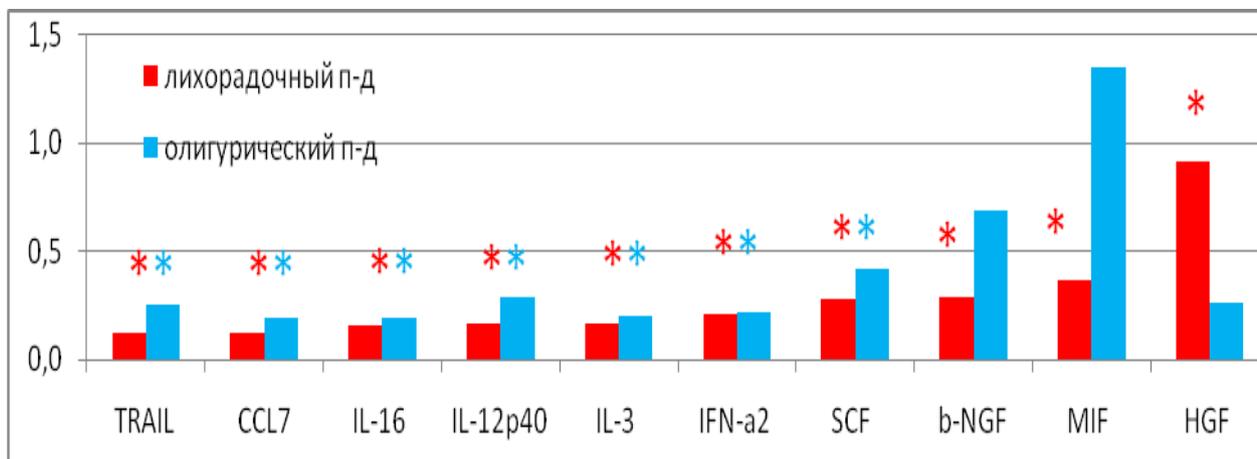
решающее значение в защитной реакции организма на инфекцию (Dinarello C.A. et al., 1996). У больных тяжелой формой ГЛПС на протяжении всего периода заболевания IL-1b повышался более, чем в 60 раз по сравнению с легкой и среднетяжелой формами, тогда как у больных при легком течении заболевания повышался только в олигурическом и полиурическом периодах (рис. 5). Повышенный уровень IL-1b у больных ГЛПС свидетельствовал об активации лейкоцитов и, возможно, макрофагов в ответ на вирусную инфекцию.

Нами были выявлены различия в показателях ростовых факторов в зависимости от тяжести течения ГЛПС. Так, в группе больных тяжелой формой ГЛПС уровень FGF-b повышался более, чем в 40 раз, VEGF более, чем в 15, PDGF-bb – в 20 раз, GM-CSF – в 24 раза по сравнению с легким течением заболевания (рис. 5). Был обнаружен высокий уровень этих показателей уже в лихорадочный период ($p=0,0001$). Особая актуальность этих изменений у больных с тяжелой формой связана с тем, что геморрагический синдром, характерный для ГЛПС, ассоциируется не просто с высокой провоспалительной активацией эндотелия, но и с прямым его повреждением, что манифестируется геморрагическими проявлениями различных форм и локализаций. Возникающая при этом повышенная интенсивность повреждения эндотелиальных клеток сопровождается компенсаторным увеличением их пролиферативной активности. Установлено, что GM-CSF ассоциируется с активацией Th1 иммунного ответа (Yamada H. et al., 2017; Huu Y. et al., 2019). Можно предположить, что повышение GM-CSF у больных тяжелой формой ГЛПС указывает на более выраженную активацию Th1 иммунного ответа. Однако, именно у этих больных наблюдается наиболее повышенный уровень IL-4, IL-5 и IL-13, являющихся Th-2 цитокинами. Таким образом, тяжесть течения инфекции у этих больных может быть следствием неспособности иммунной системы реализовать необходимый Th-1 ответ, для которого с помощью факторов роста (в частности GM-CSF) были созданы предварительные условия. Напротив, развитие иммунного ответа у таких больных идет по типу Th-2, ассоциированного со снижением противовирусной резистентности. Такие противоречия между направлениями активации различных компонентов иммунной системы как раз и отражают суть понятия «цитокинового шторма». Данный клинико-лабораторный феномен оказался характерным именно для больных с тяжелым течением вирусных инфекций, в частности, при ГЛПС.

Совершенно необычно по сравнению с ранее рассмотренными цитокинами выглядели результаты исследования TRAIL, CCL7, IL-16,

IL-3, IL-12(p40), IFN-a2, SCF, b-NGF, HGF, MIF в динамике заболевания (рис.6). Уровни этих цитокинов у больных тяжелой формой ГЛПС были значительно ниже, чем при легкой и среднетяжелой.

У больных тяжелой формой уровень TRAIL значительно снижался по сравнению с легкой и среднетяжелой формами ГЛПС в лихорадочном периоде (11,3 [8,1–16,4] пг/мл, 96,7 [42,2–202,9] пг/мл, 35,8[12,7–68,2] пг/мл, соответственно, $p=0,02$), сохраняясь на уровне контрольной группы и продолжал сохраняться низким в олигурическом и полиурическом периодах. Данный результат может быть следствием подавления выработки провоспалительных цитокинов клетками Th17 (Marks M. et al., 2020), что приводило к более мягкому течению болезни.



Примечания: данные получены путем деления среднего уровня цитокина в группе с тяжелым течением на средний уровень в группе с легким течением. На диаграмме показаны цитокины, чьи уровни были выше при легком течении ГЛПС по сравнению с тяжелым; * – $p<0,05$ при сравнении между легким и тяжелым течением ГЛПС.

Рисунок 6 – Кратность отличия уровней цитокинов в группах с легким и тяжелым течением ГЛПС в лихорадочном и олигурическом периодах.

У больных легкой формой уровень CCL7 был статистически значимо выше как по сравнению с тяжелым течением, так и с группой контроля на протяжении всего заболевания (в лихорадочном периоде – 56,2 [40,7–77,9] пг/мл, в олигурическом – 41,8 [29,8–56,4] пг/мл, в полиурическом – 51,1 [37,1–56,6] пг/мл, в группе контроля 10,9 [2,5–26,4] пг/мл, $p=0,01$) (рис. 6). В тоже время у больных тяжелой формой CCL7 сохранялся на уровне контроля. Известно, что CCL7 обладает свойством как связывать так и ингибировать активацию CCR5 с высокой аффинностью, поэтому может рассматриваться как естественный

антагонист CCR5 (Blanpain C. et al., 1999). Последнее объясняет повышенный уровень SCL7 при легком течении ГЛПС.

У больных легкой формой ГЛПС уровень IL-16 повышался на протяжении всего периода заболевания (182,1 [121,2–277,2] пг/мл, 205,3 [162,8–292,1] пг/мл, 195,2 [187,3–323,7] пг/мл) и был значительно выше, чем при тяжелом течении болезни (27,8 [19,4–61,8] пг/мл, 42,4 [11,4–153,4] пг/мл, 118,4 [30,8–219,6] пг/мл, $p < 0,001$) и уровнем контроля (106,9 [74,3–155,7] $p < 0,001$) (рис. 6). В то же время у больных тяжелой формой уровень IL-16 сохранялся на уровне контроля на протяжении всего заболевания. Известно, что IL-16 является иммуномодулирующим цитокином, индуцирующим экспрессию провоспалительных цитокинов (Jana M., Pahan K., 2009). Другая функция IL-16, которая теоретически может регулироваться цитокинами является ингибирование репликации ВИЧ (Baier M. et al., 1995). Вероятно, подавление активности IL-16 приводит к тяжелому течению заболевания, тогда как повышенная выработка IL-16 приводит к ингибированию репликации хантавируса и развитию более легкого течения ГЛПС.

Уровень IL-3 у больных тяжелой формой ГЛПС в лихорадочном (32,3 [25,1–60,7] пг/мл), олигурическом (38,0 [16,1–112,3] пг/мл) и полиурическом (49,7 [33,5–249,2] пг/мл) периодах не повышался и сохранялся на уровне контроля (65,1 [34,9–87,3] пг/мл). У больных легкой формой ГЛПС уровень IL-3 значительно повышался, начиная с лихорадочного периода (196,2 [137,5–236,5] пг/мл, $p = 0,01$) по сравнению с тяжелым течением и сохранялся высоким в периоды олигурии и полиурии (183,6 [162,1–271,5] пг/мл, 227,7 [194,2–316,4] пг/мл, $p = 0,01$). Роль IL-3 в регуляции функций T-клеток до конца не выяснена. Было показано, что IL-3 регулирует эффекторные функции Th2-клеток (Kumar A., 2020). Учитывая, что уровень IL-3 был повышен при легком течении болезни, вероятно, он играет протективную роль.

У больных легкой и среднетяжелой формами ГЛПС уровень IL-12(p40) был значительно выше уровня контроля на протяжении всего заболевания ($p = 0,001$). Тогда как у больных тяжелой формой он не повышался и был статистически значимо ниже уровня при легком течении ($p = 0,001$). Основная функция IL-12p40 – обеспечение петли отрицательной обратной связи путем конкурентного связывания с рецептором IL-12 (Cooper A.M., Khader S.A., 2007), что вероятно, способствует развитию более легкого течения инфекции.

Уровень IFN- α 2 у больных тяжелой формой не повышался на протяжении всего заболевания (5,0 [4,0–8,0] пг/мл, 5,7 [2,9–15,8] пг/мл, 6,9 [5,3–27,4] пг/мл), при легкой и среднетяжелой формами был в 5 раз выше уровня при тяжелом течении в лихорадочном (23,7 [19,6–28,4] пг/мл, 20,7 [4,1–29,6] пг/мл, $p=0,01$), олигурическом (25,2 [21,1–31,5] пг/мл, 21,8 [5,6–31,0] пг/мл) и полиурическом (27,3 [23,9–31,5] пг/мл, 22,2 [4,4–29,7] пг/мл) периодах. Известно, что IFN- α 2 не только предотвращает распространение вируса, но и управляет установкой иммунного адаптивного ответа (Tomasello E. et al., 2014; Paul F., Pellegrini S., Uzé G., 2015). Многие патогенные вирусы разработали механизмы, позволяющие избежать действия IFN, ингибируя его продукцию и / или действие (Haller O., Weber F., 2007). В нашем исследовании, вероятно, повышенный уровень IFN α 2 способствовал подавлению хантавируса и развитию легкого течения ГЛПС, а низкий уровень IFN α 2 связан со способностью хантавируса подавлять его выработку, приводя к развитию более тяжелого течения заболевания.

Таким образом, цитокины TRAIL, CCL7, IL-16, IL-3, IL-12(p40), IFN- α 2 носят протективный характер, активация которых приводит к развитию легкого течения ГЛПС, а подавление их вызывает тяжелое течение инфекционного процесса.

Изменения липидного профиля у больных ГЛПС

Липопротеины играют важную патофизиологическую роль в иммунном ответе хозяина при тяжелой инфекции (Feingold KR. et al., 1998). Изменения в профиле липопротеинов во время инфекции, вероятно, вызваны цитокинами (Grunfeld C. et al., 1996). В нашем исследовании были выявлены изменения уровня липидов в сыворотке крови у больных ГЛПС в зависимости от стадии и тяжести течения заболевания.

Анализ липидного профиля выявил значительные проявления дислипидемии. Так, уровень холестерина повышался на ранней стадии заболевания у больных со среднетяжелым (4,06 [3,401–5,70] ммоль/л, $p=0,02$) и тяжелым течением болезни (4,52 [3,72–5,36] ммоль/л, $p=0,006$) по сравнению с контрольной группой (3,60 [1,05–5,88] ммоль/л), в период олигурии сохранялся высоким только у пациентов с тяжелой формой (4,37 [3,14–5,84] ммоль/л, $p=0,02$), а в период полиурии снижался до уровня контроля. У больных легкой формой ГЛПС уровень холестерина не отличался от показателей в контрольной группе.

Уровень триглицеридов значительно повышался в лихорадочный период ГЛПС при всех формах тяжести (3,24 [2,42–5,06] ммоль/л, $p<0,001$),

сохраняясь высоким в олигурическом (3,09 [2,24–4,61] ммоль/л, $p < 0,001$) и полиурическом (2,68 [2,30–4,34] ммоль/л, $p < 0,001$) периодах по сравнению с контрольной группой (1,30 [0,85–2,04] ммоль/л). При чем, уровень триглицеридов в лихорадочный период был значительно выше у больных тяжелой формой (4,77 [3,83–6,18] ммоль/л) по сравнению с больными средним (3,18 [2,71–3,61] ммоль/л, $p = 0,02$) и легким течением ГЛПС (3,10 [2,25–4,80] ммоль/л $p = 0,04$). Эти данные подтверждаются данными других авторов, наблюдавшими высокий уровень триглицеридов при тяжелом течении ГЛПС (Clement J. et al., 2016).

ЛПВП снижались у больных тяжелой формой ГЛПС, начиная с лихорадочного периода (0,51 [0,25–0,68] ммоль/л, $p = 0,01$), сохранялись низкими в олигурическом (0,55 [0,32–0,90] ммоль/л, $p = 0,02$) и в полиурическом (0,58 [0,54–0,83] ммоль/л, $p = 0,04$) периодах в сравнении с контрольной группой (1,58 [0,90–1,96] ммоль/л). При этом, уровень ЛПВП у больных с тяжелой формой в лихорадочном периоде был статистически значимо ниже уровня при легкой (1,03 [0,77–1,43] ммоль/л, $p = 0,01$) и среднетяжелой (1,11 [0,55–1,85] ммоль/л, $p = 0,007$) формами. При среднетяжелом течении ГЛПС ЛПВП были снижены только в олигурическом периоде (0,7 [0,62–1,24] ммоль/л, $p = 0,04$), тогда как при легком течении они сохранялись на уровне контроля.

Таким образом, у больных ГЛПС отмечается дислипидемия. Значительное повышение уровня триглицеридов выявляется на всем протяжении заболевания, наиболее значимые изменения отмечаются у больных тяжелой формой ГЛПС. Тяжелое течение хантавирусной инфекции характеризуется значительным повышением уровня триглицеридов, холестерина, снижением уровня ЛПВП уже в начале заболевания по сравнению с контрольной группой. Причем, повышение уровня холестерина, ЛПНП и снижение уровня ЛПВП у больных тяжелой формой ГЛПС было значительно больше по сравнению с больными среднетяжелой и легкой формой течения болезни. В экспериментальных исследованиях с участием людей и животных, был показано, что липидный обмен и производство цитокинов взаимосвязаны. Это взаимодействие является двунаправленным. С одной стороны, липиды могут участвовать в регуляции уровней цитокинов и модифицировать иммунный ответ хозяина (Grunfeld C., Feingold K.R., 1996). С другой стороны, цитокины обладают способностью изменять липидный обмен. TNF- α и IL-1 снижают уровни холестерина в сыворотке, вероятно, путем воздействия на фермент гидроксиметилглутарил (HMG) коэнзим А (CoA) редуктазу. Кроме того,

снижение уровней ЛПВП, наблюдаемое во время инфекции, вероятно, опосредовано ферментами. TNF- α может снижать плазменную активность лецитин-холестеринацилтрансферазы (LCAT), фермента, ответственного за этерификацию свободного холестерина в ЛПВП (Ly H. et al., 1995). Повышение уровня триглицеридов, наблюдаемое во время инфекции, может быть результатом увеличения липолиза (Feingold K.R. et al., 1992) и синтеза жирных кислот de novo в печени (Feingold K.R. et al., 1992; Feingold K.R. et al., 1989). Этот процесс также опосредован ферментом за счет увеличения активности фермента CoA-карбоксилазы. В ряде исследований было показано, что IL-1 и TNF α , основные участники «цитокинового шторма» в модельных организмах или патологии, увеличивают липиды низкой плотности (Hardardottir I. et al., 1994; Sweep C.F. et al., 1992). В свою очередь, липиды низкой плотности могут активировать продукцию IL-1 β и IL-18, задействуя Toll-подобные рецепторы (TLR) и запуская образование инфламмасом (Düwell P. et al., 2010). Напротив, было показано, что ЛПВП обладают противовоспалительным действием за счет снижения экспрессии TLR и снижения передачи сигналов рецептора IFN (Fotakis P. et al., 2019). Полученные нами данные также подтверждают мнение о том, что ЛПВП могут иметь противовоспалительный эффект, поскольку при ГЛПС была обнаружена отрицательная связь между провоспалительными цитокинами и ЛПВП, более того уровень ЛПВП снижался у больных тяжелой формой ГЛПС

Наши исследования показали, что профиль липидов плазмы больных ГЛПС отличается в зависимости от стадии, тяжести заболевания, а уровни триглицеридов и ЛПВП могут быть использованы в качестве потенциальных предикторов тяжелого течения заболевания.

Маркеры почечного повреждения у больных ГЛПС

Тяжесть заболевания и развитие осложнений при ГЛПС в значительной степени зависят от нарушения функции почек. Традиционно, прогрессирование заболевания оценивается мониторингом лабораторных показателей, отражающих работу почек, включающих определение уровня мочевины и креатинина крови. Но этим показателям присущи недостатки, поскольку изменения их уровней наступают только после поражения 30–50% клеток (Coca S.G. et al., 2008; Fuchs T.C. et al., 2011). В последние годы благодаря развитию молекулярных методов анализа открыто большое количество биологических маркёров, позволяющих оценить функцию

почек, возникающие поражения и предсказать их развитие на ранних стадиях заболевания. Эти биомаркеры могут использоваться для определения места повреждения в нефроне и, в какой-то мере, выявить, связь с воспалением, миграцией лейкоцитов, образованием иммунных комплексов и т. д. Однако, остаются до конца не изученными патологические изменения в почках при ГЛПС. Поэтому с целью определения места повреждения нефрона и выявления потенциальной диагностической ценности уренальных биомаркеров при ГЛПС, был проведен анализ образцов мочи больных ГЛПС.

Оценку изменения функции почек проводили с использованием панели нефротоксичности 1 и 2 (таблица 4). Исследование проводилось у 64 больных ГЛПС (56 мужчин и 8 женщин), средний возраст 38,12 (10,52) года. Контрольную группу составили 51 (33 мужчин и 18 женщин) здоровых человека. Образцы мочи собирались при поступлении – периоде олигурии (7,8 (2,5) день болезни) и перед выпиской – периоде полиурии (14,2 (2,5) день). Олигурический период ГЛПС характеризовался высоким (более чем в 10 раз) уровнем кластерина и КИМ-1 по сравнению с контролем (таблица 4). В начале заболевания отмечалось повышение уровня МСР-1, IL-18 и NGAL по сравнению с таковыми в контрольной группе. Хотя средние значения кальбиндина в олигурическом периоде ГЛПС были выше, чем в контрольной группе, но различия не были статистически значимыми. Уровень β_2 М у больных ГЛПС был даже ниже по сравнению с контролем. Уровни GST-п, TFF3, альбумина, цистатина С, и остеопонтинина мочи в олигурическом периоде ГЛПС не повышались и сохранялись на уровне контроля.

Анализ образцов мочи, собранных у больных ГЛПС в период полиурии, выявил повышение активности кластерина, КИМ-1, IL-18 и МСР-1 по сравнению с контрольными. Как и в олигурическом периоде заболевания, уровни кальбиндина, альбумина, TFF3 и остеопонтинина не отличались от уровней в контрольной группе. Однако, в период полиурии выявлено повышение уровня GST-п и цистатина С. Интересно отметить, что уровень NGAL снизился в полиурическом периоде ГЛПС до уровня показателей в контрольной группе.

Таким образом, анализ 12 биомаркеров выявил сильную воспалительную реакцию в почечной ткани при ГЛПС. Например, повышенный уровень IL-18, обнаруженный в олигурическом и полиурическом периодах заболевания, может указывать на тяжелую воспалительную реакцию (Carson W.E. et al., 2000). Обнаружение

повышенного уровня кластерина также предполагает наличие ранней воспалительной реакции почечной ткани у больных ГЛПС. Кластерин отсутствует в нормальной зрелой почке, однако его концентрация увеличивается в поврежденной почечной ткани (Dvergsten J. et al., 1994; Rosenberg M.E. et al., 1991). Предполагают, что функции этого белка связаны с регуляцией апоптоза. Кластерин не фильтруется клубочками и, в связи с этим повышение его в моче свидетельствует о повреждении клеток почечных канальцев (Harding M.A. et al., 1991; Correa-Rotter R. et al., 1998). Было продемонстрировано, что только цитоплазматические и секретируемые формы кластерина являются защитными (Jung G.S. et al., 2012). Ранее проведенные исследования показали, что кластерин может связываться с иммуноглобулинами и компонентами комплемента (Wilson M.R. et al., 1992; French L.E. et al., 1992). Повышенное осаждение комплемента и иммуноглобулина было обнаружено в почечной ткани больных ГЛПС при аутопсии. Кроме этого установлено, что кластерин играет защитную роль в почечной ткани, он предотвращает образование комплемент атакующего комплекса и ингибирует апоптоз и матрицу активации металлопротеаз. Полученные нами данные о повышенной активности кластерина могут объяснять осаждение компонентов комплемента и иммуноглобулина в почечной ткани при ГЛПС.

Таблица 4

Уренальные биомаркеры у больных ГЛПС

Уренальные маркеры	Контрольная группа (n=51)	Олигурический п-д (n=64)	Полиурический п-д (n=64)
Calbindin (нг/мл)	66459,1 (73459,2)	175672,7 (191558,9)	87961,2 (95621,4)
Clusterin (нг/мл)	19785,8 (24637,1)	114057,5 (163085,5)*	193594,6 (250391,2)*
GST-π (нг/мл)	33688,5 (49532,4)	46521,7 (61791,5)	125749,1 (188623,1)*
IL-18 (нг/мл)	5,8 (6,2)	38,1 (39,8)*	34,1 (32,7)*
KIM-1 (нг/мл)	80,8 (94,8)	905,0 (1231,8)*	709,9 (982,1)*
MCP-1 (нг/мл)	70,6 (81,9)	457,7 (581,3)*	404,2 (492,1)*
Albumin (нг/мл)	1513,4 (570,4)	1437,9 (453,3)	1681,4 (1497,1)
β2M (нг/мл)	29,7 (17,1)	15,8 (8,7)*	19,0 (9,1)*
Cystatin C (нг/мл)	18,8 (33,5)	440,3 (1348,0)*	72,5 (101,8)
NGAL (нг/мл)	17,5 (20,8)	34,9 (23,2)*	31,7 (23,4)*
Osteopontin (нг/мл)	127,6 (95,5)	279,7 (287,9)	140,6 (188,1)
TFF3 (нг/мл)	121,5 (44,43)	138,5 (38,7)	147,1 (32,8)

Примечание: * – сравнение с группой контроля p<0,05.

Повышенный уровень КИМ-1, обнаруженный в образцах мочи больных ГЛПС, указывает на повреждение проксимальных отделов канальцев. Обычно не обнаруживаемый, КИМ-1 индуцируется больше, чем любые другие белки при почечном повреждении. Ранее проведенные исследования показали, что 12-кратное повышение уровня КИМ-1 может быть связано с риском развития острого трубчатого некроза (Han W. K. et al., 2002). Обнаружено, что КИМ-1 локализуется на апикальной поверхности эпителиальных клеток проксимальных канальцев (Ichimura T. et al., 1998). Таким образом, КИМ-1 можно использовать в качестве биомаркера диагностики ранних поражений проксимальных отделов почечных канальцев (Vaidya V.S. et al., 2008; Liangos O. et al., 2007).

Анализ биомаркеров токсичности почек показал, что поражение почечных канальцев является отличительной чертой ГЛПС. Похоже, что поражение эпителия канальцев почек может приводить к снижению его функциональной активности. Это предположение основано на том факте, что биомаркеры функции канальцев, такие как, кластерин и КИМ-1, NGAL, IL-18, цистатин С существенно повышались при ГЛПС по сравнению с контролем. В то время как уровень β_2 М, указывающий на поражение клубочков, был даже ниже в образцах мочи у больных ГЛПС по сравнению с контрольной группой. β_2 М представляет собой молекулу, которая легко фильтруется через клубочки и почти полностью реабсорбируется и разрушается клетками проксимальных канальцев (Bernier G.M., Conrad M.E., 1969). Кроме того, нами было выявлено, что при ГЛПС существенно повышаются именно маркеры поражения проксимальных отделов канальцев – кластерин, КИМ-1, NGAL.

Все это свидетельствует о том, что поражение почечных канальцев при ГЛПС приводит к нарушению функциональной активности в проксимальной части нефрона. Значительная активность GST-π была обнаружена в образцах мочи больных ГЛПС, собранных в период полиурии. GSTπ локализован в эпителии дистального отдела канальцев и высвобождается в моче при повреждении эпителиальных клеток (Sundberg A. et al., 1994; Harrison D.J. et al., 1989), что указывает на повреждение дистального нефронного эпителия. Так как повышенная регуляция GST-π в моче была обнаружена только в период полиурии, мы полагаем, что повреждение эпителия проксимального отдела канальцев может определять симптомы почечного повреждения на поздних стадиях ГЛПС. Поэтому следует предположить, что повреждение эпителия проксимальных канальцев определяет ранние изменения функции почек, в то время как повреждение эпителия проксимальных и дистальных

канальцев вызывает симптомы почечного повреждения на поздних стадиях заболевания. Обнаружение кластерина и КИМ-1 в моче могут служить маркерами почечного повреждения при ГЛПС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Такими образом, в настоящем исследовании установлено, что клиническая картина ГЛПС зависит как от генетических различий хантавируса, который вызывает заболевание, так и от ответных иммунных реакций организма с высвобождением целого каскада провоспалительных цитокинов, с активацией Th1, Th17, Th2 иммунного ответа, приводящих к эндотелиальной дисфункции, что манифестируется геморрагическими проявлениями различных форм и локализаций. Активация провоспалительных цитокинов способствует развитию почечного повреждения, нарушению липидного обмена. Выраженность этих нарушений определяет тяжесть течения заболевания и конечный исход инфекционного процесса.

ВЫВОДЫ

1. На территории Республики Татарстан сохраняется стабильно высокий уровень заболеваемости ГЛПС, большая часть которой приходится на районы Закамья. Выявлена циркуляция только штамма PUUV, единственным природным резервуаром которого является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*). Среди популяции рыжих полевок в РТ определена совместная циркуляция двух генетических линий PUUV – «Россия» и «Финляндия». Большинство сиквенсов, выделенных из полевок, имеют идентичность 98,2–100,0% со штаммами, выделенными от пациентов с ГЛПС.

2. Штаммы PUUV линии «Россия» вызывают заболевание, которое чаще сопровождается болью в поясничной области (91,7%), нарушением зрения (41,7%), значительным повышением уровня креатинина (216,0 (189,6) мкмоль/л), АСТ (53,8 (23,3) Ед/л), снижением тромбоцитов (72,1 (42,0) $\times 10^9$ /л), в отличие от штаммов PUUV линии «Финляндия», которые вызывают легкое течение ГЛПС.

3. ГЛПС характеризуется активацией провоспалительных цитокинов – TNF- α , IL-6, IL-1 β , хемокинов CXCL10, CCL2, факторов роста G-CSF и GM-CSF. Происходит активация Th2 иммунного ответа с повышением уровней хемокина CCL11, интерлейкинов IL-4, IL-5, IL-13, IL-9 и Th17 иммунного ответа с повышением уровня IL-17; активация Th1 иммунного ответа с повышением уровней IL-15, IL-2, IL-12(p70), GM-CSF.

4. Значительная активация хемокинов CCL3, CCL4, CCL5, Th17 иммунного ответа с повышением IL-17, Th2 иммунного ответа с повышением IL-4, IL-5 и IL-13 отражает развитие тяжелого течения ГЛПС. Повышение ростовых факторов FGF-b, VEGF, PDGF-bb, GM-CSF свидетельствуют о выраженной эндотелиальной дисфункции при тяжелом течении заболевания. Активация цитокинов TRAIL, CCL7, IL-16, IL-3, IL-12p40, IFN α 2 имеет протективную роль, формируя легкое течение ГЛПС.

5. ГЛПС сопровождается дислипидемией с повышением уровня холестерина, триглицеридов и снижением уровня ЛПВП. Тяжелая форма ГЛПС в отличие от легкой характеризуется статистически значимым повышением уровня триглицеридов и снижением уровня ЛПВП.

6. У больных ГЛПС в олигурическом периоде имеет место поражение эпителия проксимальных канальцев нефрона, о чем свидетельствует повышенный уровень кластерина, KIM-1, NGAL, IL-18 в моче, в полиурическом периоде – поражение эпителия проксимальных канальцев нефрона с высоким уровнем кластерина, KIM-1, IL-18 и NGAL цистититна С и эпителия дистальных канальцев с повышением GST- π . У больных ГЛПС выявлена сильная иммунно-воспалительная реакция почечной ткани о чем свидетельствует повышенный уровень IL-18 и MCP-1 в моче как в период олигурии, так и в период полиурии. Определение кластерина и KIM-1 в моче служат маркерами острого почечного повреждения при ГЛПС.

7. Маркерами формирования тяжелого течения ГЛПС в начальном периоде заболевания являются повышение уровня CCL5, CCL4, IL-17, триглицеридов и снижение уровня ЛПВП.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Сиквенсы штаммов PUUV, выделенные от больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров для определения территории заражения и применены в практике работы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) с целью оптимизации прогнозирования и профилактики заболеваемости ГЛПС.

Для верификации диагноза ГЛПС на ранних сроках необходимо включить в стандарт обследования ПЦР исследования на хантавирусы.

Пациентам в начальном периоде ГЛПС показано проведение комплексного обследования, включающего исследование триглицеридов, ЛПВП, цитокинов CCL4, CCL5, IL-17, TRAIL, CCL7 в сыворотке крови.

Для прогнозирования развития тяжелого течения ГЛПС на ранних сроках заболевания рекомендовано определение в сыворотке крови триглицеридов, ЛПВП, CCL4, CCL5.

Для оценки нарушения функции почек рекомендовано исследование кластерина и КИМ-1 в моче.

Для медицинских ВУЗов, осуществляющих подготовку студентов по программам ВО и врачей различного профиля по программам ПП и ДПО использовать новые данные о ГЛПС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шакирова, В.Г. Клинико-биохимические особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова // Инфекционные болезни. Материалы I Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2009. – Прил. 1.– Т. 7. – С. 232–233.
2. Шакирова, В.Г. Эпидемиологические закономерности ГЛПС в Республике Татарстан за период 1999–2008 гг. / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, В.А. Трифонов, М.В. Хакимзянова // Академический журнал Западной Сибири. – Тюмень. – 2009. – № 6. – С. 53–56.
3. Шакирова, В.Г. Эпидемиологическая характеристика ГЛПС в Республике Татарстан за период 1999–2008 годы / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Л.Ф. Садреева // Материалы Всероссийской научной конференции «Проблемы современной эпидемиологии. Перспективные средства и методы лабораторной диагностики и профилактики актуальных инфекций». – С.-Петербург, 2009. – С. 110.
4. Шакирова, В.Г. Гуморальный иммунный ответ при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, К.С. Хаертынов, И.М. Хаертынова, З.Л. Хамидуллина // Инфекционные болезни. Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2010. – Т. 8. – Прил. 1.– С. 365.
5. Шакирова, В.Г. Эпидемиологические и клинико-лабораторные особенности тяжелых форм геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, Г.Ф. Леонова // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Инфекции и

- паразитарные болезни в практике клинициста. Антибактериальная, противовирусная, антипаразитарная, иммунотерапия и иммунопрофилактика на догоспитальном и госпитальном этапах». – Харьков, 2010. – С. 124.
6. Шакирова, В.Г. Динамика антителообразования при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, К.С. Хаертынов, И.М. Хаертынова, З.Л. Хамидуллина // Материалы научно-практ. конференции с международным участием «Инфекции и паразитарные болезни в практике клинициста. Антибактериальная, противовирусная, антипаразитарная, иммунотерапия и иммунопрофилактика на догоспитальном и госпитальном этапах». – Харьков, 2010. – С. 365.
 7. Шакирова, В.Г. Современные клиничко-биохимические аспекты геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, Н.А. Климова, З.Л. Хамидуллина // Материалы юбилейной научно-практ. конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней КГМУ «Актуальные вопросы инфектологии». – Казань, 2010. – С. 75.
 8. Шакирова, В.Г. Функциональное состояние печени у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – Москва. – 2010. – Т. XX. – № 1. – С. 111.
 9. Шакирова, В.Г. Эпидемиологические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Республике Татарстан на современном этапе / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Л.Ф. Садреева // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней КГМУ «Актуальные вопросы инфектологии». – Казань, 2010. – С. 76–77.
 10. Шакирова, В.Г. **Эпидемиологическая ситуация в природном очаге геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Республики Татарстан / В.Г. Шакирова // Общественное здоровье и здравоохранение. – Казань. – 2010. – № 3. – С. 34–37; 4 с. ИФ – 0,23**
 11. Шакирова, В.Г. Специфические иммунные комплексы при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, К.С. Хаертынов, И.М. Хаертынова, З.Л. Хамидуллина // Журнал инфектологии – 2010. – Т. 2. – № 4. – С. 125.
 12. Ганиева, З.К. Клиничко-эпидемиологическая характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Нижнекамского района Республики Татарстан / З.К. Ганиева, В.Г. Шакирова // Инфекционные болезни. Материалы III

- Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2011. – Т. 9. – Прил. 1.– С. 79.
13. Шакирова, В.Г. Спектральный состав антихантавирусных антител в сыворотке крови и в составе иммунных комплексов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, Е.Б. Лаптева, А.Э. Изосимова // Инфекционные болезни. Материалы III Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2011. – Т. 9. – Прил. 1.– С. 402.
 14. Шакирова, В.Г. Клинико-эпидемиологическая характеристика ГЛПС при различных формах тяжести на территории Республики Татарстан / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, Э.Г. Гайфуллина // Практическая медицина. – 2011. – № 3 (51). – С. 181–183; 3/0,75 с. ИФ – 0,463
 15. Шакирова, В.Г. Исследование гуморального иммунного ответа у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, И.Г. Мустафин // Инфекционные болезни. Материалы IV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2011. – Т. 9. – Прил. 2.– С. 109–110.
 16. Шакирова, В.Г. Предикторы тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов // Инфекционные болезни. Материалы V Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2012. – Т. 10. – Прил. 2.– С. 423.
 17. Шакирова, В.Г. Клинико-иммунологическая эффективность применения рибавирина в терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, Л.И. Мингазова // Практическая медицина. – 2012. – № 1 (56). – С. 37–38; 2/0,25 с. ИФ – 0,463
 18. Шакирова, В.Г. Мониторинг активности антител к хантавирусу у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. XCIII. – № 2. – С. 221–225; 5/1,7 с. ИФ – 0,379
 19. Шакирова, В.Г. Функциональное состояние иммунной системы у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Э.Г. Гайфуллина, Саматов В.А. // Инфекционные болезни. Материалы VI Ежегодного

- Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2013. – Т. 11. – Прил. 1.– С. 452.
20. Шакирова, В.Г. Функциональное состояние иммунной системы у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом при различных формах тяжести / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова // Дневник Казанской медицинской школы. – 2013. – № 2 (II). – С. 82–85.
21. Шакирова, В.Г. Опыт применения рибавирина в терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, Т.М. Мухаметова, Л.И. Галиева // Инфекционные болезни. Материалы VII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2014. – Т. 12. – Прил. 1.– С. 346.
22. Шакирова, В.Г. Клинико-лабораторные особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Республики Татарстан / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Э.Г. Гайфуллина, Р.Т. Садыкова Р.Т. // Инфекционные болезни. Материалы VIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2015. – Т. 13. – Прил. 1.– С. 376–377.
23. **Martynova, E.V. High Triglycerides Are Associated with Low Thrombocyte Counts and High VEGF in Nephropathia Epidemica / E.V. Martynova, A.H. Valiullina, O.A. Gusev, Y.N. Davidyuk, E.E. Garanina, V.G. Shakirova, I.M. Khaertynova, V.A. Anokhin, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // Journal of Immunology Research. – 2016. – Article ID 8528270. – P. 1–11; 11/1 с. ИФ – 3,327**
24. Шакирова, В.Г. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом в Республике Татарстан за период с 2003 по 2015 годы / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Л.Ф. Садреева, М.В. Хакимзянова // Инфекционные болезни. Материалы IX Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2016. – Т. 14. – Прил. 1.– С. 310–311.
25. Насибуллин, А.Р. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: атипичное течение (клиническое наблюдение) / А.Р. Насибуллин, В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Э.Г. Гайфуллина, Л.Р. Гайнатуллина // Инфекционные болезни. Материалы IX Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2016. – Т. 14. – Прил. 1.– С. 204.
26. Шакирова, В.Г. Анализ генетического разнообразия хантавирусов, циркулирующих в Республике Татарстан / И.М. Хаертынова, Л.Ф. Садреева, А.А. Гайнуллин, Ю.Н. Давидюк, Э. Кабвэ // Инфекционные

- болезни. Материалы IX Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2016. – Т. 14. – Прил. 1. – С. 311.
27. Шакирова, В.Г. Функциональное состояние печени у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, А.Р. Насибуллин, Э.Г. Гайфуллина, Л.Ф. Садреева // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 100-летию заведующему кафедрой инфекционных болезней КГМУ, проф. А.Е. Резника «Актуальные проблемы инфекционных болезней (вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики)». – Казань, 2016. – С. 58–59.
28. **Davidyuk, Y.N. Genetic Diversity of Puumala Virus Isolates in the Republic of Tatarstan and the Republic of Mordovia / Y.N. Davidyuk, E. Kabwe, S.F. Khaiboullina, R.K. Ismagilova, V.G. Shakirova, G.S. Isaeva, V.F. Pavelkina, Yu.G. Uskova, A.A. Rizvanov, S.P. Morzunov // BioNanoScience. – 2017. – Vol. 7. – Iss. 2. – P. 309–312. doi: 10.1007/s12668-016-0331-9. (ИФ – 1,38).**
29. Шакирова, В.Г. Идентификация штаммов вируса Puumala у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Республике Татарстан / В.Г. Шакирова, Ю. Н. Давидюк, Э. Кабве, Р.К. Исмагилова, Е.В. Мартынова, И.М. Хаертынова, С.Ф. Хайбуллина // Инфекционные болезни. Материалы X Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2017. – Т. 15. – Прил. 1. – С. 78.
30. Шакирова, В.Г. Динамика показателей липидного профиля, тромбоцитов, сосудистого фактора проницаемости и активации цитокинов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, С.Ф. Хайбуллина, Е.В. Мартынова, Е.Е. Гаранина Ю.Н. Давидюк // Инфекционные болезни. Материалы X Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2017. – Т. 15. – Прил. 1. – С. 317.
31. Шакирова, В.Г. Клинико-лабораторная характеристика ГЛПС в республике Татарстан в 2016 году / В.Г. Шакирова, А.Р. Саубанова, Л.Ф. Садреева, З.Л. Хамидуллина // Инфекционные болезни. Материалы X Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2017. – Т. 15. – Прил. 1. – С. 318.
32. Шакирова, В.Г. Клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом, связанные с генотипом штаммов хантавируса Puumala, циркулирующих на территории Республики Татарстан / В.Г. Шакирова, Ю.Н. Давидюк, Э. Кабве, Е.В. Мартынова, Р.К. Исмагилова, И.М. Хаертынова, С.Ф. Хайбуллина, С.П. Морзунов, А.А.

- Ризванов // Материалы VI международной научно-практической конференции «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли». – Казань, 2017. – С. 152–153.
33. **Garanina, E.E. Detection of Antibodies Recognizing Puumala Virus Nucleocapsid and Glycoprotein Peptides in NE Serum / E.E. Garanina, E.V. Martynova, V.V. Ivanova, E.V. Okhezin, V.G. Shakirova, V.A. Anokhin, S.P. Morzunov, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // BioNanoScience. – 2017. – Vol. 7. – Iss. 1. – P. 201–203. <https://doi.org/10.1007/s12668-016-0296-8>.; 3/0,3 с. ИФ – 1,38**
34. **Kabwe, E. Genetic Characterization of Small (s)-Segment Genome Puumala Virus Strain Kazan / E. Kabwe, N.Y. Davidyuk, S.P. Morzunov, V.G. Shakirova, V.A. Anokhin, G.S. Isaeva, R.K. Ismagilova, S.F. Khaiboullina, A.A. Rizvanov // BioNanoScience. – 2017. – Vol. 7. – Iss. 2. – P. 316–319. doi: 10.1007/s12668-016-0338-2.; 4/0,4 с. ИФ – 1,38**
35. **Salafutdinov, I.I. Differences in the Serum VEGF Are Not Associated with Differences in Cytokine Isoforms in Nephropathia Epidemica / I.I. Salafutdinov, E.V. Martynova, S.F. Khaiboullina, V.A. Anokhin, V.G. Shakirova, A.A. Rizvanov // BioNanoScience. – 2017. – Vol. 7. – Iss. 2. – P. 313–315. doi: 10.1007/s12668-016-0340-8.; 3/0,5 с. ИФ – 1,38**
36. **Шакирова, В.Г. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: анализ эпидемиологической ситуации в республике Татарстан за период 2003–2015 гг. / В.Г. Шакирова, Э.Г. Гайфуллина, И.М. Хаертынова, И.А. Карпович, Л.Ф. Садреева // Дневник Казанской медицинской школы. – 2017. – № 2 (16). – С. 21–24.; 4/0,8 с. ИФ – 0,147**
37. **Kletenkov, K. Positive Correlation between Serum Triglycerides and Pro-inflammatory Cytokines in Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome / K.S. Kletenkov, A.K. Valiullina, E.V. Martynova, O.A. Gusev, Y.N. Davidyuk, E.E. Garanina, V.G. Shakirova, I.M. Khaertynova, V.A. Anokhin, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // Blood. –2017. – Vol. 130. – Suppl. 1. – P. 4818 https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.4818.4818.; 1/0,1 с. ИФ – 15,132**
38. **Garanina, E.E. Platelet counts and lipid profile in nephropatia epidemica / E.E. Garanina, E.V. Martynova, Y.N. Davidyuk, A.K. Valiullina, O.A. Gusev, V.G. Shakirova, I.M. Khaertynova, V.A. Anokhin, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // European Journal of**

- clinical investigation. – 2017. – Vol. 47. – Suppl. 1. – P.155 doi: 10.1111/eci.12749; 1/0,1 с. ИФ – 3,086
39. Garanina, E.E. Detection of Antibodies in Serum and Lymphocytes of Patients with Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome / E.E. Garanina, E.V. Okhezin, E.V. Martynova, V.G. Shakirova, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // *Blood*. – 2017. – Vol. 130. – Suppl. 1. – P. 4824 https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.4824.4824; 1/0,16 с. ИФ - 15,132.
40. Garanina, E.E. Upregulated levels of clusterin in urine and kidney are peculiar for nephropathia epidemica / E. Garanina; E. Martynova; K. Ivanov; A. Titova; Y. Davidyuk; V. Shakirova; I. Khaertynova; A. Rizvanov; S. Khaiboullina // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2018. – Vol. 48. – Suppl. 1. – P. 4–85; 81/9 с. ИФ – 3,086
41. Garanina, E.E. CCR5 genotype determines IL-9 and IL-32 secretion in nephropathia epidemica / E.E. Garanina, K. Kletenkov; E. Martynova; Y. Davidyuk; E. Kabwe; E. Okhezin; V. Shakirova; I. Khaertynova; A. Rizvanov; S. Morzunov; S. Khaiboullina // *European Journal of Clinical investigation*. – 2018. – Vol. 48, Suppl. 1. – P. 88; 1/0,09 с. ИФ – 3,086
42. Шакирова, В.Г. Динамика показателей липидного профиля у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Н.М. Мазилова, Л.И. Галиева // *Инфекционные болезни. Материалы XI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням*. – Москва, 2018. – Т. 16. – Прил. 1. – С. 256.
43. Martynova, E.V. Urinary Clusterin Is Upregulated in Nephropathia Epidemica / E.V. Martynova, A.N. Maksudova, V.G. Shakirova, S.R. Abdulkhakov, I.M. Khaertynova, V.A. Anokhin, V.V. Ivanova, I.M. Abiola, E.E. Garanina, L.G. Tazetdinova, A.H. Valiullina, S.F. Khaiboullina // *Hindawi Disease Markers*. – 2018. – Vol. 2018. – Art. ID 8658507. – P. 1–7; 7/0,6 с. <https://doi.org/10.1155/2018/8658507>. ИФ – 2,738
44. Шакирова, В.Г. Эпидемиологическая характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Республике Татарстан / В.Г. Шакирова, А.Р. Саубанова, Н.В. Усова, И.М. Хаертынова, Л.И. Галиева, Е.А. Татарина // *Материалы XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы»*. – Москва, 2019. – С. 223.

45. Шакирова, В.Г. Показатели фактора роста эндотелия сосудов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, А.Р. Саубанова, Н.В. Усова, И.М. Хаертынова, Э.Г. Гайфуллина, А.Ф. Шахматова // *Материалы XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы».* – Москва, 2019. – С. 224.
46. Daviduk, Y.N. **Characterization of the Puumala orthohantavirus Strains in the Northwestern Region of the Republic of Tatarstan in Relation to the Clinical Manifestations in Hemorrhagic Fever With Renal Syndrome Patients** / Y.N. Davidyuk, E. Kabwe, V.G. Shakirova, E.V. Martynova, R.K. Ismagilova, I.M. Khaertynova, S.F. Khaiboullina, A.A. Rizvanov, S.P. Morzunov // *Frontiers in Pharmacology.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 970. – P. 1–9; 9/1 с. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00970>. ИФ - 3,831.
47. Garanina, E. **Cytokine Storm Combined with Humoral Immune Response Defect in Fatal Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Case, Tatarstan, Russia** / E. Garanina, E. Martynova, Y. Davidyuk, E. Kabwe, K. Ivanov, A. Titova, M. Markelova, M. Zhuravleva, G. Cherepnev, V.G. Shakirova, I. Khaertynova, R. Tarlinton, A. Rizvanov, S. Khaiboullina, S. Morzunov // *Viruses.* – 2019. – Vol. 11. – Art. 601.- P. 1–20. <https://doi.org/10.3390/v11070601>; 20/1,3 с. ИФ – 3,816
48. Kletenkov, K. **Delta CCR5 Genotype Is Associated with Mild Form of Nephropathia Epidemica** / K. Kletenkov, E. Martynova, Y. Davidyuk, E. Kabwe, A. Shamsutdinov, E. Garanina, V. Shakirova, I. Khaertynova, V. Anokhin, R. Tarlinton, A. Rizvanov, S. Khaiboullina, S. Morzunov // *Viruses.* – 2019. – Vol. 11. – Iss. 7. – Art. 675. – P. 1–13; 13/1 с. ИФ – 3,816
49. Шакирова, В.Г. Анализ маркеров почечного повреждения у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, Е.В. Мартынова, А.Р. Саубанова, И.М. Хаертынова, С.Ф. Хайбуллина, Е.Е. Гаранина // *Практическая медицина.* – 2019. – Т. 17. – № 8. – С. 97–102; 6/1 с. ИФ – 0,463
50. Шакирова, В.Г. Показатели липидного профиля и уровня фактора роста эндотелия сосудов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / В.Г. Шакирова, Е.В. Мартынова, С.Ф. Хайбуллина, И.М. Хаертынова, А.Р.

- Саубанова, А.Х. Валиуллина, А.А. Ризванов // *Практическая Медицина.* – 2019. – Т. 17. – № 8. – С. 103–108; 6/0,85 с. ИФ – 0,463
51. Kabwe, E. Hantavirus Puumala genetic variation in the patients with HFRS in Tatarstan, Russia / E. Kabwe, Y.N. Davidyuk, S.P. Morzunov, E.V. Martynova, E.E. Garanina, V.G. Shakirova, R.K. Ismagilova, S.F. Khaiboullina, A.A. Rizvanov // *International Journal of Infectious Diseases.* – 2019. – Vol. 79. – Supp. 10. – P. 10. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.043>; 1/0,1 с. ИФ – 3,202.
52. Ризванов, А.А. Молекулярно-генетическая идентификация штаммов Puumala orthohantavirus, распространённых на территории Республики Татарстан. // А.А. Ризванов, Ю.Н. Давидюк, А.Ф. Шамсутдинов, Э. Кабве, А.В. Князева, Р.К. Исмагилова, А.Н. Беляев, Э.А. Шуралев, В.Г. Шакирова, А.Р. Саубанова, И.М. Хаертынова, В.А. Трифонов, Г.Ш. Исаева, Т.А. Савицкая, С.Ф. Хайбуллина, С.П. Морзунов // Сборник материалов Региональной научно-практической конференции «Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: эпидемиология, профилактика и диагностика на современном этапе». – Казань, 2019. – С. 94–99.
53. Martynova, E. Cytokine, Chemokine, and Metalloprotease Activation in the Serum of Patients with Nephropathia Epidemica from the Republic of Tatarstan and the Republic of Mordovia, Russia / E. Martynova, Y. Davidyuk, E. Kabwe, E.E. Garanina, V. Shakirova, V. Pavelkina, Y. Uskova, R.J. Stott, T.L. Foster, M. Markelova, M. Goyal, A. Gupta, M. Bholá, V. Kumar, M. Baranwal, A.A. Rizvanov, S.F. Khaiboullina // *Pathogens.* – 2021. – Vol. 11. – Iss. 5. – Art. 527. – P. 1–17. <https://doi.org/10.3390/v11070601> 17/1 с. ИФ – 3,018.
54. Способ обнаружения антител к Хантавирусу при геморрагической лихорадке с почечным синдромом и прогнозирование тяжелых форм заболевания/В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, К.С. Хаертынов, А.А. Новожилова//Патент на изобретение 2484478 С1 РФ, МПК G01N 33/53, выдан ФИПС РФ от 10.06.2013 г. – Бюлл. № 16.

УЧЕБНЫЕ ИЗДАНИЯ

1. Шакирова, В.Г. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: иммунопатогенез, клиника, диагностика, лечение. Учебное пособие для врачей / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова. – Казань, КГМА. – 2010. – 44 с.
2. Шакирова, В.Г. Современные аспекты клиники, диагностики и

лечения геморрагической лихорадки с почечным синдромом. (Учебно-методическое пособие для врачей) / В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова. – Казань: «Издательский дом «Меддок», 2012. – 36 с.

3.Шакирова, В.Г. ГЛПС (Учебное пособие для врачей).// В.Г. Шакирова, И.М. Хаертынова, Э.Г. Гайфуллина. – Казань: «Издательский дом «Меддок», 2017. – 41 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- b-NGF – фактор роста нервов
- FGFb – фактора роста фибробластов бетта
- G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
- GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
- GST-π – глутатион S-трансфераза-π
- HGF – фактор роста гепатоцитов
- IL – интерлейкин
- KIM-1 – молекула повреждения почек-1
- LIF – фактор ингибирования лейкемии
- M-CSF – колониостимулирующий фактор макрофагов
- MIF – фактор, ингибирующий миграцию
- NGAL – ассоциированный с нейтрофильной желатиназой липокалин
- PDGF – фактор роста тромбоцитов
- PUUV – пуумала вирус
- SCF – фактор стволовых клеток
- SCGF-b – фактор роста стволовых клеток бетта
- TFF3 – фактор трилистника 3
- TNFα – фактор некроза опухоли альфа
- TRAIL – лиганд семейства факторов некроза опухоли,
- VEGF – фактор роста эндотелия сосудов
- β2M – бета2-микроглобулин
- АБС – абдоминальный синдром
- АВС – астено-вегетативный синдром
- ИТС – инфекционно-токсический синдром
- ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
- от-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией