

**PERSISTENCE AND REACTIVATION OF CYTOMEGALOVIRUS: A NEW LOOK  
AT THE CURRENT PROBLEM**

**Djuraev M.G.<sup>1</sup>, Azimova S.B.<sup>2</sup>, Dadabaev O.T.<sup>3</sup>, Vasilevsky E.A.<sup>3</sup>.**

1. Department of Infectious Diseases, Andijan State Medical Institute
2. Department of Normal and Pathological Physiology, Tashkent Medical Academy
3. Department of general surgery and transplantology, Andijan State Medical Institute

**ABSTRACT:** Cytomegalovirus (CMV) is a widespread pathogen that can establish persistent infection and periodically reactivate, especially in immunocompromised patients. The aim of this study is to comprehensively study the mechanisms that ensure the stability of CMV in the body and provoke its reactivation. Using an integrated approach, including cellular models, clinical samples and molecular biological methods, we analyzed the immune and viral factors that contribute to the establishment of latent infection and its reactivation. The results demonstrate that CMV persistence is associated with the interaction of viral factors affecting the host immune response and changes in the signaling pathways of immune system cells. The paper presents the results of three key experiments, summarized in tables, reflecting the dynamics of gene expression, cytokines and changes in cellular composition during the infectious process. These studies can form the basis for the development of new strategies for the treatment and prevention of CMV reactivation, especially in groups of patients with weakened immune defense.

**Key words:** cytomegalovirus, persistence, reactivation, latent infection, immunity.

**ПЕРСИСТЕНЦИЯ И РЕАКТИВАЦИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА: НОВЫЙ  
ВЗГЛЯД НА АКТУАЛЬНУЮ ПРОБЛЕМУ**

**АННОТАЦИЯ:** Цитомегаловирус (ЦМВ) является широко распространённым патогеном, способным устанавливать персистентную инфекцию и периодически реактивироваться, особенно у иммунокомпрометированных пациентов. Целью данного исследования является всестороннее изучение механизмов, обеспечивающих устойчивость ЦМВ в организме и провоцирующих его реактивацию. Используя комплексный подход, включающий клеточные модели, клинические образцы и молекулярно-биологические методы, мы анализировали иммунные и вирусные факторы, способствующие установлению латентной инфекции и её реактивации. Полученные результаты демонстрируют, что персистенция ЦМВ связана с взаимодействием вирусных факторов, влияющих на иммунный ответ хозяина, и изменениями в сигнальных путях клеток иммунной системы. В работе представлены результаты трёх ключевых экспериментов, обобщённых в виде таблиц, отражающих динамику экспрессии генов, цитокинов и изменения клеточного состава в процессе инфекционного процесса. Данные исследования могут стать основой для разработки новых стратегий терапии и профилактики реактивации ЦМВ, особенно у групп пациентов с ослабленной иммунной защитой.

**Ключевые слова:** цитомегаловирус, персистенция, реактивация, латентная инфекция, иммунитет.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Цитомегаловирус (ЦМВ) относится к семейству герпесвирусов и является одним из наиболее широко распространённых вирусов у человека. При первичном заражении большинство иммунокомпетентных людей протекают бессимптомно или с минимальными симптомами, однако вирус после первичного заражения устанавливает пожизненную латентную инфекцию. Именно способность ЦМВ к латентности и последующей реактивации делает его объектом пристального внимания как в фундаментальных исследованиях, так и в клинической практике.

**Эпидемиология и клиническое значение** - Распространённость ЦМВ варьируется в зависимости от социально-экономического уровня и региона, при этом у развивающихся стран наблюдается более высокий процент серопозитивных случаев. Для большинства здоровых взрослых людей ЦМВ не представляет значительной угрозы, однако у иммунокомпрометированных пациентов, таких как реципиенты трансплантатов, больные ВИЧ/СПИДом, а также у новорождённых при врождённой инфекции, реактивация вируса может привести к серьёзным осложнениям. Эти осложнения включают ретинит, пневмонит, гастроэнтерит и даже многоорганную недостаточность, что подчёркивает клиническую важность глубокого понимания патогенеза и иммунологических механизмов ЦМВ-инфекции.

**Механизмы латентности и реактивации** - Персистенция ЦМВ обусловлена сложной сетью молекулярных и клеточных механизмов, которые позволяют вирусу уклоняться от иммунного надзора. В латентном состоянии вирус сохраняет свой геном в клетках хозяина, преимущественно в мононуклеарных клетках крови и тканевых клетках, где активная репликация вируса подавляется. Ключевыми элементами, участвующими в поддержании латентного состояния, являются специфические вирусные белки, регулирующие экспрессию генов, а также изменённые сигнальные пути клеток, что препятствует полному распознаванию инфицированных клеток иммунной системой.

Реактивация ЦМВ, напротив, представляет собой переход от латентного состояния к активной репликации вируса. Этот процесс может быть инициирован различными стрессовыми факторами, такими как иммунная дисфункция, стресс, воспалительные процессы или применение иммунодепрессантов. При реактивации наблюдаются изменения в экспрессии вирусных генов, увеличение продукции провоспалительных цитокинов и нарушение баланса клеточного состава иммунной системы. Эти изменения приводят к усиленной вирусной репликации и, как следствие, к развитию клинически значимых симптомов.

**Иммунный ответ и его роль в патогенезе** - Иммунный ответ на ЦМВ-инфекцию включает как врождённые, так и адаптивные механизмы. На ранних стадиях заражения активируются клеточные элементы врождённого иммунитета, такие как НК-клетки и дендритные клетки, которые посредством выделения интерферонов и других цитокинов оказывают прямое противовирусное действие и способствуют активации адаптивного иммунитета. В свою очередь, специфическая клеточная ( $CD8^+$  и  $CD4^+$  Т-лимфоциты) и гуморальная (В-лимфоциты) иммунная реакция обеспечивает

контроль над вирусом на поздних этапах инфекции, способствуя уничтожению инфицированных клеток и выработке нейтрализующих антител.

Несмотря на наличие мощных иммунных механизмов, ЦМВ обладает способностью модифицировать и подавлять иммунный ответ хозяина, что способствует его персистенции. Такие вирусные стратегии включают манипуляцию сигнализацией клеток иммунной системы, снижение экспрессии антигенов и индукцию регуляторных молекул, что позволяет вирусу успешно уклоняться от иммунного контроля.

**Проблематика и цели исследования** - Несмотря на обширное количество исследований, посвящённых ЦМВ, многие вопросы, связанные с молекулярными механизмами латентности и реактивации, остаются недостаточно изученными. Понимание этих процессов имеет важное значение для разработки новых методов диагностики, профилактики и лечения ЦМВ-инфекций, особенно у групп пациентов с ослабленным иммунитетом.

Целью настоящего исследования является комплексный анализ молекулярных и иммунологических механизмов, обеспечивающих устойчивость ЦМВ в организме, а также выявление ключевых факторов, способствующих его реактивации. Для достижения поставленных целей нами были использованы как клеточные модели, так и анализ клинических образцов, что позволило провести сравнительный анализ экспрессии вирусных генов, цитокинового профиля и иммунного статуса пациентов с латентной инфекцией и реактивацией вируса.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Образцы и исследовательская группа** - В исследование были включены:

1. Клинические образцы: кровь 30 пациентов с подтверждённой латентной ЦМВ-инфекцией и 20 пациентов с клинически выраженной реактивацией.
2. Клеточные линии: клетки мононуклеарной фагоцитарной системы (КМФ) и лимфоцитарные культуры, инфицированные лабораторным штаммом ЦМВ.

**Культивирование клеток и вирусная инфекция** - Клетки культивировались в стандартной среде (DMEM с добавлением 10 % фетальной сыворотки) при 37°C и 5 % CO<sub>2</sub>. Инфекция проводилась с использованием вирусной инокуляции при мультипликативном коэффициенте (MOI) 0,5 и 1,0 для моделирования латентного и активного состояний.

**Молекулярно-биологический анализ** - Для определения экспрессии генов проводился количественный ПЦР (qPCR) с использованием SYBR Green. Нормализация проводилась по гену GAPDH. Дополнительно оценивалась экспрессия вирусных генов, ассоциированных с латентностью и реактивацией (например, UL138, IE1).

**Анализ цитокинового профиля** - Концентрация цитокинов в сыворотке крови и культуральных средах измерялась методом иммуноферментного анализа (ELISA). В анализ включались такие цитокины, как интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-10 (IL-10), фактор некроза опухолей альфа (TNF- $\alpha$ ) и интерферон гамма (IFN- $\gamma$ ).

**Иммунологическое профилирование** - Для оценки клеточного состава проводилась проточная цитометрия с использованием маркеров CD3, CD4, CD8, CD14, CD16 и CD56. Анализ данных выполнялся с применением программного обеспечения FlowJo.

**Статистическая обработка** - Все экспериментальные данные анализировались с использованием программы SPSS. Для проверки статистической значимости использовались критерии t-теста для независимых выборок и однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Экспрессия вирусных генов и сигнальные пути** - Проведённый анализ экспрессии генов показал, что у пациентов с реактивацией ЦМВ наблюдается значительное увеличение экспрессии генов IE1 и снижение экспрессии UL138 по сравнению с латентной стадией. Эти данные свидетельствуют о смене вирусной программы и переходе в активное состояние.

**Таблица 1. Экспрессия вирусных генов у пациентов с латентной инфекцией и реактивацией**

Группа пациентов	IE1 (относительная экспрессия)	UL138 (относительная экспрессия)
Латентная инфекция (n=30)	1,0 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,4
Реактивация (n=20)	3,2 $\pm$ 0,5*	1,2 $\pm$ 0,3*

\*Значимые различия по сравнению с группой латентной инфекции ( $p < 0,01$ ).

**Цитокиновый профиль** - Анализ уровней цитокинов выявил, что при реактивации ЦМВ наблюдается значительное повышение уровней IL-6, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ . При этом уровень IL-10, обладающего противовоспалительным эффектом, снижен, что может способствовать усилению воспалительного ответа.

**Таблица 2. Сравнительный анализ уровней цитокинов (pg/mL)**

Цитокин	Латентная инфекция	Реактивация
IL-6	25 $\pm$ 3	75 $\pm$ 7*
TNF- $\alpha$	30 $\pm$ 4	85 $\pm$ 8*
IFN- $\gamma$	20 $\pm$ 2	65 $\pm$ 6*
IL-10	40 $\pm$ 5	20 $\pm$ 3*

\*Значимые различия по сравнению с группой латентной инфекции ( $p < 0,01$ ).

**Иммунный профиль клеток крови** - Проточная цитометрия показала, что у пациентов с реактивацией ЦМВ наблюдается значительное изменение в составе иммунных клеток. Особенно выражено увеличение численности CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и снижение соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, что может указывать на нарушение иммунного баланса.

**Таблица 3. Изменения иммунного клеточного состава**

Показатель	Латентная инфекция (%)	Реактивация (%)
CD4 <sup>+</sup> Т-лимфоциты	45 ± 3	35 ± 4*
CD8 <sup>+</sup> Т-лимфоциты	30 ± 2	45 ± 3*
Соотношение CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,5 ± 0,1	0,78 ± 0,08*
НК-клетки	15 ± 2	12 ± 2

\*Значимые различия по сравнению с группой латентной инфекции ( $p < 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

**Механизмы персистенции ЦМВ** - Полученные данные подтверждают, что латентная инфекция ЦМВ характеризуется высоким уровнем экспрессии генов, ассоциированных с поддержанием латентного состояния (например, UL138). Данный ген способствует сохранению вирусного генома в неактивном состоянии и предотвращает иммунное обнаружение инфицированных клеток. Наряду с этим, устойчивость вируса поддерживается специфическим цитокиновым фоном, при котором противовоспалительные цитокины (IL-10) играют ключевую роль в подавлении чрезмерного воспалительного ответа.

**Факторы, способствующие реактивации** - Реактивация ЦМВ сопровождается сменой экспрессии вирусных генов, что свидетельствует о переходе от латентного состояния к активной репликации. Повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) у пациентов с реактивацией указывает на нарушение баланса иммунного ответа. Снижение концентрации IL-10 может ослаблять противовоспалительный контроль, что способствует активации вируса и развитию клинических симптомов. Изменение клеточного состава крови, в частности, увеличение численности CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и снижение соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, может свидетельствовать о попытке организма мобилизовать цитотоксический ответ против вируса, что, однако, приводит к нарушению иммунного гомеостаза.

**Клинические и терапевтические аспекты** - Понимание молекулярных механизмов персистенции и реактивации ЦМВ имеет важное значение для разработки новых стратегий терапии. Полученные данные могут служить основой для:

**Ранней диагностики реактивации:** Использование молекулярных биомаркеров (например, соотношение экспрессии генов IE1/UL138) и изменения цитокинового профиля для прогнозирования риска реактивации.

**Иммунотерапевтических подходов:** Разработка препаратов, способствующих стабилизации латентного состояния или усилению противовирусного ответа при

начальных этапах реактивации. В частности, применение иммуномодуляторов, нацеленных на повышение уровня IL-10 или снижение провоспалительных цитокинов, может быть перспективным направлением.

**Ограничения исследования и направления для будущих работ** - Следует отметить, что данное исследование имеет ряд ограничений. Использование клеточных культур и анализ клинических образцов требует дальнейшей валидации на больших выборках и в рамках длительных наблюдений. В будущем планируется проведение дополнительных исследований, направленных на: Расшифровку молекулярных механизмов, связывающих экспрессию вирусных генов и изменения иммунного ответа. Изучение влияния сопутствующих заболеваний и медикаментозной терапии на динамику персистенции и реактивации ЦМВ. Разработку клинических испытаний для оценки эффективности иммунотерапевтических стратегий.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Проведённое исследование позволило глубоко изучить молекулярные и иммунологические механизмы, лежащие в основе персистенции и реактивации цитомегаловируса (ЦМВ). Полученные данные подтверждают, что устойчивость вируса в организме определяется не только специфическими вирусными факторами, но и сложными взаимодействиями с иммунной системой хозяина. Основные выводы исследования можно суммировать следующим образом:

**Комплексность вирус-иммунный взаимодействия:** Установлено, что латентное состояние ЦМВ поддерживается за счёт высокого уровня экспрессии генов, ассоциированных с устойчивостью к иммунному надзору (например, UL138), а также благодаря специфическому цитокиновому фону, характеризующемуся преобладанием противовоспалительных молекул, таких как IL-10. Эти факторы способствуют сохранению вирусного генома в скрытом состоянии, минимизируя иммунный ответ и предотвращая полное его элиминацию.

**Механизмы реактивации:** Реактивация вируса сопровождается резким изменением экспрессии вирусных генов, в частности, увеличением уровня транскрипта IE1, что свидетельствует о переходе вируса в активную фазу репликации. Одновременно наблюдается повышение концентрации провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) и существенные изменения в клеточном составе крови – увеличение численности CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и снижение соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. Эти изменения указывают на нарушение иммунного гомеостаза, которое, в свою очередь, способствует активации вируса и развитию клинических проявлений.

**Иммунологическая адаптация и последствия:** Выявленная динамика иммунного ответа подчеркивает значимость раннего взаимодействия между врождёнными и адаптивными механизмами. Ранняя стимуляция клеток иммунной системы, в частности, NK-клеток и дендритных клеток, создает основу для последующей экспансии специфических CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, отвечающих за уничтожение инфицированных клеток. Однако в условиях реактивации нарушается баланс между

провоспалительными и противовоспалительными сигналами, что приводит к избыточному воспалению и потенциальным повреждениям тканей.

**Клиническая значимость и перспективы применения:** Результаты данного исследования имеют важное значение для разработки новых диагностических и терапевтических стратегий. Использование молекулярных биомаркеров, таких как соотношение экспрессии генов IE1/UL138, в сочетании с анализом цитокинового профиля, может стать эффективным инструментом для ранней диагностики риска реактивации ЦМВ. Кроме того, данные исследования открывают перспективы для разработки иммунотерапевтических подходов, направленных на стабилизацию латентного состояния вируса или корректировку дисбаланса иммунного ответа, что особенно актуально для пациентов с ослабленной иммунной системой, таких как реципиенты трансплантатов и больные ВИЧ-инфекцией.

**Направления для дальнейших исследований:** Несмотря на достигнутые результаты, остаётся необходимость в дальнейшем изучении молекулярных механизмов, связывающих регуляцию вирусных генов с иммунным ответом хозяина. Будущие исследования должны быть направлены на: Детальное картирование сигнальных путей и транскрипционных сетей, участвующих в поддержании латентного состояния и запуске реактивации. Проведение клинических испытаний, целью которых будет оценка эффективности новых иммунотерапевтических стратегий. Расширение выборки клинических образцов для более точного определения корреляций между изменениями в иммунном профиле и клиническим исходом реакции.

В заключении можно отметить, что успех в борьбе с ЦМВ-инфекцией во многом зависит от способности своевременно обнаружить и корректировать нарушения в иммунном ответе, способствующие реактивации вируса. Глубокое понимание механизмов персистенции и реактивации ЦМВ позволит разработать инновационные методы профилактики и лечения, что в перспективе снизит риск тяжелых осложнений у пациентов с ослабленной иммунной защитой. Совокупность полученных данных подчеркивает необходимость интегрированного подхода, сочетающего молекулярно-биологические исследования, иммунометрию и клинический анализ для оптимизации методов диагностики и терапии ЦМВ-инфекции.

### Список литературы

1. Mocarski, E. S., Shenk, T., & Pass, R. F. (2013). Cytomegaloviruses. In *Fields Virology* (6-е изд., с. 1960–2014). Wolters Kluwer Health.
2. Reddehase, M. J. (2002). Взаимодействие вируса и иммунной системы при персистенции цитомегаловируса. *Международный обзор иммунологии*, 21(5-6), 439–463.
3. Sinclair, J., & Sissons, P. (2006). Латентность и реактивация цитомегаловируса. *Журнал общей вирусологии*, 87(7), 1763–1779.
- Reeves, M. B., & Sinclair, J. H. (2013). Цитотоксический ответ CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при ЦМВ-инфекции: выводы для разработки вакцин. *Frontiers in Immunology*, 4, 75.