



Герпесвирусные инфекции и иммунологические нарушения при различных стадиях когнитивных расстройств альцгеймеровского типа

Крынский С.А.¹, Малашенкова И.К.^{1,2}, Огурцов Д.П.^{1,2}, Хайлов Н.А.¹, Чекулаева Е.И.¹, Шипулина О.Ю.³, Пономарёва Е.В.⁴, Гаврилова С.И.⁴, Дидковский Н.А.², Величковский Б.М.¹

¹НИЦ «Курчатовский Институт», 123182, Москва, Россия;

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», 119435, Москва, Россия;

³ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 111123, Москва, Россия;

⁴ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», 115522, Москва, Россия

Введение. Болезнь Альцгеймера (БА) – мультифакториальное заболевание, ведущее к прогрессирующему снижению памяти, зрительно-пространственных функций, эмоциональным и личностным изменениям. В настоящее время в качестве его наиболее раннего додементного клинического этапа рассматривается синдром мягкого когнитивного снижения амнестического типа (amnesic mild cognitive impairment, aMCI). В развитии и прогрессировании aMCI и начальной стадии БА играет роль нейровоспаление, которое может поддерживаться иммунологическими нарушениями системного характера. С учётом этого представляется актуальным исследование факторов (включая инфекционные), влияющих на характер иммунного статуса и выраженность системного воспалительного ответа у страдающих когнитивными расстройствами альцгеймеровского типа на различных стадиях.

Цель данной работы – получение новых данных о возможной роли герпесвирусов в возникновении и прогрессии aMCI и БА.

Материал и методы. Обследованы 100 больных с диагнозом aMCI, 45 пациентов с БА и 40 лиц контрольной группы. Определяли частоту выявления ДНК герпесвирусов (вирус Эпштейна–Барр (EBV), герпесвирусы человека 6 и 7 типов (HHV-6, HHV-7), цитомегаловирус (CMV)), уровни вирусной нагрузки, серологические маркёры герпесвирусных инфекций (ГВИ) (HHV-1- и CMV-инфекции). Иммунологические исследования включали оценку концентрации основных про- и противовоспалительных цитокинов, показателей гуморального и клеточного иммунитета.

Результаты. Установлены повышенная частота обнаружения EBV в слюне и более высокие уровни ДНК EBV в слюне при когнитивных расстройствах альцгеймеровского типа по сравнению с контрольной группой. Выявлено наличие связи между присутствием активной EBV-инфекции и изменениями иммунологических показателей у лиц с aMCI. Обнаружено, что уровень антител (АТ) IgG к CMV связан со стадией когнитивных расстройств у больных.

Обсуждение. Результаты указывают на возможную роль ГВИ, вызываемых EBV и CMV, в развитии иммунологических изменений при мягком когнитивном снижении и прогрессировании когнитивных расстройств альцгеймеровского типа.

Заключение. Полученные данные могут иметь значение для разработки методов прогнозирования течения БА, в том числе на её додементной стадии, и подходов к индивидуализированной терапии и профилактике.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; мягкое когнитивное снижение амнестического типа; воспаление; герпесвирусы; вирус Эпштейна–Барр

Для цитирования: Крынский С.А., Малашенкова И.К., Огурцов Д.П., Хайлов Н.А., Чекулаева Е.И., Шипулина О.Ю., Пономарёва Е.В., Гаврилова С.И., Дидковский Н.А., Величковский Б.М. Герпесвирусные инфекции и иммунологические нарушения при различных стадиях когнитивных расстройств альцгеймеровского типа. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(2): 129-139. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-32>

Для корреспонденции: Крынский Сергей Андреевич, канд. мед. наук, научный сотрудник, НИЦ «Курчатовский Институт», 123182, Москва, Россия. E-mail: srgkr002@gmail.com

Участие авторов: Крынский С.А. – написание текста, статистическая обработка, создание рисунков, обзор публикаций на тему статьи; Малашенкова И.К. – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста, обзор публикаций на тему статьи; Огурцов Д.П. – выполнение полимеразной цепной реакции, статистическая обработка, создание рисунков, обзор публикаций на тему статьи; Хайлов Н.А. – выполнение иммуноферментного анализа, проточной цитометрии, статистическая обработка; Чекулаева Е.И. – выполнение иммуноферментного анализа, проточной цитометрии, статистическая обработка; Шипулина О.Ю. – создание тест-системы для определения HHV-7, обработка данных; Пономарёва Е.В. – набор больных в исследование и их клиническая характеристика; Гаврилова С.И. – разработка дизайна исследования, клиническая характеристика больных; Дидковский Н.А. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи, редактирование текста; Величковский Б.М. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания НИЦ «Курчатовский Институт» на 2021 г. (Тема 1.6 «Разработка основ инновационных биомедицинских технологий диагностики и терапии ряда социально значимых заболеваний»).

Благодарности. Авторы выражают благодарность Эльвире Алексеевне Домоной и Ольге Юрьевне Сильвейстровой (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) за предоставление реактивов для определения HHV-7.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.11.2020

Принята в печать 27.03.2021

Herpesvirus infections and immunological disturbances in patients with different stages of Alzheimer's disease

Sergey A. Krynskiy¹, Irina K. Malashenkova^{1,2}, Daniil P. Ogurtsov^{1,2}, Nikita A. Khailov¹, Ekaterina I. Chekulaeva¹, Ol'ga Y. Shipulina³, Elena V. Ponomareva⁴, Svetlana I. Gavrilo⁴, Nikolay A. Didkovsky², Boris M. Velichkovsky¹

¹NRC «Kurchatov Institute», 123182, Moscow, Russia;

²FSBI «Federal Scientific and Clinical Center for Physico-Chemical Medicine of the Federal Medical and Biological Agency», 119435, Moscow, Russia;

³FSBI «Central Research Institute for Epidemiology» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 111123, Moscow, Russia;

⁴FSBSI «Mental Health Research Center», 115522, Moscow, Russia

Introduction. Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial disease that leads to a progressive memory loss, visual-spatial impairments, emotional and personality changes. As its earliest pre-dementia clinical stage, amnesic mild cognitive impairment syndrome (aMCI) is currently considered. Neuroinflammation plays a role in the development and progression of aMCI and the initial stage of AD, which can be supported by immunological disorders of a systemic character. Study of factors, including infections, influencing immune disorders and systemic inflammatory response in patients with aMCI, is of great importance.

The **aim** of this study was to obtain new data on the possible role of herpesvirus infections in the development and progression of aMCI.

Material and methods. 100 patients with aMCI diagnosis, 45 patients with AD, 40 people from the control group were enrolled into the study. The frequency of DNA detection of herpesviruses (Epstein–Barr virus (EBV), human herpesviruses (HHV) type 6 and 7, cytomegalovirus (CMV)), the levels of viral load and the serological markers of herpesvirus infections (IgG to HHV-1, IgG to CMV) were determined. Immunological studies included an assessment of the level of the main pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, and indicators of humoral and cellular immunity.

Results. The study found an increased detection rate of EBV in saliva and a higher level of EBV DNA in saliva in aMCI and AD than in the control group. A relationship between the presence of active EBV infection and changes in immunological parameters in patients with aMCI were found. It was also discovered that the level of IgG antibodies to CMV is associated with the stage of AD.

Discussion. The results indicate a possible role of EBV- and CMV-induced infections in the development of immunological changes which are typical for mild cognitive impairment and in the progression of AD.

Conclusion. The obtained data can be important for prognostic methods addressing AD development, including its pre-dementia stage, and for new approaches to individualized treatment and prevention.

Key words: *Alzheimer's disease; amnesic mild cognitive impairment; inflammation; herpesviruses; Epstein–Barr virus*

For citation: Krynskiy S.A., Malashenkova I.K., Ogurtsov D.P., Khailov N.A., Chekulaeva E.I., Shipulina O.Yu., Ponomareva E.V., Gavrilo⁴ S.I., Didkovsky N.A., Velichkovsky B.M. Herpesvirus infections and immunological disturbances in patients with different stages of Alzheimer's disease. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2021; 66(2): 129–139. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-32>

For correspondence: Krynskiy Sergey Andreevich, Ph.D. (Med.), Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Virology, NRC «Kurchatov Institute», 123182, Moscow, Russia. E-mail: srgkr002@gmail.com

Information about the authors:

Krynskiy S.A., <http://orcid.org/0000-0003-4328-865X>

Malashenkova I.K., <http://orcid.org/0000-0002-3604-9098>

Ogurtsov D.P., <http://orcid.org/0000-0003-0257-4713>

Khailov N.A., <http://orcid.org/0000-0002-3693-285X>

Chekulaeva E.I., <http://orcid.org/0000-0002-2559-2132>

Shipulina O.Yu., <http://orcid.org/0000-0003-4679-6772>

Ponomareva E.V., <http://orcid.org/0000-0002-2835-5706>

Gavrilo⁴ S.I., <http://orcid.org/0000-0001-6683-0240>

Didkovsky N.A., <http://orcid.org/0000-0001-6567-5998>

Velichkovsky B.M., <http://orcid.org/0000-0001-7823-0605>

Contribution: Krynskiy S.A. – writing of the text, statistical analysis, making the figures, reviewing of publications; Malashenkova I.K. – developing the research design, writing and editing of the text, reviewing of publications; Ogurtsov D.P. – performing of the polymerase chain reaction, statistical analysis, making the figures, reviewing of publications; Khailov N.A. – performing of the enzyme-linked immunosorbent assay, flow cytometry, statistical analysis; Chekulaeva E.I. – performing of the enzyme-linked immunosorbent assay, flow cytometry, statistical analysis; Shipulina O.Yu. – making the test system for HHV-7 detection, assistance in data analysis; Ponomareva E.V. – enrollment and the clinical characterization of the patients; Gavrilova S.I. – developing the research design, clinical characterization of the patients; Didkovsky N.A. – developing the research design, reviewing publications, editing of the text; Velichkovsky B.M. – developing the research design, reviewing publications.

Acknowledgements. This work was done as a part of the State assignment of the NRC «Kurchatov Institute», year 2021 (1.6 «Development of the basis of innovative biomedical technologies of diagnostics and therapy of socially important diseases»).

Acknowledgements. The authors thank Elvira Domonova and Ol'ga Silveistrova (FSBI «Central Research Institute for Epidemiology» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing for providing the reagents for HHV-7 detection.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 12 November 2020

Accepted 27 March 2021

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) – мультифакториальное заболевание, приводящее к прогрессирующему снижению памяти, зрительно-пространственных функций, эмоциональным и личностным изменениям. В большинстве случаев его симптомы развиваются у лиц >65 лет. Деменция при БА в настоящее время рассматривается как конечный этап длительно прогрессирующего нейродегенеративного поражения мозга; эффективные методы лечения при этом отсутствуют. Доклиническая стадия может длиться до 25 лет и характеризуется ускоренной по сравнению с возрастной нормой гибелью нейронов. Признаки БА начинают проявляться после утраты 75–85% их общего количества. Примерно у половины больных до начала деменции развивается синдром мягкого когнитивного снижения (amnesic mild cognitive impairment, аМСІ) амнестического типа. В этих случаях сохраняются бытовая независимость и способность выполнять профессиональные функции, однако сам пациент и/или его близкие отмечают ухудшение когнитивного статуса, подтверждаемое при нейропсихологическом обследовании. При аМСІ риск развития деменции составляет 10–15% на протяжении 1 года [1]. С учётом этих данных весьма актуален поиск путей её профилактики у таких лиц: терапия, которая позволила бы отложить развитие БА на 5-летний срок, может привести к уменьшению числа страдающих деменцией на 2,5 млн человек только в США [2]. Кроме того, большое значение имеет разработка методов прогноза когнитивных расстройств, лежащих в основе аМСІ. В связи с этим широко изучается патогенез данного синдрома с акцентом на установление экзо- и эндогенных воздействий, влияющих на его прогрессирование [2].

Ранее нами и другими авторами была обнаружена связь уровней маркёров системного воспаления и активации гуморального иммунитета с тяжестью когнитивных изменений альцгеймеровского типа и риском прогрессирования аМСІ [3–5]. Представляется важным исследование факторов, обуславливающих иммунологические нарушения и системный воспалительный ответ у таких больных. Существует гипотеза, что в развитии и поддержании воспалительной реакции

в латентном периоде нейродегенеративных заболеваний существенную роль могут играть инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, в том числе герпесвирусами [6–11]. Представители этой группы, включая вирус простого герпеса 1 типа (HSV-1, или HHV-1), герпесвирус человека 6 типа (HHV-6), вирус Эпштейна–Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV), обладают тропизмом к нервной ткани и способны проникать в головной мозг. В отдельных работах показано, что они с повышенной частотой обнаруживаются в мозговых тканях больных БА [12, 13]. Даже латентное присутствие указанных инфекционных агентов активирует клетки микроглии (макрофаги, или иммунные клетки мозга), которые за счёт секреции провоспалительных цитокинов и других медиаторов вызывают окислительный стресс, повреждение и воспалительную реакцию [14–16]. В то же время до сих пор не проводились сравнительные исследования частоты выявления герпесвирусов и уровней вирусной нагрузки в слюне при БА различной тяжести и аМСІ. Практически не изучалась и возможная взаимосвязь ГВИ с клиническим течением когнитивных расстройств альцгеймеровского типа.

Целью настоящей работы было получение новых сведений о возможной роли герпесвирусов в развитии и прогрессировании указанных нарушений когнитивного характера. В число задач исследования входило изучение маркёров ГВИ в группах больных аМСІ и БА, связи данных вирусных поражений как с характером и выраженностью иммунологических изменений, так и со стадией заболевания. Для этого определяли частоту выявления ДНК герпесвирусов (EBV, CMV, герпесвирусы человека 6 и 7 типов (HHV-6, HHV-7)), уровни вирусной нагрузки, серологические маркёры ГВИ (HHV-1- и CMV-инфекций). Иммунологические исследования включали оценку содержания основных про- и противовоспалительных цитокинов, показателей гуморального и клеточного иммунитета.

Материал и методы

В исследование вошли 100 пациентов с диагнозом аМСІ (54–84 года, средний возраст $72,6 \pm 4,6$ лет),

45 больных с БА (64–86 лет, средний возраст $74,3 \pm 5,7$ лет; из них 17 с начальной, 12 с умеренной и 16 – с тяжёлой стадией деменции). Также обследованы 40 человек контрольной группы без когнитивных расстройств, сопоставимые по возрасту и полу с основной группой. Критериями включения были способность пациента подписать и датировать форму информированного согласия либо присутствие законного представителя пациента, уполномоченного выполнить указанные действия; возраст ≥ 40 лет; диагноз БА в соответствии с критериями NINCDS/ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) и количество баллов по шкале минимальной оценки психического статуса (Mini-Mental State Examination, MMSE) ≤ 26 либо диагноз aMCI соответственно операциональным критериям MCI в сочетании с оценкой по шкале MMSE ≥ 27 баллов; оценка по шкале Хачински ≤ 4 ; оценка по гериатрической шкале депрессии ≤ 10 . У пациентов отсутствовали острые инфекционные заболевания, острые воспалительные процессы в полости рта и повреждения её слизистой оболочки. Участники и их родственники были предварительно ознакомлены с исследовательским протоколом и подписали форму добровольного информированного согласия. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр психического здоровья». Всем включённым в протокол проводились общеклиническое обследование, оценка когнитивных функций с использованием нейропсихологических шкал, забор слюны и крови.

Для определения в сыворотке крови пациентов концентраций цитокинов (интерлейкины IL-1 β , -8, -10, фактор некроза опухоли α – TNF- α) (ООО «Цитокин», Россия), маркера острой фазы С-реактивного белка (ООО «Хема», Россия), циркулирующих иммунных комплексов (ООО «Хема»), общего иммуноглобулина G (IgG) (ООО «Хема»), антител (АТ) класса IgG к HHV-1 («Bender MedSystems», Австрия) и CMV («RADIM», Италия) использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА). С целью изучения показателей клеточного иммунитета применяли методику проточной многоцветной цитометрии (моноклональные АТ для иммунофенотипирования («Becton Dickinson», США) к антигенам дифференцировки CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, HLA-DR).

Выявление и количественное определение ДНК лимфотропных вирусов герпетической группы – HHV-6, HHV-7, EBV, CMV – осуществляли посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Использовали комплект реагентов для экстракции нуклеиновых кислот из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия), гемолитик («АмплиСенс»), набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК EBV, CMV и HHV-6 в клиническом материале «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» («АмплиСенс»), а также аналогичный набор

реагентов для детекции/количественного определения указанной методикой ДНК HHV-7 «АмплиСенс HHV7-скрин/монитор-FL» («АмплиСенс»). Данные комплекты реагентов разработаны в ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора по ТУ 9398-095-01897593-2012 и имеют регистрационное удостоверение (РУ) на медицинское изделие от 18.10.2019 № ФСР 2010/09502.

В ходе эксперимента выполнялись два этапа: амплификация участков вирусной ДНК и гибридационно-флуоресцентная детекция, производившаяся непосредственно в ходе ПЦР. С полученными ДНК-пробами проводилась реакция амплификации фрагмента нуклеиновой кислоты возбудителя при помощи специфичных к данному участку её молекулы праймеров и фермента *Taq*-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствовали флуоресцентно-меченные олигонуклеотидные зонды, которые гибридизовались с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего интенсивность флуоресценции нарастала. При экстракции ДНК из содержащего клетки клинического материала происходила амплификация участка генома человека (фрагмент β -глобинового гена (ВКО Glob) – эндогенный внутренний контрольный образец), что позволило контролировать этапы ПЦР-исследования (экстракцию ДНК и проведение ПЦР) с оценкой адекватности взятия материала и его хранения. Полученные данные (кривые накопления флуоресцентного сигнала) анализировались с помощью программного обеспечения используемого прибора Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия). Результат амплификации по каналу считался положительным, если кривая флуоресценции имела типичный для ПЦР в режиме реального времени S-образный вид и однократно пересекалась с пороговой линией в области достоверного прироста флуоресценции. На основании известных значений содержания ДНК в стандартных образцах (калибраторах) программным обеспечением прибора выполнялся автоматический расчёт концентрации ДНК вирусов в исследуемых пробах на единицу объёма и/или на заданное количество клеток.

В соответствии с методическими рекомендациями производителя к используемым наборам реагентов расчёт концентрации ДНК на 1 мл образца слюны (КПДНК) осуществлялся по формуле:

$$\text{КПДНК} = \text{КДНК} \times 100 \text{ (копий/мл)}, \quad (1)$$

где КДНК – количество копий нуклеиновой кислоты вируса в пробе ДНК.

Образцы слюны пациентов забирались согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанным в ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Перед получением биоматериала проводили 3-кратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну забирали в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые

стерильные пластиковые пробирки, которые плотно закрывали крышкой.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных пакетов прикладных программ Excel (Microsoft 2010) и STATISTICA 10 (StatSoft 2010). Размер выборки определяли на основании статистической мощности, достаточной для получения достоверных межгрупповых различий. Средние значения количественных показателей по группам представляли как $M \pm 95\%$ доверительный интервал. Проверку распределения на нормальность осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилкса. В случаях, когда распределение достоверно отличалось от нормального, выполняли логарифмическую трансформацию данных. Достоверность различий количественных показателей между группами определяли посредством Т-критерия Стьюдента; корреляции оценивали при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s). Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Частота выявления герпесвирусов у пациентов с когнитивными расстройствами альцгеймеровского типа

В результате количественного определения генетического материала герпесвирусов в слюне пациентов обнаружено, что частота обнаружения и уровни ДНК EBV у пациентов с аМСИ и с БА в стадии деменции достоверно превышают эти показатели для контрольной группы (рис. 1, 2). Так, средний уровень ДНК

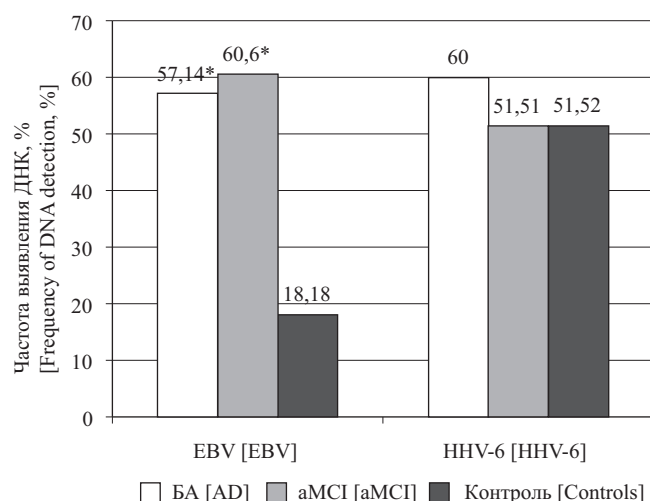


Рис. 1. Частота выявления ДНК вируса Эпштейна–Барр и герпесвируса человека 6 типа в слюне при болезни Альцгеймера (БА) ($n = 45$), мягком когнитивном снижении амнестического типа (aMCI) ($n = 100$) и в контрольной группе ($n = 40$).

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем.

Fig. 1. The frequency of detection of Epstein–Barr virus and of human herpesvirus type 6 in the saliva of the patients with Alzheimer's disease ($n = 45$), amnesic mild cognitive impairment (aMCI) ($n = 100$) and in the control group ($n = 40$).

Note. * – significant differences with the control group.

EBV при когнитивных расстройствах альцгеймеровского типа был выше по сравнению с группой контроля более чем на порядок. В то же время межгрупповая частота выявления в слюне нуклеиновых кислот других герпесвирусов (HHV-6, HHV-7 и CMV) достоверно не различалась; не выявлено отличий и по среднему значению содержания ДНК этих инфекционных агентов в слюне (рис. 2).

Взаимосвязь между EBV-инфекцией с высокой вирусной нагрузкой и иммунологическими показателями при мягком когнитивном снижении амнестического типа

В ходе предыдущих исследований нами обнаружена иммунологическая неоднородность синдрома аМСИ и охарактеризованы его иммунологические варианты (таблица). Выявлено неблагоприятное прогностическое значение роста содержания медиаторов системного воспаления с сопутствующим снижением общего IgG [17]. С учётом этих данных, а также повышенной частоты обнаружения EBV при аМСИ, проанализирована связь между EBV-инфекцией с высокой вирусной нагрузкой и иммунологическими расстройствами у пациентов. В качестве критерия использовался (принимая во внимание предыдущие данные авторов) уровень ДНК вируса $>10\,000$ копий/мл в слюне и/или >500 копий/ 10^6 клеток в крови [18].

Результаты показали, что связь EBV-инфекции с параметрами иммунитета была различной в зависимости от иммунологического варианта рассматриваемого

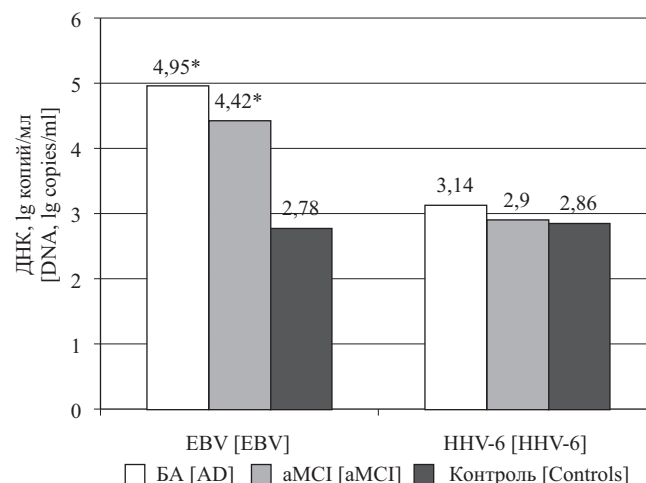


Рис. 2. Средняя концентрация ДНК вируса Эпштейна–Барр и герпесвируса человека 6 типа при болезни Альцгеймера (БА), мягком когнитивном снижении амнестического типа (aMCI) и среди добровольцев контрольной группы с обнаруженной в слюне ДНК соответствующих вирусов.

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем.

Fig. 2. The mean concentration of the DNA of Epstein–Barr virus and of human herpesvirus type 6 in the saliva of the patients with Alzheimer's disease, amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and of the volunteers of the control group that had the DNA of these viruses in the saliva.

Note. * – significant differences with the control group.

Показатели иммунного статуса в зависимости от наличия системного воспаления и уровня IgG у больных аМСИ
The immunity parameters depending on the presence of systemic inflammation and on IgG levels in the patients with aMCI

Показатель Parameter	Наличие признаков системного воспаления Systemic inflammation		Отсутствие признаков системного воспаления No systemic inflammation		Контроль Controls
	IgG >10 г/л IgG >10 g/l	IgG <10 г/л IgG <10 g/l	IgG >10 г/л IgG >10 g/l	IgG <10 г/л IgG <10 g/l	
IgG, г/л IgG, g/l	14,2 ± 0,9	9,0 ± 0,3*	13,1 ± 0,9	9,1 ± 0,5*	12,1 ± 1,4
ЦИК, у.е. CIC, units	116,8 ± 17,7*	115,2 ± 24,9	87,3 ± 16,3	67,6 ± 11,6	79,3 ± 16,5
CD45+CD3+CD4+, %	49,7 ± 2,3*	42,6 ± 2,5	49,2 ± 5,5	35,3 ± 5,9	42,3 ± 2,6
CD45+CD3+CD8+, %	24,2 ± 2,5	22,6 ± 2,8	24,9 ± 4,5	27,4 ± 3,5	26,5 ± 2,4
CD3+CD4+CD25+, %	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,3	2,5 ± 0,1*	1,4 ± 0,3	1,8 ± 0,3
CD3–CD16+CD56+, %	15,1 ± 2,8	13,9 ± 3,7	14,7 ± 7,8	16,4 ± 5,6	13,6 ± 1,6
CD3+CD16+CD56+ TNK, %	10,7 ± 2,8*	11,0 ± 3,3*	5,8 ± 1,6	7,0 ± 2,3	4,8 ± 1,0
HLA-DR+CD3–, %	13,4 ± 1,7	11,2 ± 1,3	9,7 ± 0,9*	17,3 ± 1,4*	12,2 ± 1,3
HLA-DR+CD3+, %	3,42 ± 0,7	5,5 ± 1,6	2,7 ± 0,4	4,8 ± 2,1	2,8 ± 0,6
CD19+, %	10,21 ± 1,7	7,9 ± 0,9	8,2 ± 1,0	11,5 ± 1,5*	7,9 ± 0,8
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	6,3 ± 2,1	19,4 ± 6,7*	6,6 ± 3,2	21,1 ± 16,3	5,8 ± 0,7
IL-1β, пг/мл IL-1β, pg/ml	13,8 ± 4,9*	14,0 ± 2,7*	5,2 ± 4,5*	17,6 ± 7,7*	3,4 ± 1,2
TNF-α, пг/мл TNF-α, pg/ml	2,2 ± 0,5*	3,1 ± 1,0*	3,4 ± 2,0	2,1 ± 1,3	1,3 ± 0,3
C-реактивный белок, мг/л C-reactive protein, mg/l	15,2 ± 5,5*	9,8 ± 3,4*	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,1

Примечание. * – достоверные ($p < 0,05$) различия с контрольной группой.

Note. * – significant ($p < 0.05$) differences with the control group.

синдрома. В частности, у больных аМСИ с системным воспалением (повышение содержания С-реактивного белка >5 мг/л в сочетании с увеличением концентрации ≥ 2 провоспалительных цитокинов: IL-1β, IL-8, TNF-α) и уровнем общего IgG >10 г/л (29 больных из 100) активная EBV-инфекция (8 человек из 29) ассоциировалась со сниженным количеством CD3–CD16+CD56+ NK-клеток ($8,27 \pm 1,96\%$, в контрольной группе – $17,9 \pm 5,62\%$; $p < 0,05$). В то же время среди этих пациентов имела место тенденция к росту уровня CD3+CD8+ Т-клеток (Т-цитотоксические лимфоциты) до $28,07 \pm 2,24\%$ (при отсутствии активной инфекции указанным агентом – $22,17 \pm 1,7\%$, контроль – $26,5 \pm 2,4\%$), а также повышалось по сравнению с контролем количество CD3+CD16+CD56+ TNK-клеток ($p < 0,05$) (рис. 3). Выявленные изменения могли быть связаны с ответом на инфицирование вирусом, при этом отмечалось преобладание активации приобретённых механизмов противовирусного ответа с некоторыми признаками снижения активации врождённых путей. Эти проявления возможного дисбаланса противовирусного ответа требуют дальнейшего изучения.

В подгруппе пациентов с аМСИ, имевших признаки системного воспалительного ответа и показатель IgG <10 г/л (37 участников из 100), активная EBV-инфекция (14 больных из 37) была ассоциирована со снижением содержания CD3+CD8+ Т-цитотоксических клеток до $16,07 \pm 2,47\%$ (норма $26,5 \pm 2,4\%$; $p < 0,05$) при повышенном уровне NK-клеток и нормальном – TNK-клеток (рис. 4). Это означает, что у данной категории преобладало действие врождённых механизмов противовирус-

ного иммунитета без выраженных признаков активации адаптивных путей противовирусной защиты.

Таким образом, среди страдающих аМСИ (66 из 100) с признаками системного воспаления EBV-инфекция с высокой вирусной нагрузкой сопровождалась дисбалансом активации клеточных иммунных реакций. Не исключено, что инфицирование этим возбудителем может служить одним из факторов, поддерживающих прогностически неблагоприятные иммунологические нарушения у больных.

У пациентов с аМСИ без выраженных признаков системного воспаления (34 больных из 100) активная EBV-инфекция (15 больных из 34) ассоциировалась с повышением уровня одного из важнейших провоспалительных цитокинов – TNF-α выше контрольных значений, при этом связи с концентрацией других изучавшихся цитокинов и выраженностью показателей иммунитета не выявлено (рис. 5). Отсутствие комплекса проявлений системного воспалительного ответа в данной подгруппе независимо от уровня герпесвирусной нагрузки в слюне требует изучения возможных генетических факторов, хронических бактериальных инфекций и иных причин, способных влиять на выраженность реакций системного воспаления.

В целом с учётом иммуносупрессорных свойств EBV и его способности активировать транскрипционный фактор NF-κB, индуцируя системную воспалительную реакцию, результаты указывают на возможную связь EBV-инфекции с развитием иммунологических нарушений у больных с аМСИ.

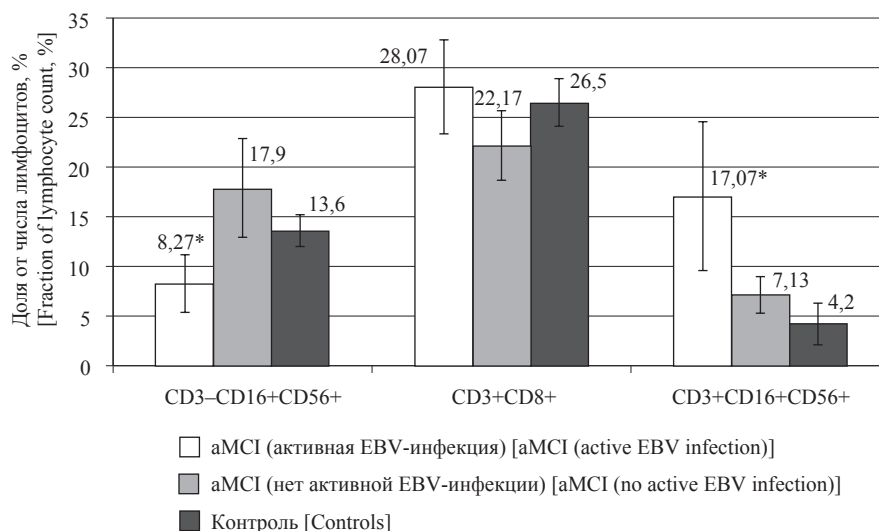


Рис. 3. Содержание CD3-CD16+CD56+ НК-клеток, CD3+CD16+CD56+ TNK-клеток и CD3+CD8+ цитотоксических Т-клеток в зависимости от наличия EBV-инфекции с высокой вирусной нагрузкой у пациентов с аМЦИ, имевших признаки системного воспаления и уровень IgG >10,0 г/л.

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем.

Fig. 3. The levels of CD3-CD16+CD56+ NK-cells, CD3+CD16+CD56+ TNK-cells and CD3+CD8+ cytotoxic T-cells depending on the presence of the EBV infection with high viral load in the patients with aMCI that had systemic inflammation and IgG levels >10.0 g/l.

Note. * – significant differences with the control group.

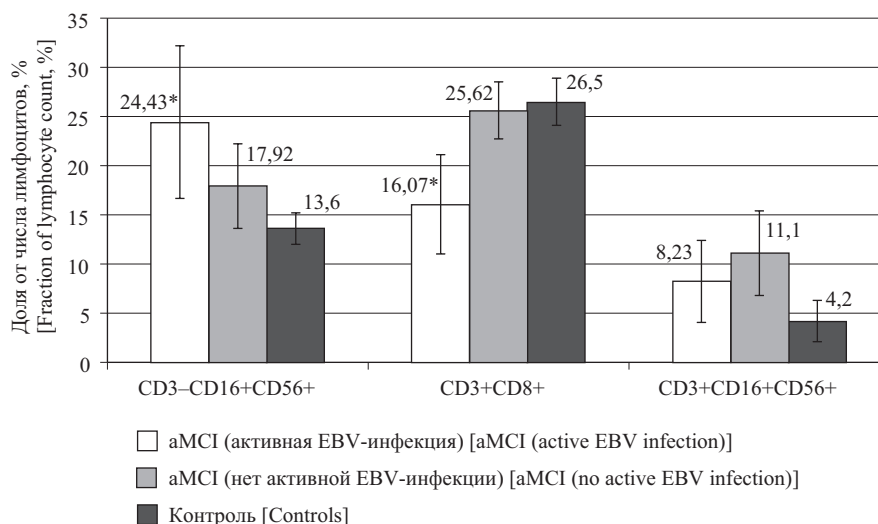


Рис. 4. Содержание CD3-CD16+CD56+ НК-клеток, CD3+CD16+CD56+ TNK-клеток и CD3+CD8+ цитотоксических Т-клеток в зависимости от наличия EBV-инфекции с высокой вирусной нагрузкой у пациентов с аМЦИ, имевших признаки системного воспаления и уровень IgG <10,0 г/л.

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем.

Fig. 4. The levels of CD3-CD16+CD56+ NK-cells, CD3+CD16+CD56+ TNK-cells and CD3+CD8+ cytotoxic T-cells depending on the presence of the EBV infection with high viral load in the patients with aMCI that had systemic inflammation and IgG levels <10.0 g/l.

Note. * – significant differences with the control group.

Серологические маркеры вирусных инфекций при различных стадиях когнитивных расстройств альцгеймеровского типа

В ходе исследования уровня серологических маркеров вирусных инфекций при аМЦИ и БА выявлено, что уровень IgG к CMV был значимо выше у больных

БА на стадии мягкой деменции, чем в контрольной группе. При умеренной её выраженности отмечалась лишь тенденция к росту этого показателя, не достигшая достоверности. В случаях же тяжёлой деменции значимых изменений содержания анти-CMV IgG не было (**рис. 6**). С учётом литературных данных

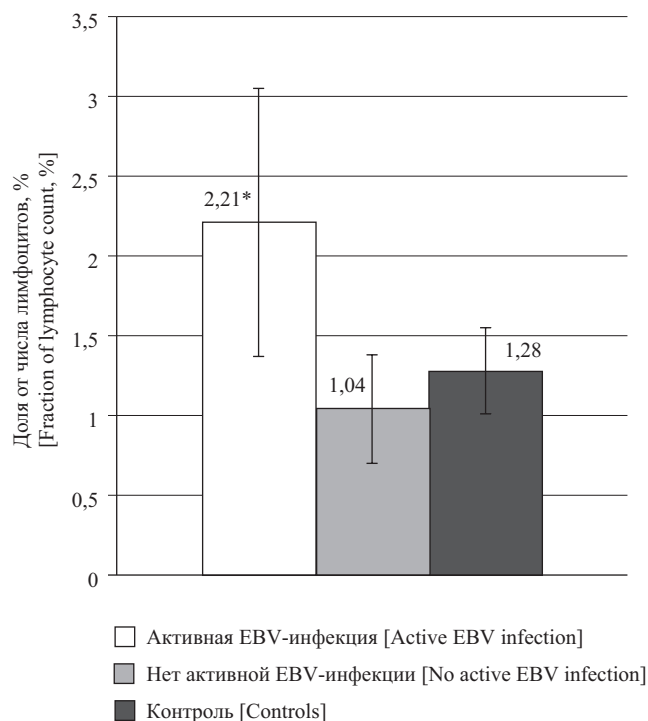


Рис. 5. Уровень фактора некроза опухоли α (TNF- α) у пациентов с аМЦИ, не имевших комплекса признаков системного воспаления.

Примечание. * – достоверные различия между группами.

Fig. 5. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF α) in the patients with aMCI without the signs of systemic inflammation depending on the presence of the EBV infection with high viral load.

Note. * – significant differences between the groups.

о неблагоприятном влиянии CMV на процессы старения и нейродегенерацию полученные результаты могут указывать на особую роль CMV-инфекции на этапе перехода от мягкого когнитивного снижения к собственно дементному состоянию.

В то же время значимого изменения уровня антител IgG к HSV при аМЦИ и БА не обнаружено, несмотря на то что имела место тенденция к увеличению данного показателя при БА на всех стадиях деменции.

Таким образом, в данном исследовании установлены повышенная частота обнаружения EBV в слюне и более высокий уровень ДНК этого вируса в слюне при когнитивных нарушениях альцгеймеровского типа по сравнению с контрольной группой. Выявлена связь между наличием активной EBV-инфекции и изменениями иммунологических показателей у имеющих аМЦИ. Кроме того, обнаружено, что уровень IgG к CMV связан со стадией когнитивных расстройств альцгеймеровского типа.

Обсуждение

Полученные результаты указывают на возможную роль ГВИ, вызываемых EBV и CMV, в развитии иммунологических изменений при мягком когнитивном снижении и в прогрессировании когнитивных расстройств альцгеймеровского типа.

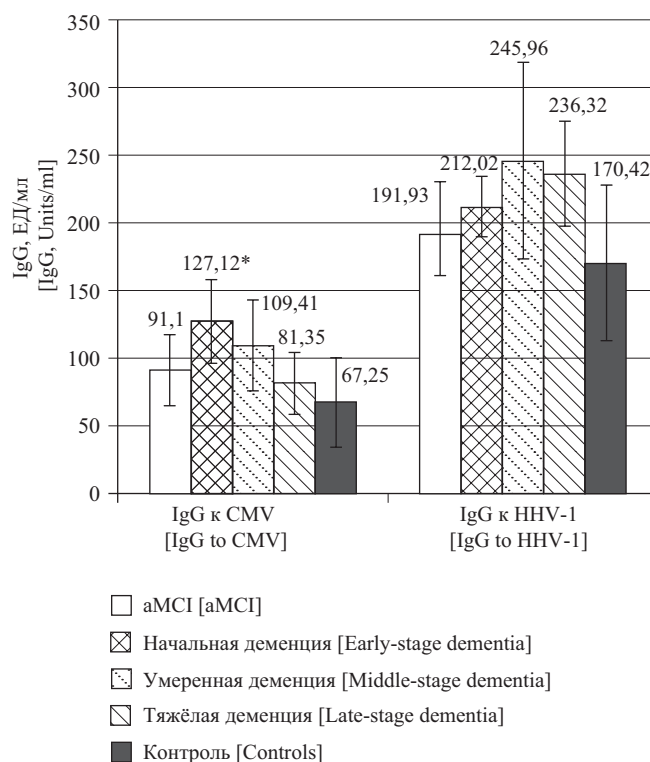


Рис. 6. Уровень IgG к цитомегаловирусу (CMV) и к вирусу простого герпеса 1 типа (HHV-1) у пациентов с аМЦИ и болезнью Альцгеймера на различных стадиях деменции.

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем.

Fig. 6. The levels of immunoglobulin G to cytomegalovirus (CMV) and to herpes simplex virus type 1 (HHV-1) in the patients with aMCI and with Alzheimer's disease of different stages of dementia.

Note. * – significant differences with the control group.

В порядке оценки значимости выявленных различий частоты обнаружения ДНК EBV у больных БА по сравнению с таковой в группе контроля необходимо отметить, что несмотря на практически 100%-ную инфицированность EBV среди взрослых, количество выделяемой со слюной нуклеиновой кислоты вируса может быть недостаточным для детекции набором «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL», аналитическая чувствительность которого при исследовании этих биологических образцов составляет 400 копий ДНК/мл. Таким образом, различия в частоте выявления ДНК данного патогена в слюне могли быть обусловлены наличием её уровней, не достигающих минимального порога определения у части обследованных.

Влияние вирусных инфекций на развитие когнитивных расстройств альцгеймеровского типа изучается достаточно давно, однако большая часть имеющихся данных относится к вирусу простого герпеса 1 типа (HHV-1). Доказательства связи вызванной им инфекции с БА исследуются на протяжении примерно 30 лет. Отмечено, что при герпесвирусном энцефалите, вызываемом HHV-1, поражаются те же области мозга, что и при БА [19]. Позже установлено, что

при большой длительности инфекции возбудитель способен проходить через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и с вероятностью более 50% выявляется при аутопсийном исследовании мозга лиц >45 лет [20]. При этом инфекционный агент обнаруживается главным образом в височных и лобных долях (наиболее поражаемых при БА) [21]; именно эти области вовлекаются в процесс и при остром герпесвирусном энцефалите. Кроме того, АТ к HHV-1 находят в ликворе большинства пожилых людей – как здоровых, так и страдающих БА. В тканях же мозга более молодых лиц и детей вирус и АТ к нему, как правило, не выявляются. Вероятно, возможность проникновения HHV-1 через ГЭБ определяется эффективностью иммунного ответа индивидуума [20]. С использованием ПЦР *in situ* и ИФА с окраской на β -амилоид показано, что 90% амилоидных бляшек у больных БА и 80% у здоровых содержат ДНК HHV-1. При этом в группе больных БА в бляшках локализуется 72% всей обнаруживаемой в мозге нуклеиновой кислоты вируса, а среди здоровых того же возраста – 24% [22]. Подобные данные свидетельствуют о вероятном участии HHV-1 в образовании амилоидных бляшек и нейрональном повреждении при рассматриваемой нозологической форме.

В экспериментах отмечена связь активности инфекции HHV-1 и риска развития БА. Так, у лиц с аМСИ зарегистрировано повышение уровня авидности АТ IgG к этому возбудителю по сравнению со здоровыми добровольцами и страдающими БА. Наличие указанного феномена у инфицированных служит маркером реактивации HHV-1-инфекции. Таким образом, описанный механизм может выступать патогенетическим фактором на ранних этапах развития заболевания [23]. По данным других авторов, наблюдавших в течение 12 лет за 512 пожилыми добровольцами с нормальными на момент начала исследования когнитивными функциями, среди заболевших БА (77 человек) чаще отмечалась серопозитивность по АТ IgM к HHV-1 (отношение шансов, ОШ = 2,55), что может указывать на патогенетическую роль как первичной HHV-1-инфекции, так и возможной её реактивации [7].

Работ, изучающих значение других герпесвирусов в качестве факторов риска при БА, значительно меньше, чем для HHV-1. Однако относительно EBV, CMV и HHV-6 получены некоторые сведения, которые могут свидетельствовать о такой роли. Показано, что ДНК HHV-6 достоверно чаще обнаруживается в мозге имевших БА, чем у здоровых. Более чем в половине случаев в мозговых тканях больных удаётся выявить как HHV-6, так и HHV-1. Однако данных о взаимосвязи между наличием аллеля *ApoEε4* (наиболее значимый генетический фактор риска спорадической БА) и частотой обнаружения в мозге больных генетического материала HHV-6 к настоящему времени нет. В одной из работ АТ к этому вирусу были детектированы в спинномозговой жидкости у 22% имеющих БА, но не выявлялись в контрольной группе [20]. Большой интерес представляют результаты, согласно

которым при БА повышена вероятность обнаружения ДНК EBV и HHV-6 в ядрах лейкоцитов крови [6]. Кроме того, в когортном исследовании, продолжавшемся 5 лет и включавшем 164 пожилых добровольцев с изначально нормальными когнитивными функциями, вероятность нахождения нуклеиновой кислоты EBV и/или HHV-6 в лейкоцитарных ядрах при начале исследования была значимо выше среди участников, у которых на протяжении 5-летнего периода развилась БА. С повышенным риском заболевания в этой работе ассоциировалась и серопозитивность в отношении IgG, специфичных к EBV либо к HHV-6 [6].

Существуют определённые свидетельства возможного значения CMV в патогенезе БА. Так, повышение уровня в плазме крови неоптерина (продукта катаболизма гуанозинтрифосфата), синтезирующегося макрофагами в качестве антимикробного агента, является неспецифическим маркером активной вирусной инфекции. В нескольких исследованиях показано, что неоптерин может служить индикатором острой CMV-инфекции. У больных с БА содержание этого вещества коррелирует с уровнем АТ IgM к CMV и степенью когнитивного снижения, что косвенно свидетельствует о роли последнего в прогрессировании БА [8]. Имеются также сведения, что при БА выявляется ассоциация между обнаружением АТ IgG к CMV и IgG к HHV-1. Надо отметить, что среди CMV-позитивных лиц с рассматриваемой патологией вероятность выявления анти-HHV-1 IgG повышена в отличие от контрольной группы [24]. Эти данные указывают на то, что в патогенезе БА может играть роль ассоциация герпесвирусов CMV и HHV-1. Следует подчеркнуть, что в обсуждаемой работе [24] различий между группами исследования и контроля по уровню АТ к CMV обнаружено не было, что не соответствует полученным нами результатам. Противоречие может быть обусловлено тем обстоятельством, что авторами не проводилось разделение участников в зависимости от стадии деменции [24]. Так, по нашим данным, несмотря на повышение при начальных её проявлениях, у больных с тяжёлой деменцией наблюдалась тенденция к снижению уровня IgG к CMV, что могло быть связано с более низким общим уровнем продукции IgG у данной категории пациентов [3]. Отсутствие же согласно итогам нашей работы различий по уровню IgG к HHV-1 на разных стадиях когнитивных расстройств не противоречит литературным данным, в соответствии с которыми развитие БА сопровождается ростом содержания IgM к этому возбудителю. Указанный факт подтверждает значение острой HHV-1-инфекции либо её обострений в патогенезе болезни [7].

Заключение

Анализ данных литературы свидетельствует о наличии доказательств связи инфицирования ЦНС HHV-1 с прогрессированием БА и негативного влияния активной HHV-1-инфекции на вероятность её развития. Значительно меньше изучена связь EBV, CMV, HHV-6 и HHV-7 с риском этого заболевания. Кроме того,

крайне недостаточно изучено по литературным данным влияние ГВИ на показатели системного иммунитета при когнитивных расстройствах альцгеймеровского типа, хотя известно об иммунотропных эффектах герпесвирусов, а также об изменениях иммунологических параметров на фоне аМСИ и БА.

Нами впервые получены данные о повышенной частоте выявления EBV в слюне и более высоких уровнях ДНК этого возбудителя в слюне при аМСИ и БА, а также о связи EBV-инфекции с выраженностью и характером расстройств системы иммунитета при различных (в том числе ассоциированных с повышенным риском прогрессирования когнитивных нарушений) иммунологических вариантах синдрома аМСИ. Выявлено повышение концентрации IgG к CMV при БА в стадии мягкой деменции. Результаты указывают на возможную роль ГВИ, вызываемых EBV и CMV, в развитии иммунологических изменений при мягком когнитивном снижении и прогрессировании когнитивных расстройств альцгеймеровского типа. Полученные данные могут быть важны для разработки методов прогнозирования течения БА, в том числе на её додементной стадии, и подходов к индивидуализированному лечению и профилактике.

ЛИТЕРАТУРА

- Manly J.J., Tang M., Schupf N., Stern Y., Vonsattel J.G., Mayeux R. Frequency and course of mild cognitive impairment in a multiethnic community. *Ann. Neurol.* 2008; 63(4): 494–506. <https://doi.org/10.1002/ana.21326>.
- Alzheimer's Disease International. *World Alzheimer Report 2018. The State of the Art of Dementia Research: New Frontiers*. London: Alzheimer's Disease International (ADI); 2018. Available at: <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf> (accessed March 22, 2021).
- Малашенкова И.К., Крынский С.А., Хайлов Н.А., Огурцов Д.П., Пономарёва Е.В., Гаврилова С.И., и др. Адаптивный иммунитет, системное воспаление и уровень основных цитокинов у пациентов с болезнью Альцгеймера различных стадий и мягким когнитивным снижением амнестического типа. *Аллергология и иммунология*. 2018; 19(4): 206–14.
- Малашенкова И.К., Крынский С.А., Хайлов Н.А., Огурцов Д.П., Селезнева Н.Д., Фёдорова Я.Б., и др. Противовоспалительные эффекты нейротрофической терапии (применение церебролизина при мягком когнитивном снижении). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018; 118(5): 39–44. <https://doi.org/10.17116/jnevro20181185139>.
- Симонов А.Н., Клоушник Т.П., Андросова Л.В., Михайлова Н.М. Использование кластерного анализа и логистической регрессии для оценки риска болезни Альцгеймера у пациентов с синдромом мягкого когнитивного снижения амнестического типа. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018; 118(12): 40–3. <https://doi.org/10.17116/jnevro201811812140>.
- Carbone I., Lazzarotto T., Ianni M., Porcellini E., Forti P., Masliah E., et al. Herpes virus in Alzheimer's disease: relation to progression of the disease. *Neurobiol. Aging*. 2014; 35(1): 122–9. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.024>.
- Letenneur L., Pérès K., Fleury H., Garrigue I., Barberger-Gateau P., Helmer C., et al. Seropositivity to herpes simplex virus antibodies and risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *PLoS One*. 2008; 3(11): e3637. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003637>.
- Blasko I., Knaus G., Weiss E., Kemmler G., Winkler C., Falkensammer G., et al. Cognitive deterioration in Alzheimer's disease is accompanied by increase of plasma neopterin. *J. Psychiatr. Res.* 2007; 41(8): 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.02.001>.
- Stein P.S., Steffen M.J., Smith C., Jicha G., Ebersole J.L., Dolph D. Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012; 8(3): 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.04.006>.
- Kamer A.R., Craiga R.G., Pirraglia E., Dasanayake A.P., Norman R.G., Boylan R.J., et al. TNF- α and antibodies to periodontal bacteria discriminate between Alzheimer's disease patients and normal subjects. *J. Neuroimmunol.* 2009; 216(1–2): 92–7. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.08.013>.
- Didkovskii N.A., Malashenkova I.K., Tanasova A.N., Zuikov I.A., Zuikova I.N., Khitrik N.M., et al. Pathogenetic aspects of severe course of herpetic infection. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007; 2(76): 76–81. <https://doi.org/10.1007/s10517-007-0349-7>.
- Hemling N., Røytta M., Rinne J., Pöllänen P., Broberg E., Tapio V., et al. Herpesviruses in brains in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Ann. Neurol.* 2003; 54(2): 267–71. <https://doi.org/10.1002/ana.10662>.
- Lin W.R., Wozniak M.A., Cooper R.J., Wilcock G.K., Itzhaki R.F. Herpesviruses in brain and Alzheimer's disease. *J. Pathol.* 2002; 197(3): 395–402. <https://doi.org/10.1002/path.1127>.
- Zilka N., Kazmerova Z., Jadhav S., Neradil P., Madari A., Obetkova D., et al. Who fans the flames of Alzheimer's disease brains? Misfolded tau on the crossroad of neurodegenerative and inflammatory pathways. *J. Neuroinflammation*. 2012; 9: 47. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-47>.
- Kuhla A., Ludwig S.C., Kuhla B., Münch G., Vollmar B. Advanced glycation end products are mitogenic signals and trigger cell cycle reentry of neurons in Alzheimer's disease brain. *Neurobiol. Aging*. 2015; 36(2): 753–61. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.09.025>.
- Doens D., Fernández P.L. Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis. *J. Neuroinflammation*. 2014; 11: 48. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-48>.
- Крынский С.А., Малашенкова И.К., Хайлов Н.А., Огурцов Д.П., Чекулаева Е.И., Пономарёва Е.В., и др. Иммунологические маркеры долгосрочных эффектов терапии у пациентов с синдромом мягкого когнитивного снижения. *Медицинский академический журнал*. 2019; 19(S1): 84–6.
- Дидковский Н.А., Огурцов Д.П., Крынский С.А., Гурская О.Г., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А., и др. Миалгический энцефаломиелит/синдром хронической усталости: уровень репликации лимфотропных герпетических вирусов и иммунная защита. *Поликлиника*. 2016; (5): 46–50.
- Denaro F.J., Staub P., Colmer J., Freed D.M. Coexistence of Alzheimer disease neuropathology with herpes simplex encephalitis. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-Grand)*. 2003; 49(8): 1233–40.
- Wozniak M.A., Shipley S.J., Combrinck M., Wilcock G.K., Itzhaki R.F. Productive herpes simplex virus in brain of elderly normal subjects and Alzheimer's disease patients. *J. Med. Virol.* 2005; 75(2): 300–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20271>.
- Jamieson G.A., Maitland N.J., Wilcock G.K., Yates C.M., Itzhaki R.F. Herpes simplex virus type 1 DNA is present in specific regions of brain from aged people with and without senile dementia of the Alzheimer type. *J. Pathol.* 1992; 167(4): 365–8. <https://doi.org/10.1002/path.1711670403>.
- Honjo K., van Reekum R., Verhoeff N. Alzheimer's disease and infection: Do infectious agents contribute to progression of Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement.* 2009; 5(4): 348–60. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2008.12.001>.
- Kobayashi N., Nagata T., Shinagawa S., Oka N., Shimada K., Shimizu A., et al. Increase in the IgG avidity index due to herpes simplex virus type 1 reactivation and its relationship with cognitive function in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 430(3): 907–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.054>.
- Lövheim H., Olsson J., Weidung B., Johansson A., Eriksson S., Hallmans G., et al. Interaction between cytomegalovirus and herpes simplex virus type 1 associated with the risk of Alzheimer's disease development. *J. Alzheimers Dis.* 2018; 61(3): 939–45. <https://doi.org/10.3233/JAD-161305>.

REFERENCES

- Manly J.J., Tang M., Schupf N., Stern Y., Vonsattel J.G., Mayeux R. Frequency and course of mild cognitive impairment in a multiethnic community. *Ann. Neurol.* 2008; 63(4): 494–506. <https://doi.org/10.1002/ana.21326>.

2. Alzheimer's Disease International. *World Alzheimer Report 2018. The State of the Art of Dementia Research: New Frontiers*. London: Alzheimer's Disease International (ADI); 2018. Available at: <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf> (accessed March 22, 2021).
3. Malashenkova I.K., Krynskiy S.A., Khaylov N.A., Ogurtsov D.P., Ponomareva E.V., Gavrilova S.I., et al. Adaptive immunity, systemic inflammation and cytokine levels in patients with Alzheimer's disease of different severity and with amnesic mild cognitive impairment [Adaptivnyy immunitet, sistemnoe vospalenie i uroven' osnovnykh tsitokinov u patsientov s boleznyu Altsgeimera razlichnykh stadiy i myagkim kognitivnym snizheniem amnesticheskogo tipa]. *Allergologiya i immunologiya*. 2018; 19(4): 206–14 (in Russian).
4. Malashenkova I.K., Krynskiy S.A., Hailov N.A., Ogurtsov D.P., Selezneva N.D., Fedorova Y.B., et al. Anti-inflammatory effects of neurotrophic therapy (a pilot study) [Protivovospalitel'nye efekty neurotroficheskoy terapii (primeneniye tserebrovizina pri myagkom kognitivnom snizhenii)]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2018; 118(5): 39–44. <https://doi.org/10.17116/jnevro20181185139> (in Russian).
5. Simonov A.N., Klyushnik T.P., Androsova L.V., Mikhaylova N.M. The use of cluster analysis and logistic regression for assessing the risk of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment, amnesic type [Ispol'zovanie klasternoy analiza i logisticheskoy regressii dlya otsenki riska bolezni Altsgeimera u patsientov s sindromom myagkogo kognitivnogo snizheniya amnesticheskogo tipa]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2018; 118(12): 40–3. <https://doi.org/10.17116/jnevro201811812140> (in Russian).
6. Carbone I., Lazzarotto T., Ianni M., Porcellini E., Forti P., Masliah E., et al. Herpes virus in Alzheimer's disease: relation to progression of the disease. *Neurobiol. Aging*. 2014; 35(1): 122–9. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.024>.
7. Letenneur L., Pérès K., Fleury H., Garrigue L., Barberger-Gateau P., Helmer C., et al. Seropositivity to herpes simplex virus antibodies and risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *PLoS One*. 2008; 3(11): e3637. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003637>.
8. Blasko I., Knaus G., Weiss E., Kemmler G., Winkler C., Falkensammer G., et al. Cognitive deterioration in Alzheimer's disease is accompanied by increase of plasma neopterin. *J. Psychiatr. Res.* 2007; 41(8): 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.02.001>.
9. Stein P.S., Steffen M.J., Smith C., Jicha G., Ebersole J.L., Dolph D. Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012; 8(3): 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.04.006>.
10. Kamer A.R., Craig R.G., Pirraglia E., Dasanayake A.P., Norman R.G., Boylan R.J., et al. TNF- α and antibodies to periodontal bacteria discriminate between Alzheimer's disease patients and normal subjects. *J. Neuroimmunol.* 2009; 216(1–2): 92–7. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.08.013>.
11. Didkovskii N.A., Malashenkova I.K., Tanasova A.N., Zuikov I.A., Zuikova I.N., Khitrik N.M., et al. Pathogenetic aspects of severe course of herpetic infection. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007; 2(76): 76–81. <https://doi.org/10.1007/s10517-007-0349-7>.
12. Hemling N., Røytta M., Rinne J., Pöllänen P., Broberg E., Tapio V., et al. Herpesviruses in brains in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Ann. Neurol.* 2003; 54(2): 267–71. <https://doi.org/10.1002/ana.10662>.
13. Lin W.R., Wozniak M.A., Cooper R.J., Wilcock G.K., Itzhaki R.F. Herpesviruses in brain and Alzheimer's disease. *J. Pathol.* 2002; 197(3): 395–402. <https://doi.org/10.1002/path.1127>.
14. Zilka N., Kazmerova Z., Jadhav S., Neradil P., Madari A., Obetkova D., et al. Who fans the flames of Alzheimer's disease brains? Misfolded tau on the crossroad of neurodegenerative and inflammatory pathways. *J. Neuroinflammation*. 2012; 9: 47. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-47>.
15. Kuhla A., Ludwig S.C., Kuhla B., Münch G., Vollmar B. Advanced glycation end products are mitogenic signals and trigger cell cycle re-entry of neurons in Alzheimer's disease brain. *Neurobiol. Aging*. 2015; 36(2): 753–61. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.09.025>.
16. Doens D., Fernández P.L. Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis. *J. Neuroinflammation*. 2014; 11: 48. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-48>.
17. Krynskiy S.A., Malashenkova I.K., Khaylov N.A., Ogurtsov D.P., Chekulaeva E.I., Ponomareva E.V., et al. Immunological markers of long-term effects of treatment in patients with mild cognitive impairment [Immunologicheskie markery dolgosrochnykh effektov terapii u patsientov s sindromom myagkogo kognitivnogo snizheniya]. *Medititskiy akademicheskii zhurnal*. 2019; 19(S1): 84–6 (in Russian).
18. Didkovskiy N.A., Ogurtsov D.P., Krynskiy S.A., Gurskaya O.G., Shipulina O.Yu., Domonova E.A., et al. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: replication levels of lymphotropic herpesviruses and immune defense [Mialgicheskii entsefalomielit/sindrom khronicheskoy ustalosti: uroven' replikatsii limfotropnykh gerpeticheskikh virusov i immunnaya zashchita]. *Poliklinika*. 2016; (5): 46–50 (in Russian).
19. Denaro F.J., Staub P., Colmer J., Freed D.M. Coexistence of Alzheimer disease neuropathology with herpes simplex encephalitis. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-Grand)*. 2003; 49(8): 1233–40.
20. Wozniak M.A., Shipley S.J., Combrinck M., Wilcock G.K., Itzhaki R.F. Productive herpes simplex virus in brain of elderly normal subjects and Alzheimer's disease patients. *J. Med. Virol.* 2005; 75(2): 300–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20271>.
21. Jamieson G.A., Maitland N.J., Wilcock G.K., Yates C.M., Itzhaki R.F. Herpes simplex virus type 1 DNA is present in specific regions of brain from aged people with and without senile dementia of the Alzheimer type. *J. Pathol.* 1992; 167(4): 365–8. <https://doi.org/10.1002/path.1711670403>.
22. Honjo K., van Reekum R., Verhoeff N. Alzheimer's disease and infection: Do infectious agents contribute to progression of Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement.* 2009; 5(4): 348–60. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2008.12.001>.
23. Kobayashi N., Nagata T., Shinagawa S., Oka N., Shimada K., Shimizu A., et al. Increase in the IgG avidity index due to herpes simplex virus type 1 reactivation and its relationship with cognitive function in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 430(3): 907–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.054>.
24. Lövhelm H., Olsson J., Weidung B., Johansson A., Eriksson S., Hallmans G., et al. Interaction between cytomegalovirus and herpes simplex virus type 1 associated with the risk of Alzheimer's disease development. *J. Alzheimers Dis.* 2018; 61(3): 939–45. <https://doi.org/10.3233/JAD-161305>.