

11. Распоряжение Правительства РФ №2199-р от 07.12.2011 г. «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2012 год». Available at: <http://www.rosminzdrav.ru/documents/7008-rasporyazhenie-pravitelstva-rf-2199-r-ot-7-dekabrya-2011>

REFERENCES

1. Rokshtro Yu., Khoffman K. *The Treatment of HIV Infection. [Lechenie VICH-infektsii]*. Moscow: R. Valent; 2010. (in Russian)
2. Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Kanestri V.G., Ermak T.N. et al. Treatment protocols of HIV-infected patients. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2011; 3(Suppl.). (in Russian)
3. Shakhgil'dyan V.I. Current approaches to the care of HIV/HCV co-infected patients. *Gepatologicheskii forum*. 2008; 4: 16–27. (in Russian)
4. Matsukura M., Chu F., Au M., Lu H., Chen J., Rietkerk S. et al. Liver ultrastructural morphology and mitochondrial DNA levels in HIV/hepatitis C virus coinfection: no evidence of mitochondrial damage with highly active antiretroviral therapy. *AIDS, russkoe izdanie*. 2008; 1 (4): 377–80. (in Russian)
5. Soriano V., Puoti M., Garsia-Gasko P. Antiretroviral drugs and liver injury. *AIDS*. 2008; 22(1): 1–13.

6. Soriano V., Puoti M., Sulkovski M., Cargnel A., Benhamou Y, Peters M. et al. Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV International Panel. *AIDS*. 2007; 21(9): 1073–89.
7. Gankina N.Yu., Kravchenko A.V., Kuimova U.A., Kanestri V.G. The selection of nucleoside inhibitors for antiretroviral therapy of HIV-infected patients with therapies for hepatitis C virus. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2010; 2: 42–6. (in Russian)
8. Kravchenko A.V., Gankina N.Yu., Kuimova U.A., Kanestri V.G. The nucleoside inhibitors for antiretroviral therapy for HIV/hepatitis C virus coinfection. *Infeksionnye bolezni*. 2010; 8 (1): 14–8. (in Russian)
9. Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Kanestri V.G., Afonina L.Yu. et al. The protocols for dispensary observation and treatment of HIV-infected patients. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2013; 6(Suppl.). (in Russian)
10. Bartlett Dzh., Galant Dzh., Fam P. *Medical Management of HIV Infection [Klinicheskie aspekty VICH-infektsii]*. Moscow: Valent; 2012. (in Russian)
11. Order of the Government of the Russian Federation № 2199-р dated 07.12.2011 “On approval of the list of vital and essential medicines in 2012”. Available at: <http://www.rosminzdrav.ru/documents/7008-rasporyazhenie-pravitelstva-rf-2199-r-ot-7-dekabrya-2011> (in Russian).

Поступила 25.09.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064]-078.33

Селимова Л. М.¹, Калнина Л. Б.¹, Серебровская Л. В.², Иванова Л. А.², Гуляева А. Н.³, Носик Д. Н.¹

ЦИТОКИНЫ ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА 1-го ТИПА (ВИЧ-1)

¹Институт вирусологии им. Д. И. Иванова ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ²ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва; ³ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва

В работе изучен уровень провоспалительных (ИЛ-1 β , ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-2) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов в плазме ВИЧ-инфицированных пациентов, не получающих и получающих высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ). ИФН- γ в двух группах пациентов обнаруживали в 94% образцов, ФНО- α – в 88% и ИЛ-2 – в 38% образцов без лечения и в 12 и 30% образцов с ВААРТ соответственно. Обнаружена положительная корреляция между уровнем вирусной нагрузки и количеством ИФН- γ ($r^s = 0,13$) и отрицательная корреляция ($r^s = -0,242$) – у пациентов с ВААРТ и без нее соответственно. У 31% пациентов без лечения наблюдалась косекреция 3 цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-2), у 35% – 2 цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α). С ВААРТ у 20% пациентов обнаружена косекреция 3 цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-2) и у 10% – косекреция ИФН- γ и ИЛ-2. Более высокий процент косекреции провоспалительных цитокинов, обнаруженный в плазме пациентов без ВААРТ с продолжительностью инфекции от 6 лет, позволяет предположить, что благодаря этому их иммунная система может сдерживать быстрое прогрессирование болезни.

Ключевые слова: ВИЧ-1; цитокин.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2016; 61(1): 39–41. DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-39-41

Selimova L.M.¹, Kalnina L.B.¹, Serebrovskaya L.V.², Ivanova L.A.², Gulyaeva A.N.³, Nosik D.N.¹

CYTOKINES DURING THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS INFECTION TYPE 1(HIV-1)

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology “Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya”, 123098, Moscow, Russia; ²Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 111123, Moscow, Russia; ³Hematology Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, 125167, Moscow, Russia

In this work the proinflammatory (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-2) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) plasma cytokine levels were evaluated in HIV-infected patients with or without antiretroviral treatment (ART). IFN- γ was detected in 94% samples with and without ART, TNF- α in 88% and IL-2 in 38% samples without ART, as well as in 12% and 30% samples with ART, respectively. Positive correlation was detected between viral RNA and IFN- γ levels ($r_s = 0.13$) and negative correlation ($r_s = -0.242$) in the patients without or with ART. Cosecretion of three cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-2) was detected in 31% samples and two cytokines (IFN- γ , TNF- α) in 35% samples of persons without ART. Cosecretion of three cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-2) was detected in 20% samples with ART; cosecretion of IFN- γ and IL-2 was detected in 10% samples. The higher percentage of the proinflammatory cytokines with cosecretion was detected in plasma HIV-infected patients without ART in the course of 6 and more years, which suggests that their immune system is able to provide disease control.

Key words: HIV-1; cytokine.

Citation: Voprosy virusologii. 2016; 61(1): 39–41. (in Russian). DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-39-41

For correspondence: Ludmila Selimova, MD, PhD, ScD; e-mail: lselim@mail.ru

Received 02.03.15

Для корреспонденции: Селимова Людмила Мидатовна, д-р биологических наук, ведущий научный сотрудник; e-mail: lselim@mail.ru

При ВИЧ-инфекции особенности развития иммунного ответа существенно влияют на характер течения болезни и время появления признаков СПИДа. Это во многом зависит от баланса между активностью Т-клеток, участвующих в организации иммунного ответа, и уровнем генерализации иммунной активации. Поэтому качественные и количественные показатели иммунной системы и их взаимосвязь у пациентов с ВИЧ-инфекцией во всех клинических стадиях и у различных категорий пациентов всесторонне и интенсивно изучаются. Важной составляющей этих исследований является поиск новых эффективных подходов к лечению заболевания. Среди различных направлений исследования ВИЧ-инфекции особое место занимает изучение таких важных природных биологически активных веществ, как цитокины, так как они играют важную роль в модулировании иммунного ответа. Исследования в этой области показывают, что репликация ВИЧ в организме может влиять на продукцию цитокинов путем изменения активности продуцирующих их клеток, главным образом Т-клеток. Это приводит к снижению эффективного функционирования всех звеньев иммунитета и созданию благоприятных условий для репликации вируса.

Первоначально среди CD4⁺-Т-клеток были выделены 2 типа клеток в соответствии с продукцией цитокинов Th1 и Th2 [1]. Впоследствии цитокины, синтезируемые ими, также стали делить на Th1- и Th2-типы. Th-клетки инициируют клеточный иммунный ответ, а Th2-клетки – гуморальный. Th1-клетки синтезируют ИЛ-1β, ИЛ-2, ИФН-γ и ФНО-α. Эти цитокины также выполняют ауторегуляторную функцию. Увеличение уровня ИФН-γ приводит к активации цитотоксической активности CD8⁺-Т-клеток и инициирует гибель инфицированных клеток. Продукция ИФН-γ ограничивает активность Th2-клеток и контролирует активность Th1-клеток [2]. Показано, что при ВИЧ-инфекции снижена продукция Th1-цитокинов и в большей степени ИЛ-2 [3] и увеличена продукция цитокинов Th2-типа [4]. Появление ИЛ-4 характеризует переключение синтеза цитокинов на Th2-тип и постепенное увеличение синтеза цитокинов этого типа по принципу положительной обратной связи [2]. Среди цитокинов Th2-типа можно также выделить ИЛ-10, так как он обладает иммуносупрессивной активностью [5]. ИЛ-4 и ИЛ-10 действуют кооперативно, ограничивая активность Th1-клеток [6]. Цитокины Th1-типа называют также провоспалительными, а Th2-типа – противовоспалительными. Характерной особенностью течения ВИЧ-инфекции является развитие хронического воспалительного процесса. Существенная роль в регуляции иммунного ответа и воспаления принадлежит ИЛ-1β, являющемуся фактором врожденной цепи иммунитета [7].

Применение высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) существенно повышает продолжительность жизни и улучшает основные клинические показатели, которые используются для контроля развития ВИЧ-инфекции [8]. Дополнительным критерием оценки течения болезни могут быть данные о накоплении цитокинов в плазме пациентов. В связи с этим нами был изучен уровень провоспалительных (ИЛ-1β, ИФН-γ, ФНО-α, ИЛ-2) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов в плазме ВИЧ-инфицированных пациентов, не получающих и получающих ВААРТ.

Материал и методы

В работе использовали 33 образца периферической крови пациентов, находящихся в стадии 3 ВИЧ-инфекции и проходящих диспансерное наблюдение в Специализированном научно-исследовательском отделе эпидемиологии и профилактики СПИД. Все пациенты

являются гражданами Российской Федерации. Из них 17 пациентов (9 женщин, 8 мужчин) не получали ВААРТ и 16 (9 женщин, 7 мужчин) ее получали. ВААРТ проводили в соответствии с рекомендациями, принятыми в Российской Федерации [9]. Основные сведения о пациентах представлены в табл. 1.

В качестве контроля использовали периферическую кровь, полученную от 20 доноров (9 женщин, 11 мужчин) в возрасте от 18 до 49 лет ($\mu = 30 \pm 9,1$), обратившихся в Гематологический научный центр МЗ РФ. Кровь отбирали в вакутейнеры (9 мл), содержащие К₂ЭДТА (BD Vacutainer, Великобритания), осаждали при 2000 об/мин в течение 20 мин при 20°C, плазму крови отбирали и хранили при -20°C до анализа на цитокины.

Уровень цитокинов в плазме определяли с использованием коммерческих иммуноферментных тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Российская Федерация) в соответствии с инструкциями.

Количество CD4-клеток в крови определяли методом проточной цитометрии на цитофлюориметрах EPICS XL и FACS Calibur с использованием моноклональных антител CD45/CD3/CD4 («Beckman Coulter» и «Becton Dickinson»), частиц FlowCount и пробирок TruCOUNT для абсолютного счета.

Вирусную нагрузку (ВН) определяли с помощью коммерческой тест-системы ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ; Amplicor HIV Monitor Assay, «Roche Diagnostics», Натли, Нью-Джерси).

Статистический анализ данных описательной статистики и определение коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r^s) или Пирсона (R) проводили с помощью программы BioStat 2009 («AnalystSoft»). Уровень значимости (α) был равен 0,05.

Результаты и обсуждение

Среди цитокинов, участвующих в организации и регуляции иммунного ответа при ВИЧ-инфекции, наибольшее внимание уделяется трем из них. Это провоспалительные цитокины ИЛ-2, ИФН-γ и ФНО-α. ИЛ-2 относится к факторам роста Т-клеток и выполняет иммунорегуляторную функцию на всех звеньях и этапах развития иммунного ответа [10, 11]. ИФН-γ и ФНО-α играют важную роль в активации различных механизмов, участвующих в эрадикации вирусов [12, 13]. Показано, что вирусспецифическая стимуляция мононуклеарных клеток от ВИЧ-инфицированных пациентов, относящихся к непрогрессорам (у которых не развиваются клинические признаки болезни или они выражены слабо), приводит к секреции 3-х или 2-х из перечисленных цитокинов более чем в 50% об-

Таблица 1
Характеристика пациентов с ВИЧ-инфекцией

Показатель	Группа*	
	без ВААРТ	с ВААРТ
Возраст, годы	30,1 ± 2,7 (24–35)	36,3 ± 9,3 (27–57)
Длительность инфекции, годы	7,2 ± 4 (1–13)	7 ± 2,8 (2–11)
Продолжительность лечения, годы		4,25 ± 2,8 (1–9)
CD4 ⁺ -Т-клетки, кл/мкл	455 ± 130 (287–699)	410 ± 150 (97–697)
ВН, копии вирусной РНК/мл, lg	4,7 ± 2,6 (2,7–5,4)	1,9 ± 1 (0–2,7)

Примечание. * – средние значения и стандартные отклонения, в скобках указаны минимальные и максимальные величины.

Таблица 2

Уровни цитокинов в плазме пациентов с ВИЧ-инфекцией

Цитокины*	Пациент		Доноры
	без ВААРТ	с ВААРТ	
ИФН- γ	11,6 \pm 4,7 (0–18)	6,7 \pm 5,3 (0–17)	6,3 \pm 3,5 (4–18)
ФНО- α	2,25 \pm 1,4 (0–4)	0,33 \pm 1 (0–3)	1 \pm 1,1 (0–3)
ИЛ-1 β	н. о.	0,44 \pm 1,3 (0–4)	0,25 \pm 1(0–5)
ИЛ-2	3,6 \pm 6,9 (0–20)	0,7 \pm 1,3 (0–3)	3,85 \pm 4,4 (0–10)
ИЛ-4	0,3 \pm 1,8 (0–2)	0,11 \pm 0,33 (0–1)	0,3 \pm 0,4 (0–1)
ИЛ-10	0,6 \pm 1,4 (0–4)	н. о.	0,1 \pm 0,4 (0–2)

Примечание.* – количество цитокинов (в пг/мл); н. о. – не обнаружено.

разгов. В случае с прогрессорами (пациенты с клиническими признаками болезни) приблизительно у 75% образцов наблюдается секреция только одного из цитокинов [14], причем CD4-клетки, продуцирующие 3 цитокина, были более активны, и у них наблюдалась обратная корреляция между уровнями синтеза цитокинов и продукцией вируса. Эти данные позволили авторам заключить, что секреция трех перечисленных цитокинов является благоприятным сочетанием, свидетельствующим об эффективном функционировании иммунной системы. С этой точки зрения мы проанализировали особенности распределения различных типов цитокинов в плазме ВИЧ-инфицированных пациентов. Результаты определения уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в плазме пациентов с ВИЧ-инфекцией, не получающих и получающих ВААРТ, представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что по средним показателям наибольший уровень ИФН- γ и ФНО- α обнаруживается в группе пациентов без лечения (группа 1), при этом у пациентов, находящихся на лечении (группа 2), уровень ИФН- γ близок к аналогичному показателю в группе доноров, а ФНО- α – существенно ниже. Обнаруженное количество ИЛ-2 у пациентов без лечения сходно с количеством этого цитокина у доноров, а в группе, получающей ВААРТ, оно ниже. По провоспалительному цитокину ИЛ-1 β и двум противовоспалительным цитокинам ИЛ-4 и ИЛ-10 сделать конкретные выводы сложно, так как они обнаруживались в небольшом количестве образцов и на низком уровне во всех изучаемых группах. При более детальном анализе следует отметить следующее. ИФН- γ в 2 группах пациентов обнаруживался в 94% образцов, в группе доноров – в 100% образцов. ФНО- α присутствовал в 88% образцов в группе 1, в группе 2 – в 12%, в группе доноров – в 50% образцов, ИЛ-2 – в 38 и 30% образцов для групп 1 и 2 соответственно, в группе доноров – в 50% образцов. Остальные изученные цитокины обнаруживались во всех 3-х группах пациентов в отдельных случаях либо не обнаруживались. В группе 1 (без лечения) у 31% пациентов наблюдалась косекреция 3-х цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-2) у 35% – 2-х цитокинов (ИФН- γ и ФНО- α). В последнем случае 15% пациентов имели в плазме противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10. Корреляции в коэкспрессии цитокинов с уровнем ВН мы не обнаружили. Незначительная положительная корреляция была обнаружена между уровнем ВН и количеством ИФН- γ ($r^s = 0,13$). В группе 2 (с ВААРТ) у 20% пациентов на-

блюдалась косекреция 3-х цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-2) и у 10% – косекреция ИФН- γ и ИЛ-2. Незначительная отрицательная корреляция была обнаружена между уровнем ВН и количеством ИФН- γ ($r^s = -0,242$). В целом можно отметить, что ВААРТ снижала уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в плазме ВИЧ-инфицированных пациентов. Исследованные нами пациенты без лечения не относятся к непрогрессорам и имеют или высокую ВН, или низкий уровень CD4⁺-клеток. Однако тот факт, что у 50% из них инфекция присутствует 6 лет и более, указывает на то, что коэкспрессия 3-х или 2-х провоспалительных цитокинов может свидетельствовать о способности иммунной системы сдерживать быстрое прогрессирование болезни. Длительное комплексное изучение такой группы пациентов может дать дополнительные сведения об особенностях функционирования иммунной системы при ВИЧ-инфекции.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–8, 10, 11, 13, 14
см. REFERENCES)

9. Покровский В.В., ред. *ВИЧ-инфекция и СПИД: Клинические рекомендации*. 2-е изд. М.: Медицина; 2009.
10. Носик Н.Н. Цитокины при вирусной инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2000; 45(1): 4–10.

REFERENCES

1. Mosmann T.R., Coffman R.L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 1989; 7: 145–73.
2. Reuter M.A., Pombo C., Betts M.R. Cytokine production and dysregulation in HIV pathogenesis: Lessons for development of therapeutics and vaccines. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2012; 23(4–5): 181–91.
3. Wherry E.J., Ha S.J., Kaech S.M., Haining W.N., Sarkar S., Kalia V. et al. Molecular signature of CD8⁺ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity*. 2007; 27(4): 670–84.
4. Clerici M., Shearer G.M. A TH1 \rightarrow TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol. Today*. 1993; 14(3): 107–11.
5. Wilson E.B., Brooks D.G. The role of IL-10 in regulating immunity to persistent viral infections. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2011; 350: 39–65.
6. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol.* 2001; 19: 683–765.
7. Dinarello C.A. The Interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J.* 1994; 8(15): 1314–25.
8. Zhou J., Sirisanthana T., Kiertiburanakul S., Chen Y.M., Han N., Lim P.L. et al. Trends in CD4 counts in HIV-infected patients with HIV viral load monitoring while on combination antiretroviral treatment: results from The TREAT Asia HIV Observational Database. *BMC Infect. Dis.* 2010; 10: 361–70.
9. Pokrovskiy V.V., ed. *HIV Infection and AIDS: Clinical Guidelines [ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации]*. 2nd ed. Moscow: Meditsina; 2009. (in Russian)
10. Shaw J., Kaplan B., Paetkau V., Pilarski L.M., Delovitch T.L., McKenzie I. F. Cellular origins of co-stimulator (IL-2) and its activity in cytotoxic T lymphocyte responses. *J. Immunol.* 1980; 124(5): 2231–9.
11. Farrar J.J., Mizel S.B., Fuller-Farrar J., Farrar W.L., Hilfiker M.L. Macrophage independent activation of helper T cells. I. Production of interleukin-2. *J. Immunol.* 1980; 125(2): 793–8.
12. Nosik N.N. Cytokines in viral infection. *Voprosy virusologii*. 2000; 45(1): 4–10. (in Russian)
13. Guidotti L. G., Chisari F.V. Cytokine-mediated control of viral infections. *Virology*. 2000; 273(2): 221–7.
14. Kannanganat S., Kapogiannis B.G., Ibegbu C., Chennareddi L., Goepfert P., Robinson H.L. et al. Human immunodeficiency virus type 1 controllers but not noncontrollers maintain CD4 T cells coexpressing three cytokines. *J. Virol.* 2007; 81(21): 12071–6.

Поступила 02.03.15