

ІМУНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТА ПРОФІЛЬ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ

А.І. Піддубна, М.Д. Чемич

Сумський державний університет, кафедра інфекційних хвороб з епідеміологією, м. Суми

У статті наведено зміни профілю цитокінів IL-4, IL-10, TNF- α та особливості перебігу захворювання у ВІЛ-інфікованих осіб залежно від рівня імуносупресії. Встановлено, що імунний статус пацієнтів з ВІЛ характеризується недостатністю клітинного компартменту з дисбалансом співвідношення імунокomпетентних клітин та підвищеною продукцією прозапального TNF- α і протизапального IL-10.

Ключові слова: ВІЛ-інфекція, цитокіни, клітинний імунітет

В статье приведены изменения профиля цитокинов IL-4, IL-10, TNF- α и особенности течения заболевания у ВИЧ-инфицированных лиц в зависимости от уровня иммуносупрессии. Установлено, что иммунный статус пациентов с ВИЧ характеризуется недостаточностью клеточного компартмента с дисбалансом соотношения иммунокомпетентных клеток и повышенной продукцией провоспалительного TNF- α и противовоспалительного IL-10.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, цитокины, клеточный иммунитет

ВСТУП

Вірус імунodefіциту людини на теперішній час обумовлює пандемію, внаслідок чого зростання захворюваності на ВІЛ-інфекцію є важливою медико-соціальною проблемою [1]. Проте, численні дослідження, присвячені вивченню механізмів патогенезу недуги і особливостей перебігу захворювання, не знаходять однозначного вирішення.

Одним з факторів, що впливають на реплікацію вірусу в організмі, є цитокіни, деякі з яких здатні сприяти реплікації ВІЛ, підвищуючи експресію регуляторних генів збудника [2]. Чимало авторів вказують на те, що в основі відповіді імунної системи на антигени вірусу лежить дисбаланс інтерлейкінів, які продукуються Т-хелперами 1-го і 2-го типу. Так, при прогресуванні хвороби, пригнічується Т1-хелперна відповідь, що призводить до порушення стимуляції клітинного компоненту. Разом з цим відбувається зростання рівнів

протизапальних цитокінів, які, у свою чергу, обумовлюють відносно малоефективний антитільний опір [3, 4, 5].

TNF- α відіграє вирішальну роль в експресії вірусного геному при ВІЛ-інфекції. Підвищення сироваткової концентрації *TNF- α* при прогресуванні недуги відмічається багатьма дослідниками, більшість з яких підкреслюють кореляцію даного підвищення зі зниженням кількості CD4+ лімфоцитів і тяжкістю клінічної картини захворювання [6, 7, 8]. Значення *IL-10* у розвитку хвороби полягає у його здатності як знижувати, так і підвищувати реплікацію вірусу залежно від присутності інших цитокінів. Високі рівні *IL-10* зафіксовані у сироватці інфікованих осіб на пізніх стадіях хвороби [9, 10]. Більш суперечливі дані про роль *IL-4*: не дивлячись на окремі повідомлення про зниження рівня цитокіну, чимало дослідників зазначають підвищення його концентрації при прогресуванні інфекції [2, 11, 12].

Таким чином, баланс цитокінів відіграє важливу роль у регулюванні гомеостазу імунної системи і впливає на перебіг ВІЛ-інфекції, а дослідження змін цитокінового статусу у ВІЛ-інфікованих осіб дозволить краще зрозуміти патогенез захворювання і надасть додаткову інформацію про механізм прогресування недуги.

МЕТА РОБОТИ

Вивчити зміни профілю цитокінів у ВІЛ-інфікованих осіб, за показниками вмісту *IL-4*, *IL-10* і *TNF- α* , та особливості перебігу захворювання залежно від стану клітинного імунітету.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під наглядом знаходилися 59 ВІЛ-інфікованих осіб серед яких було 40 (67,8 %) чоловіків та 19 (32,2 %) жінок у віці ($32,61 \pm 0,87$) років, які перебували на стаціонарному лікуванні в Сумській обласній клінічній інфекційній лікарні ім. З.Й. Красовицького (СОКІЛ). Пацієнти були розподілені на групи залежно від рівня CD4+ Т-лімфоцитів. До I групи увійшли 26 осіб з рівнем Т-хелперів ≥ 350 клітин/мкл, до II – 33 особи з рівнем Т-хелперів ≤ 200 клітин/мкл. Групу

порівняння склали співставимі за статтю і віком 30 клінічно здорових донорів крові.

Методом ІФА проведене кількісне визначення рівня *IL-4*, *IL-10*, *TNF- α* (тест-системи «Вектор-Бест», м. Новосибірськ, РФ) у сироватці крові згідно інструкцій заводу виробника на базі клініко-діагностичної лабораторії СОКІЛ. Параметри клітинного компартменту імунної системи (кількість CD3+ лімфоцитів, кількість CD4+ субпопуляції Т-хелперів, кількість CD8+ субпопуляції Т-супресорів в 1 мкл крові, індекс співвідношення субпопуляції лімфоцитів CD4+/CD8+) отримані на базі імунологічної лабораторії обласного центру профілактики і боротьби з ВІЛ-інфекцією/СНІДом. Крім цього проводились загальноприйняті та передбачені протоколом обстеження. Включення осіб у дослідження проводилося лише за їх письмовою інформованою згодою.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вивчаючи соціо-демографічні дані, встановлено, що ВІЛ-інфіковані особи досліджуваних груп не відрізнялися за гендерною, віковою ознаками та шляхом інфікування вірусом (табл. 1). Привертає увагу той факт, що серед пацієнтів групи II зафіксовано достовірно менший стаж недуги. Так, в осіб з рівнем CD4+ Т-лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл, середня кількість років, що минули з часу встановлення діагнозу ВІЛ-інфекції до моменту госпіталізації була у 2,5 разу меншою ніж в осіб з групи I ($p < 0,01$).

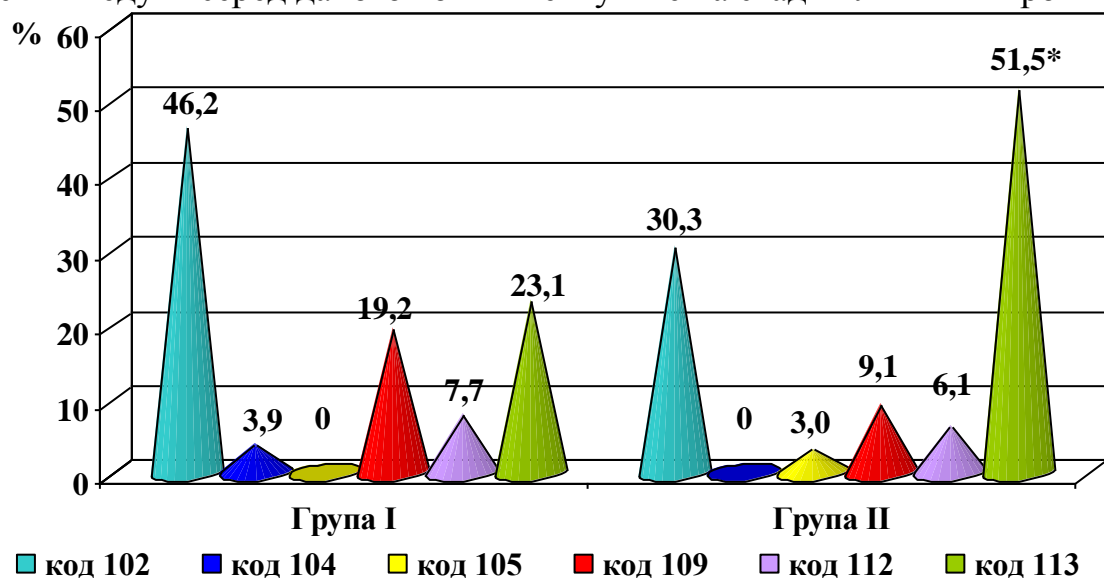
Таблиця 1

Соціо-демографічна характеристика обстежених пацієнтів з ВІЛ-інфекцією

Показник	Група I (n=26)	Група II (n=33)
Середній вік, років	30,5 \pm 0,89	34,27 \pm 1,70
Чоловіки, абс. / %	16 / (61,54 \pm 9,73)	24 / (72,72 \pm 7,87)
Парентеральний шлях інфікування, абс. / %	20 / (76,92 \pm 8,43) %	20 / (60,61 \pm 8,64) %
Статевий шлях інфікування, абс. / %	6 / (23,08 \pm 8,43) %	13 / (39,39 \pm 8,64) %
Перебувають на ВААРТ, абс. / %	9 / (34,62 \pm 9,51) %	7 / (21,21 \pm 7,23) %
Стаж ВІЛ-інфекції, років	4,43 \pm 0,68	1,81 \pm 0,40 *

Примітка: * - достовірність різниці показника щодо пацієнтів групи I, $p < 0,01$.

При структурному розподілі груп за показником причини проходження тестування на наявність Ат до ВІЛ 1/2 (мал. 1) не виявлено достовірних відмінностей при обстеженні пацієнтів: як споживачів ін'єкційних наркотиків (код 102); у яких виявлені хвороби, що передаються статевим шляхом (код 104); які мали чисельні незахищені сексуальні контакти (код 105); які перебувають у місцях позбавлення волі (код 112); вагітних (код 109). Проте, у групі II зареєстрована достовірно більша кількість пацієнтів, обстежених через наявність клінічних показань для проходження тестування на ВІЛ-інфекцію (код 113), що разом з малим стажем інфікування може вказувати на пізнє виявлення недуги серед даного контингенту вже на стадії клінічних проявів.



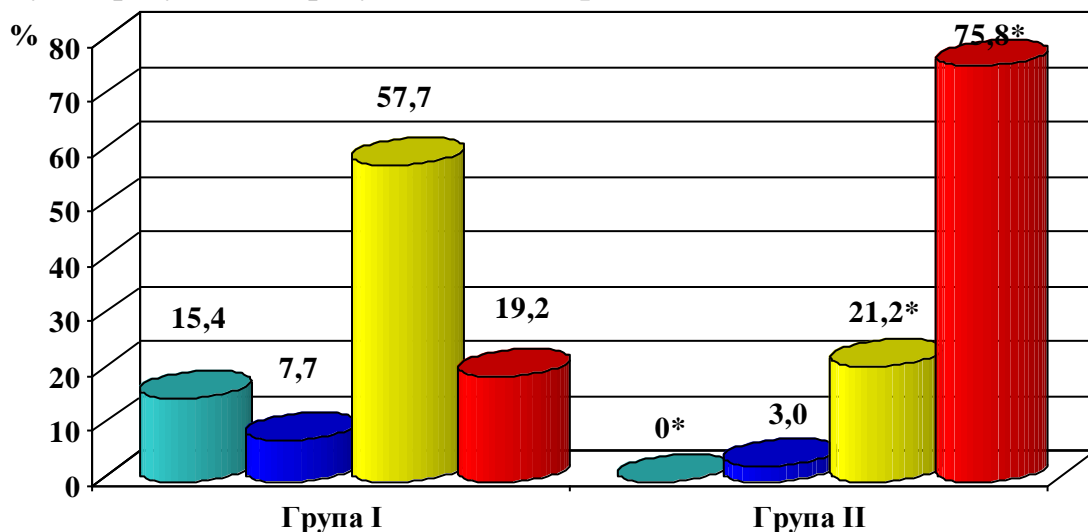
Мал. 1. Структура клінічних груп залежно від причини проходження тестування на ВІЛ-інфекцію

Примітка: * - достовірна різниця показника щодо групи I, $p < 0,05$.

Співставлення клінічних стадій ВІЛ-інфекції пацієнтів досліджуваних груп дозволило виявити (мал. 2), що лише у осіб з рівнем Т-хелперів ≥ 350 клітин/мкл була зафіксована стадія безсимптомного носійства, а клінічна стадія III зустрічалася у 2,7 разу частіше ($p < 0,05$). У групі II домінували пацієнти з термінальною стадією захворювання (показник перевищив аналогічний серед осіб групи I у 3,9 разу, $p < 0,05$).

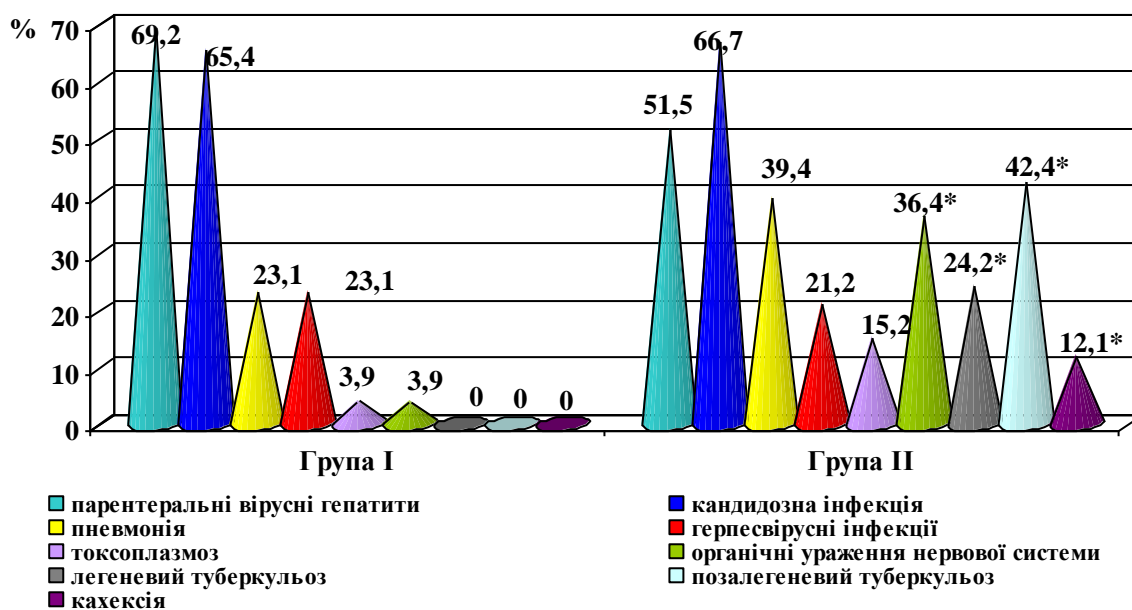
У пацієнтів групи I на момент звернення за медичною допомогою загальний стан був розцінений як середнього ступеня тяжкості у 92,3 %, що в 1,8 разу більше ніж серед представників групи II ($p < 0,05$). У хворих з рівнем

імунокомпетентних клітин ≤ 200 клітин/мкл тяжкий стан зафіксовано у 30,3 % випадків, вкрай тяжкий стан – у 18,2 %, що перевищує відповідні показники групи I у 3,9 разу та 18,2 разу відповідно ($p < 0,05$).



■ Клінічна стадія I ■ Клінічна стадія II ■ Клінічна стадія III ■ Клінічна стадія IV
 Мал. 2. Структура досліджуваних груп за клінічною стадією ВІЛ-інфекції
 Примітка: * - достовірна різниця показника щодо групи I, $p < 0,05$.

Вивчення структури патології, асоційованої з ВІЛ вказало на те, що найбільш розповсюдженими були інфекції, спричинені грибами роду *Candida* та вірусами гепату В і С (мал. 3). Лише у когорті осіб з рівнем $CD4^+$ Т-лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл діагностовано сухоти, кахексію; достовірно частіше зустрічалися органічні ураження ЦНС (у 9,3 разу).



Мал. 3. Клінічні прояви у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією
 Примітка: * - достовірна різниця показника щодо групи I, $p < 0,05$.

У пацієнтів індекс опортуністичних інфекцій (кількість інфекцій, що виявлені у хворого) коливався від 1 до 5. В осіб з вираженим імунодефіцитом цей показник був вищим – $(2,49 \pm 0,23)$ у групі II, проти $(1,65 \pm 0,32)$ у I ($p < 0,05$).

Як видно з табл. 2, у хворих з ВІЛ-інфекцією при дослідженні показників клітинного компартменту імунітету реєструвалися суттєво знижені показники CD4+ Т-лімфоцитів порівняно зі здоровими особами (група I – у 2,2; II – у 8,6 разу), та зниження коефіцієнту співвідношення CD4+/CD8+ (група I – у 2,8; II – у 5,3 разу). Середні значення пулу CD3+, CD8+ лімфоцитів у пацієнтів з рівнем Т-хелперів ≥ 350 клітин/мкл достовірно перевищували значення осіб з групи порівняння та II. Зміни в імунному статусі пацієнтів групи II мали більш виражений характер, що підтверджується наявністю достовірної різниці показників з когортою хворих I групи ($p < 0,05$).

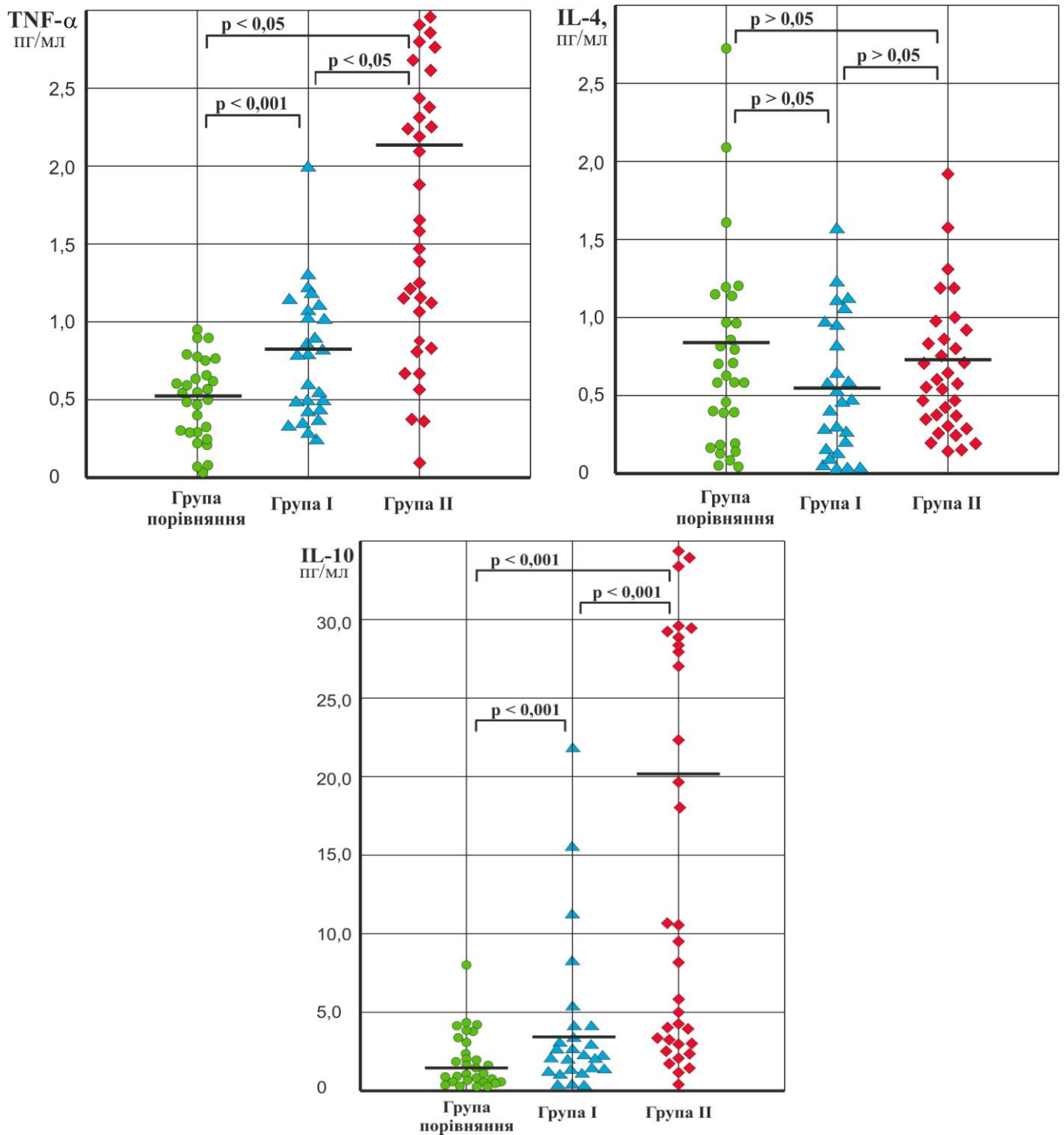
Таблиця 2

Показники клітинного імунітету в обстежених ВІЛ-інфікованих осіб

Показник	Група порівняння (n=30)	Група I (n=26)	Група II (n=33)
CD4+, клітин в 1 мкл крові	992,47±29,53	446,35±20,07 *	115,21±11,72 *, **
CD3+, клітин в 1 мкл крові	1330,77±54,39	1483,08±38,40 *	835,79±100,65 *, **
CD8+, клітин в 1 мкл крові	828,17±16,01	1042,85±32,01 *	602,91±95,72 *, **
CD4+/CD8+	1,21±0,04	0,43±0,01 *	0,23±0,03 *, **

Примітка: * - достовірна різниця показника щодо осіб групи порівняння, $p < 0,001$; ** - достовірна різниця показника щодо групи I, $p < 0,001$.

Як продемонстровано на мал. 4, у цитокиновому профілі всіх ВІЛ-інфікованих спостерігалось збільшення рівня прозапального цитокину *TNF- α* у порівнянні з контролем (група I – $(0,77 \pm 0,08)$, II – $(2,34 \pm 0,69)$, група порівняння – $(0,51 \pm 0,32)$ пг/мл, $p < 0,05$) та протизапального *IL-10* (група I – $(3,99 \pm 0,99)$, II – $(20,08 \pm 4,44)$, група порівняння – $(1,68 \pm 0,32)$ пг/мл, $p < 0,001$). Достовірно значущої різниці у продукції *IL-4* серед обстежених контингентів виявлено не було.

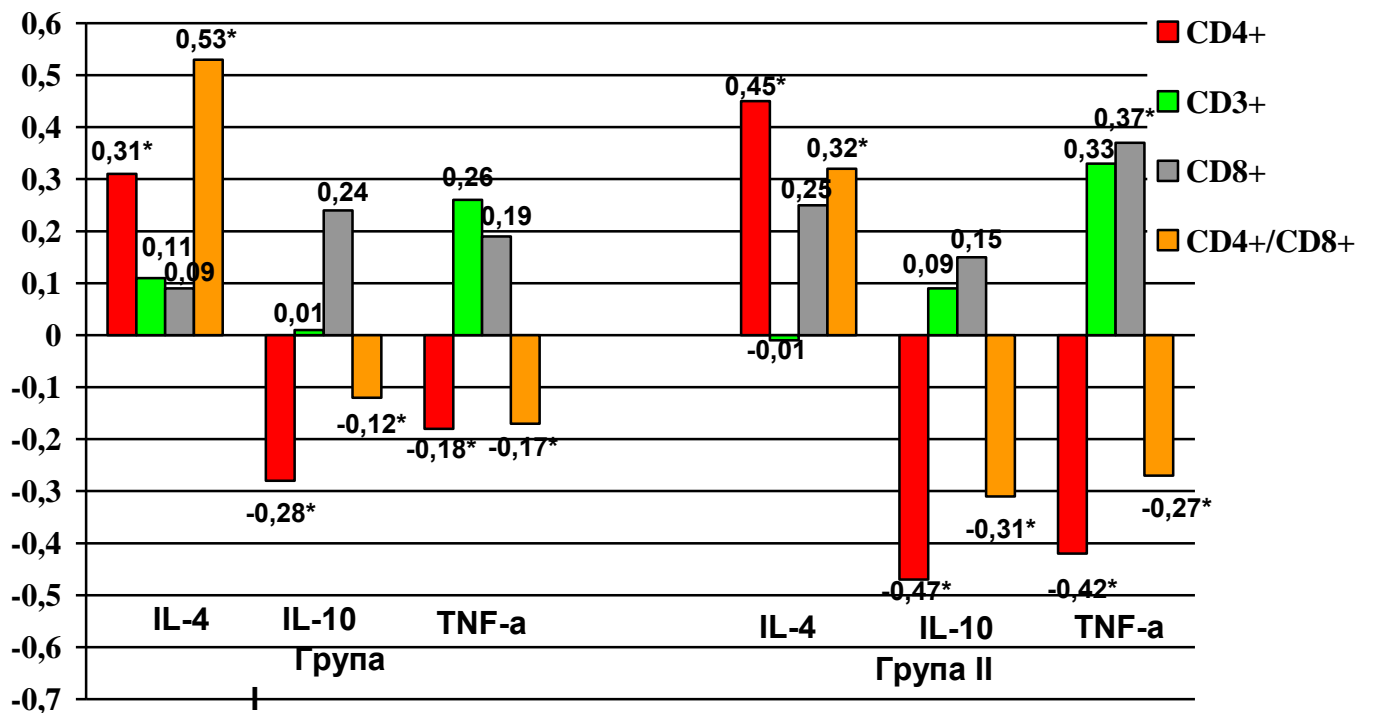


Мал. 4. Показники сироваткової концентрації *TNF-α*, *IL-4*, *IL-10* у ВІЛ-інфікованих осіб

У пацієнтів з рівнем CD4+ Т-лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл зафіксовано значне підвищення *TNF-α* та *IL-10* у порівнянні з особами групи I ($p < 0,05$), що обумовлює наявність глибокого дисбалансу імунної відповіді на пізніх стадіях

захворювання. Серед ВІЛ-інфікованих групи II середній рівень сироваткової концентрації *TNF-α* перевищив відповідний показник групи I у 3 рази ($p < 0,05$). Значне зростання концентрації цитокіну зафіксовано в осіб з вираженим імунodefіцитом при порівнянні значень *IL-10* (рівень *IL-10* у групі II виявився у 5 разів вищим, $p < 0,05$), що може опосередковано свідчити про більш активне залучення *IL-10* у процеси прогресування недуги. На користь даного припущення також вказує сила кореляційних зв'язків у пацієнтів групи II між концентрацією даного цитокіну та індексом опортуністичних інфекцій у порівнянні з аналогічними показниками *TNF-α* (*IL-10*: $r = 0,23$, $p < 0,05$; *TNF-α*: $r = 0,17$, $p < 0,05$); тяжкістю загального стану пацієнта (*IL-10*: $r = 0,43$, $p < 0,05$; *TNF-α*: $r = 0,25$, $p < 0,05$).

При дослідженні кореляційних зв'язків у групах пацієнтів з ВІЛ-інфекцією виявлений зворотний зв'язок різної сили між кількістю CD4-клітин, індексом співвідношення CD4+/CD8+ лімфоцитів та рівнями *IL-10* і *TNF-α* (мал. 5).



Мал. 5. Кореляційні зв'язки між показниками клітинного імунітету та профілем цитокінів у досліджуваних групах

Примітка: * - достовірність кореляційного зв'язку, $p < 0,05$.

Необхідно відзначити, що в осіб зі значно вираженим імунодефіцитом залежність рівня імунокомпетентних клітин і сироваткової концентрації цитокінів більш значна. Так, в групі з рівнем Т-хелперів ≥ 350 клітин/мкл, кореляційний зв'язок був зворотній слабкий (*IL-10*: $r=-0,28$, $p<0,05$; *TNF- α* : $r=-0,18$, $p<0,05$), серед осіб з рівнем CD4-лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл зафіксовано зворотній зв'язок середньої сили (*IL-10*: $r=-0,47$, $p<0,05$; *TNF- α* : $r=-0,42$, $p<0,05$).

Виявлені зміни субпопуляції лімфоцитів у ВІЛ-інфікованих осіб, що характеризуються зміною кількості імунокомпетентних клітин з фенотипом CD⁺ і коефіцієнта їх співвідношення, підтверджують сучасну концепцію глобального імунного дисбалансу при прогресуванні захворювання [4, 6, 13].

Отримані результати співпадають з даними зарубіжних дослідників – баланс цитокінів відіграє важливу роль у ВІЛ-асоційованій імунній дисфункції, коли активується як протизапальна, так і прозапальна цитокінова ланки, з підвищенням вмісту *IL-10* і *TNF- α* [6, 8, 9, 10]. Також доведена асоціація високого рівня циркулюючого *TNF- α* з несприятливим перебігом інфекції [2, 4]. Припускається, що *IL-10* має негативні наслідки при ВІЛ-інфекції, внаслідок здатності безпосередньо впливати на реплікацію вірусу у Т-хелперах, моноцитах і дендритних клітинах [9]; диференційно модулювати апоптоз клітин пулу CD4⁺ і CD8⁺ лімфоцитів [14]; також *IL-10* може відновлювати блокаду Т-клітинної проліферативної відповіді у пацієнтів з відносно збереженою кількістю Т-хелперів, але ця здатність втрачається при прогресуванні недуги [15].

ВИСНОВКИ

1. Серед обстежених ВІЛ-інфікованих з кількістю CD4⁺ лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл достовірно частіше реєструвалися пізні стадії захворювання, тяжкий перебіг недуги, легеневий та позалегеновий туберкульоз, органічні ураження нервової системи, кахексія, вищий показник індексу опортуністичних інфекцій.

2. Імунний статус ВІЛ-інфікованих осіб характеризується недостатністю клітинної ланки імунної системи і змінами у цитокіновому статусі з підвищеною продукцією прозапального *TNF- α* і протизапального *IL-10*.

3. Імунний дисбаланс, що обумовлений змінами клітинного компоненту і рівнем цитокінів, більш виражений у ВІЛ-інфікованих осіб з рівнем CD4+ лімфоцитів ≤ 200 клітин/мкл.

4. Профіль цитокінів знаходиться у взаємодії з рівнем імунокомпетентних клітин, про що свідчить наявність кореляційних зв'язків між сироватковою концентрацією *IL-10* і *TNF- α* і Т-хелперів.

5. Виражені зміни рівня *IL-10* у пацієнтів на пізніх стадіях недуги та кореляційні зв'язки з індексом опортуністичних інфекцій і тяжкістю загального стану вказують на активне залучення даного цитокіну в імунопатогенез ВІЛ-інфекції.

Таким чином, визначення рівнів цитокінів *IL-10* і *TNF- α* можуть бути розглянуті в якості додаткових прогностичних маркерів прогресування ВІЛ-інфекції, а проведені імунологічні дослідження вказують на необхідність подальшого вивчення цитокінового ланцюга задля з'ясування патогенетичних зв'язків міжклітинної взаємодії при проградієнтному перебігу захворювання та потенціалу використання інтерлейкінів у терапевтичних цілях.

SUMMARY

IMMUNOLOGICAL CHANGES AND CYTOKINES PROFILE IN PATIENTS WITH HIV INFECTION

A.I. Piddubna, M.D. Chemych,

Sumy State University, Medical Institute, Sumy

The article presents the analysis of the profile of cytokines IL-4, IL-10, TNF- α and features of the disease in HIV-infected persons, depending on the level of immunosuppression. Established that the immune status of patients with HIV individuals is characterized by failure of cell compartment with an imbalance ratio of immune cells and increased production of proinflammatory TNF- α and anti-inflammatory IL-10.

Key words: *HIV infection, cytokines, cell immunity*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2010 [електронний ресурс] / UNAIDS // WHO Library. – 2010. – 364 р. – Режим доступу: <http://www.unaids.org/globalreport/>

2. Cytokine profiles in HIV-1 subtype infected individuals with different rates of diseases progression: a multiplex immunoassay / T. Chuenchitra, P. Chaitaveep, S. Sukwit (et al.) // *Journal of the Medical Association of Thailand*. – 2012. – Vol. 134, №5. – P. 116-123.
3. Segal J.L. A Novel Immunogen to Modulate Cytokine Production and Promote Immune System Reconstitution in HIV-AIDS / J.L. Segal, J.F. Thompson, R.A. Charter // *American Journal of Therapeutics* – 2012. – Vol. 19, №5. – P. 317-323.
4. TH1/TH2 cytokine levels as an indicator for disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection and response to antiretroviral therapy / C.E. Osakwe, C. Bleotu, M.C. Chifiriuc (et al.) // *Roum Arch Microbiol Immunol*. – 2010. – Vol. 69, №1. – P. 24-34.
5. Differences in immunoregulatory cytokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments of HIV-1-infected commercial sex workers in Benin / J. Lajoie, J. Poudrier, M. Massinga-Loembe (et al.) // *Mucosal Immunol*. – 2008. – Vol. 1, №4. – P. 309-316.
6. Functional state of CD4+ and CD8+ T lymphocytes and their role in the slow progression of HIV infection in pediatric patients / M.A. Alfonzo, A. Diaz, L. Siciliano (et al.) // *J Pediatr (Rio J)*. – 2012. – Vol. 88, №2. – P. 161-168.
7. Relationship between levels of inflammatory cytokines in the genital tract and CD4+ cell counts in women with acute HIV-1 infection / L.M. Bebell, J.A. Passmore, C. Williamson (et al.) // *Infect Dis*. – 2008. – Vol. 198, №5. – P. 710-714.
8. Associations of proinflammatory cytokine levels with lipid profiles, growth, and body composition in HIV-infected children initiating or changing antiretroviral therapy / J.S. Cervia, C.J. Chantry, M.D. Hughes (et al.) // *Pediatr Infect Dis J*. – 2010. – Vol. 29, №12. – P. 1118-1122.
9. Kwon D.S. Protective and detrimental roles of IL-10 in HIV pathogenesis / D.S. Kwon, D.E. Kaufmann // *Eur Cytokine Netw*. – 2010. – Vol. 21, №3. – P. 208-214.
10. Identification of three immunologic correlates for HIV type 1 pathogenesis in youth / W. Song, Y. Li, C.M. Wilson (et al.) // *AIDS Res Hum Retroviruses*. – 2011. – Vol. 27, №6. – P. 639-646.
11. Association of interleukin 4 VNTR polymorphism and HIV/AIDS in a north Indian seropositive patients / R.C. Sobti, N. Berhane, S.A.Mahdi (et al.) // *Mol Biol Rep*. – 2012. – Vol. 39, №3. – P. 3251-3257.
12. Host Factor Transcriptional Regulation Contributes to Preferential Expression of HIV Type 1 in IL-4-Producing CD4 T Cells / M. Zhang, A. Clausell, T. Robinson (et al.) // *J Immunol*. – 2012. – Vol. 189, №6. – P. 2746-2757.
13. Abnormal Immune Responses in Persons with Previous Extrapulmonary Tuberculosis in an In Vitro Model That Simulates In Vivo Infection with *Mycobacterium tuberculosis* / C.T. Fiske, A.S. de Almeida, A.K. Shintani (et al.) // *Clin Vaccine Immunol*. – 2012. – Vol. 19, №8. – P. 1142-1149.
14. Type 1/type 2 cytokine modulation of T-cell programmed cell death as a model for human immunodeficiency virus pathogenesis / M. Clerici, A. Sarin, R.L. Coffman (et al.) // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2004. – №91. – P. 1181.
15. In vitro restoration of T cell immune function in human immunodeficiency virus-positive persons: effects of interleukin (IL)-12 and anti-IL-10 / A.L. Landay, M. Clerici M, F. Hashemi (et al.) // *J Infect Dis*. – 2006. – №173. – P. 1185.