

УДК 616.98:578.828Н1V

## ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ДИСКОРДАНТНЫМ ОТВЕТом НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Е. В. Сайдакова<sup>1,\*</sup>, К. В. Шмагель<sup>1</sup>, Н. Г. Шмагель<sup>1</sup>,  
Л. Б. Королевская<sup>1</sup>, академик РАН В. А. Черешнев<sup>1,2</sup>

Поступило 24.04.2019 г.

Обследовали ВИЧ-инфицированных больных с различной эффективностью восстановления иммунной системы при проведении антиретровирусной терапии. В результате исследования было показано, что у больных с дискордантным ответом на лечение (пациенты с количеством CD4<sup>+</sup> Т-клеток <350/мкл крови после более чем двух лет терапии) на фоне низкого количества CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов формируется дефицит регуляторных CD4<sup>+</sup> Т-клеток (T<sub>рег</sub>). Вместе с тем у таких субъектов развитие иммунодефицита сопровождается увеличением доли T<sub>рег</sub> в пуле CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Накопление регуляторных Т-клеток в крови ВИЧ-инфицированных лиц с дискордантным ответом на лечение свидетельствует о высокой жизнеспособности этой субпопуляции Т-лимфоцитов.

*Ключевые слова:* ВИЧ-инфекция, антиретровирусная терапия, дискордантный ответ на лечение, регуляторные Т-лимфоциты.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524875584-587>

Назначение антиретровирусной терапии (АРТ) ВИЧ-инфицированным больным приводит к подавлению репликации вируса и увеличению числа периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, существенно замедляет развитие терминальной фазы заболевания и снижает уровень смертности от болезней, не ассоциированных со СПИД [1]. Вместе с тем часть ВИЧ-инфицированных пациентов (до 30%) не отвечает на лечение ростом количества CD4<sup>+</sup> Т-клеток крови и не преодолевает иммунодефицитное состояние, несмотря на низкие показатели вирусной нагрузки ВИЧ [2]. У таких больных, называемых иммунологическими неответчиками, или пациентами с дискордантным ответом на АРТ, по сравнению с субъектами, дающими стандартный ответ на лечение, значительно увеличен риск заболеваемости и смертности как от СПИД-ассоциированных заболеваний, так и от болезней, не ассоциированных со СПИД [2, 3].

Характерной чертой иммунологических неответчиков является высокий уровень иммунной активации [4, 5], которая, как известно, тесно связана с опустошением пула CD4<sup>+</sup> Т-клеток при ВИЧ-ин-

фекции [6]. Важная роль в контроле над активацией клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета принадлежит регуляторным Т-лимфоцитам (T<sub>рег</sub>) [7]. Показано, что при ВИЧ-инфекции подавление иммунной активации в значительной мере зависит от присутствия T<sub>рег</sub> [8]. Необходимо отметить, что эти клетки являются одной из субпопуляций CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и могут поражаться ВИЧ [9]. При этом состояние субпопуляции T<sub>рег</sub> при дискордантном ответе на сегодняшний день недостаточно изучено. Целью настоящей работы было установить нарушения в пуле регуляторных Т-клеток у ВИЧ-инфицированных больных с дискордантным ответом иммунной системы на антиретровирусную терапию.

План работы был одобрен этическим комитетом Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (рег. № комитета IRB00008964). От каждого участника было получено письменное информированное согласие. Обследованы три клинические группы (табл. 1):

1) ВИЧ-инфицированные иммунологические ответчики (ИО) с числом CD4<sup>+</sup> Т-клеток более 350 на 1 мкл крови после двух лет непрерывного лечения;

2) ВИЧ-позитивные иммунологические неответчики (ИН) с количеством CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов менее 350 на 1 мкл крови через два года терапии;

<sup>1</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской Академии наук, Пермь

<sup>2</sup> Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской Академии наук, Екатеринбург

\*E-mail: [radimira@list.ru](mailto:radimira@list.ru)

**Таблица 1.** Клинические характеристики ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию

Показатель	ИН	ИО	К
	(1)	(2)	(3)
Число обследованных	20	21	21
Возраст, лет	39* (33–42)	38 (34–42)	33 (29–41)
Мужчины, %	10 (50,0%)	9 (42,9%)	7 (33,3%)
Продолжительность ВИЧ-инфекции, лет	7 (4–13)	10 (6–13)	–
Продолжительность АРТ, лет	4 (2–8)	5 (3–7)	–
Вирусная нагрузка ВИЧ, копий/мл	<50	<50	–
CD4 <sup>+</sup> Т-лимфоциты, клеток/мкл	270 (208–303) $P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$	535 (438–656) $P_{2-3} < 0,001$	804 (595–1025)

Примечание: \* — указаны медиана и интерквартильный размах (25–75 перцентиль).

3) неинфицированные добровольцы (контрольная группа, К).

Статистические расчёты выполнены по методу Манна–Уитни.

Численность CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов крови оценивали с использованием коммерческого набора Immunocytometry Systems (BDIS) Simultest™ (“Becton Dickinson”, США) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (“Becton Dickinson”, США). Количество регуляторных Т-клеток (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>FOXP3<sup>+</sup>) определяли на проточном цитофлуориметре Fortessa (“Becton Dickinson”, США). Уровень вирусной нагрузки ВИЧ устанавливали наборами Versant HIV-1 RNA 3.0 assay b на анализаторе Versant 440 (“Siemens”, Германия).

В выборке рассчитывали медиану и интерквартильный размах (25–75 перцентиль) или средние арифметические и ошибки средних. Достоверность различий между группами устанавливали на основе U-критерия Манна–Уитни или T-критерия Стьюдента. Корреляционный анализ выполняли по методу Пирсона. Проведение статистических расчётов и построение графиков осуществляли с использованием компьютерных программ Stata 11 SE и Statistica 6.

Пациенты всех клинических групп были сопоставимы по возрасту и половому составу (табл. 1). ИН не отличались от ИО ни по продолжительности ВИЧ-инфекции, ни по длительности лечения. В со-

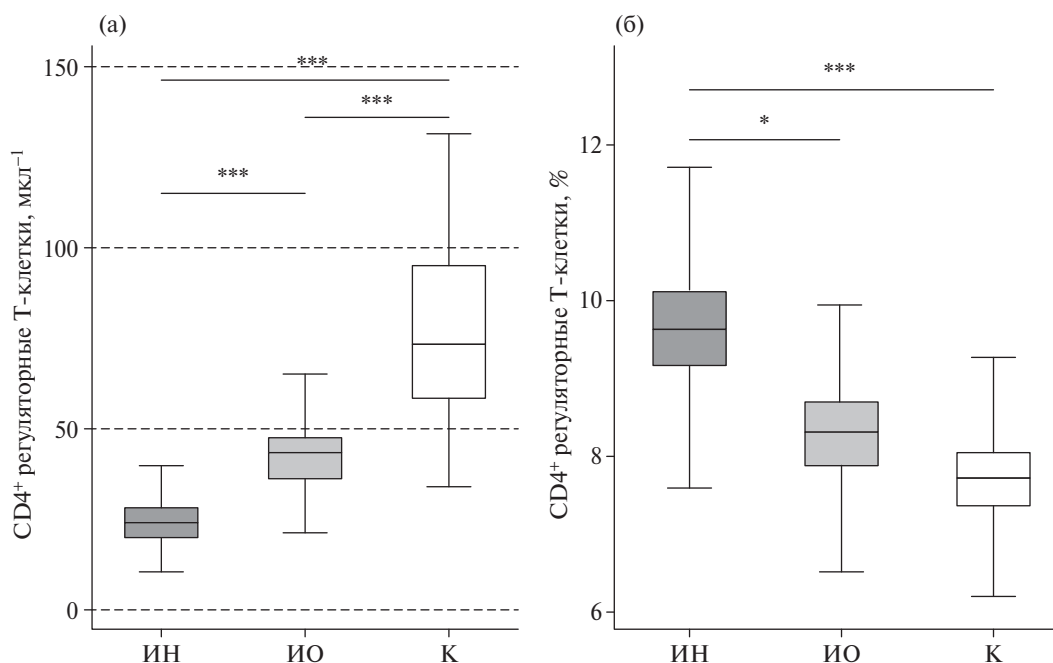
ответствии с критериями отбора количество CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов крови было значительно снижено в группе ИН по сравнению с группами ИО и К ( $P < 0,001$ ). При этом, несмотря на эффективный ответ на АРТ, у пациентов группы ИО число периферических CD4<sup>+</sup> Т-клеток было статистически значимо снижено по сравнению с соответствующим показателем контрольной группы ( $P < 0,001$ ).

У ВИЧ-позитивных пациентов, получающих лечение, обнаружен дефицит регуляторных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Абсолютное количество T<sub>рег</sub> было снижено в крови всех ВИЧ-инфицированных субъектов по сравнению с соответствующими показателями здоровых людей (рис. 1а). Более того, у пациентов с дискордантным ответом на АРТ число T<sub>рег</sub> было ещё ниже, чем у больных, дающих стандартный ответ на лечение ( $P < 0,001$ ). Глубина дефицита регуляторных Т-лимфоцитов была связана с уменьшением общего количества CD4<sup>+</sup> Т-клеток в крови ВИЧ-позитивных больных ( $R = 0,900$ ;  $P < 0,001$ ).

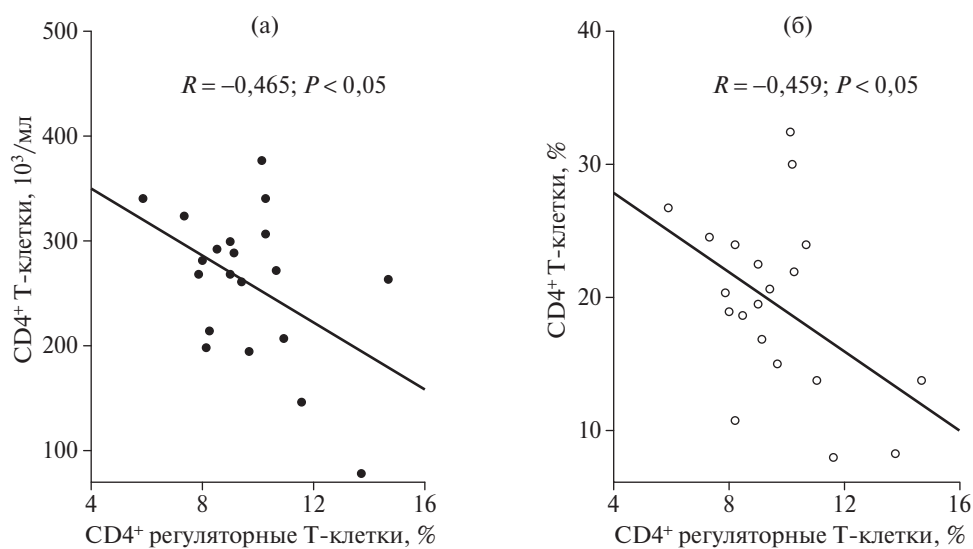
Было показано, что у ВИЧ-инфицированных пациентов одновременно со снижением численности T<sub>рег</sub> изменяется доля этих лимфоцитов в пуле CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Так, у больных группы ИН относительное количество регуляторных Т-лимфоцитов превышало не только соответствующие значения здоровых субъектов ( $P < 0,001$ ; рис. 1б), но и пациентов группы ИО ( $P < 0,05$ ). Следует отметить, что у ВИЧ-инфицированных больных, дающих стандартный ответ на лечение, процентное содержание T<sub>рег</sub> оставалось на уровне, характерном для контрольной группы.

Таким образом, нами было установлено, что у ВИЧ-инфицированных иммунологических неответчиков на фоне развития глубокого дефицита CD4<sup>+</sup> Т-клеток происходит увеличение доли регуляторных Т-лимфоцитов. Данное наблюдение было подтверждено корреляционным анализом. В группе ИН относительное количество T<sub>рег</sub> росло с уменьшением абсолютного количества CD4<sup>+</sup> Т-клеток ( $R = -0,465$ ;  $P < 0,05$ ; рис. 2а). Более того, представленная зависимость сохранялась и при сравнении относительного количества CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов крови с процентным содержанием T<sub>рег</sub> ( $R = -0,459$ ;  $P < 0,05$ ; рис. 2б).

Полученные данные расширяют существующие представления о свойствах регуляторных Т-лимфоцитов. Ранее было показано, что ВИЧ-инфекция может оказывать значительное влияние на фенотип и количество T<sub>рег</sub>. Так, было установлено, что эти лимфоциты более уязвимы к инфицированию ВИЧ, чем конвенциональные (нерегуляторные) CD4<sup>+</sup>



**Рис. 1.** Изменение абсолютной и относительной численности регуляторных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов с эффективным и дискордантным ответом иммунной системы на антиретровирусную терапию. По оси абсцисс — группы обследованных: ИН — иммунологические неответчики, ИО — иммунологические ответчики, К — контроль. Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные (прямоугольники) и 10–90%-е размахи (вертикальные отрезки) (а). Указаны средние арифметические (линии), ошибки средних (прямоугольники) и стандартные отклонения (вертикальные отрезки) (б). Статистические расчёты выполнены по методам Манна—Уитни и Стьюдента. Различия между группами: \*  $P < 0,05$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .



**Рис. 2.** Зависимость относительного содержания регуляторных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов от абсолютной (а) и относительной (б) численности общего пула CD4<sup>+</sup> Т-клеток у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию. Представлены индивидуальные значения (точки) и линии регрессии. Корреляционный анализ проведён по методу Пирсона.

Т-клетки [10]. Более того, у ВИЧ-позитивных больных было отмечено снижение экспрессии матричной РНК FOXP3 в пуле T<sub>рег</sub> [10]. Несмотря на это, полученные нами данные свидетельствуют о том, что по сравнению с конвенциональными CD4<sup>+</sup> Т-клет-

ками T<sub>рег</sub> менее чувствительны как к действию ВИЧ, так и к влиянию терапии. Представленный вывод согласуется с результатами других исследователей, определявших содержание регуляторных Т-клеток у нелеченных ВИЧ-позитивных больных и пациен-

тов, начинающих принимать терапию [11], а также у хронически инфицированных субъектов, долгое время получавших АРТ [12]. В каждом из представленных исследований основные нарушения были отмечены не в пуле  $T_{reg}$ , а среди конвенциональных  $CD4^+$  Т-клеток. Полученные нами результаты демонстрируют, что регуляторные Т-лимфоциты сохраняют свои свойства и при дискордантном ответе на АРТ.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ проекта 17–54–30006).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Battegay M., Nüesch R., Hirschel B., Kaufmann G.R.* The Lancet Infectious Diseases. 2006. V. 6. P. 280–287.
2. *Baker J.V., Peng G., Rapkin J., et al.* // AIDS. 2008. V. 22. P. 841–848.
3. *Lapadula G., Cozzi-Lepri A., Marchetti G., et al.* // AIDS. 2013. V. 27. P. 769–779.
4. *Piconi S., Trabattoni D., Gori A., et al.* // AIDS. 2010. V. 24. P. 1991–2000.
5. *Marchetti G., Gori A., Casabianca A., et al.* // AIDS. 2006. V. 20. P. 1727–1736.
6. *Hunt P.W., Martin J.N., Sinclair E., et al.* // J. Infect. Dis. 2003. V. 187. P. 1534–1543.
7. *Sakaguchi S.* // Annu. Rev. Immunol. 2004. V. 22. P. 531–562.
8. *Eggena M.P., Barugahare B., Jones N., et al.* // J. Immunol. 2005. V. 174. P. 4407–4414.
9. *Moreno-Fernandez M.E., Zapata W., Blackard J.T., Franchini G., Chougnnet C.A.* // J. Virol. 2009. V. 83. P. 12925–12933.
10. *Oswald-Richter K., Grill S.M., Shariat N., et al.* // PLoS Biol. 2004. V. 2. P. E198.
11. *Presicce P., Orsborn K., King E., et al.* // PLoS One. 2011. V. 6. P. e28118.
12. *Nobrega C., Horta A., Coutinho-Teixeira V., et al.* // AIDS. 2016. V. 30. P. 1175–1186.

## CHANGES IN THE REGULATORY T-LYMPHOCYTE COUNTS IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH A DISCORDANT RESPONSE TO ANTIRETROVIRAL THERAPY

**E. V. Saidakova<sup>1</sup>, K. V. Shmagel<sup>1</sup>, N. G. Shmagel<sup>1</sup>,  
L. B. Korolevskaya<sup>1</sup>, Academician of the RAS V. A. Chereshev<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation*

Received April 24, 2019

We examined HIV-infected patients with different efficiency of immune system restoration during the course of antiretroviral therapy. The study showed that against the background of low  $CD4^+$  T-cell counts, subject with a discordant immunologic response (patients with less than 350  $CD4^+$  T-cells per  $\mu$ l of blood after more than two years of treatment) develop a regulatory  $CD4^+$  T-cell ( $T_{reg}$ ) deficiency. Furthermore, in these patients, the immunodeficiency is accompanied by an increase in the  $T_{reg}$  frequency. Accumulation of regulatory T-cells in the blood of HIV-infected subjects with discordant response to the treatment indicates a high viability of this T-cell subset.

**Keywords:** HIV-infection, antiretroviral therapy, discordant immunologic response, regulatory T-cells.