

© Коллектив авторов, 2013
УДК 616.9:612.017.1: 615.281-07-036.8

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ИММУНОСУПРЕССИИ И ВЫСОКОАКТИВНОЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА СЫВОРОТОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИЛ-17 И ИЛ-10 У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Д.Г. Живица

ГЗ "Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины",
г. Запорожье

Проанализированы уровни ИЛ-17 и ИЛ-10 в сыворотке крови больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от стадии заболевания, степени иммунодефицита, проведения высокоактивной антиретровирусной терапии. Под наблюдением находилось 70 больных с ВИЧ-инфекцией. Среди исследуемых больных 44 пациента получали антиретровирусную терапию. При ВИЧ-инфекции отмечается повышение концентрации ИЛ-10, особенно у пациентов с тяжелой иммуносупрессией ($CD4 < 200$ мкл⁻¹). У больных ВИЧ-инфекцией с тяжелой иммуносупрессией, которые не получают высокоактивную антиретровирусную терапию, отмечается повышение содержания ИЛ-10 и ИЛ-17 в сыворотке крови, что может свидетельствовать о системной иммунной активации.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, ИЛ-10, ИЛ-17, антиретровирусная терапия, CD4-лимфоцит.

На протяжении последнего времени Украина по темпам роста количества пациентов с ВИЧ-инфекцией заняла одно из ведущих мест в Восточной Европе. Характерный признак ВИЧ-инфекции – тяжелый иммунодефицит, обусловленный прогрессирующим снижением числа CD4-лимфоцитов (Т-хелперов) и их функциональной недостаточностью. Как известно, оппортунистические инфекции в большинстве случаев развиваются при количестве CD4-лимфоцитов меньше 200 мкл⁻¹ и являются главной причиной клинических проявлений и смерти при ВИЧ-инфекции [2].

В настоящее время выделяют четыре основных субпопуляции Т-хелперов: Тх1 (Т-хелперы 1 типа), Тх2 (Т-хелперы 2 типа), Тх17 (Т-хелперы 17) и Трег (Т-хелперы регуляторные). Все они различаются спектром секретируемых цитокинов и регуляторными функциями [7, 8].

Изучение функций Тх17 показало, что они выделяют интерлейкин 17 (ИЛ-

17), который является мощным провоспалительным цитокином и играют важную роль при защите организма от внеклеточных бактерий и грибов, а также при аутоиммунных заболеваниях [3, 5]. Выяснено, что Трег экспрессируют транскрипционный фактор Foxp3 (forkhead box P3), выделяют интерлейкин 10 (ИЛ-10) и путем контактного взаимодействия вызывают угнетение иммунных реакций [9].

Противовоспалительные эффекты ИЛ-10 связаны с угнетением продукции провоспалительных цитокинов [2], стимуляцией активности В-лимфоцитов. В нескольких исследованиях показано, что повышение содержания ИЛ-10 наблюдается у пациентов с ВИЧ-инфекцией, и что нейтрализация повышенного количества ИЛ-10 может стимулировать активность Т-лимфоцитов [1, 2, 4]. Таким образом, исследования роли ИЛ-17 и ИЛ-10 при ВИЧ-инфекции довольно ограничены, а изучение их совместного влияния и функ-

ционирования у пациентов с ВИЧ-инфекцией не проводилось.

Цель исследования – оценка концентрации ИЛ-17 и ИЛ-10 в сыворотке крови больных ВИЧ-инфекцией на разных стадиях заболевания, с разной степенью иммунодефицита, а также в зависимости от проведения высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ).

Материалы и методы

Одномоментное поперечное исследование было проведено в клинике кафедры инфекционных болезней Запорожской медицинской академии последиplomного образования. В исследовании было 70 больных с ВИЧ-инфекцией, которые находились на учете в Запорожском областном СПИД-центре. Средний возраст больных – 34 года (от 23 до 47). Женщин – 30, мужчин – 40. У 25 пациентов диагностирована I-II клиническая стадия ВИЧ-инфекции, у 22 – III клиническая стадия, у 23 – IV клиническая стадия (согласно классификации ВОЗ, 2006). Средний срок пребывания на диспансерном учете с момента выявления ВИЧ-инфекции – 5 лет (от 1 до 10 лет). Среди обследованных больных 45 пациентов получали ВААРТ в течение от 1 до 5 лет.

В зависимости от степени иммунодефицита (по уровню CD4 -лимфоцитов) и наличия или отсутствия ВААРТ предварительно все больные были распределены в четыре группы: 1 группа – 28 пациентов с уровнем CD4 -лимфоцитов более 200 мкл⁻¹, которые получали ВААРТ; 2 группа – 16 пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов менее 201 мкл⁻¹, которые получали ВААРТ; 3 группа – 16 пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов более 200 мкл⁻¹, которые не получали ВААРТ; 4 группа – 10 пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов меньше 201 мкл⁻¹, которые не получали ВААРТ.

Объем иммунологического обследования включал определение абсолютного и относительного уровней Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD4+), Т-киллеров (CD8+), иммуно-регуляторного индекса (CD4+/ CD8+) с помощью моноклональных антител на проточном цитофлуориметре COULTER® EPICS® XL (Beckman Coulter, США).

Определение концентрации ИЛ-17 и ИЛ-10 в сыворотке крови проводилось с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Вектор-Бест (Россия). Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в крови методом ПЦР определялся с использованием тест-систем Abbott Realtime™ HIV-1 на амплификаторе Abbott Real-time m2000rt.

Контрольную группу составили 11 ВИЧ-негативных практически здоровых лиц в возрасте 25 – 45 лет.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 (STATSOFT). Большинство исследуемых признаков не имели нормального распределения, поэтому для дальнейшего статистического анализа использовались непараметрические методы. Данные представлены в виде Me (LQ-UQ), где Me – медиана, LQ-UQ интерквартильный размах. При сравнении нескольких независимых групп использовался дисперсионный анализ Краскела-Уолиса. Для сравнения двух независимых групп использовался U критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при P<0,05. Для проведения корреляционного анализа использовался ранговый метод Спирмена.

Результаты и их обсуждение

При сравнении концентраций ИЛ-17 и ИЛ-10 у больных с ВИЧ-инфекцией разного пола и возраста, а также с разными стадиями заболевания (по классификации ВОЗ, 2006) значимых отличий и никаких корреляционных связей выявлено не было. Отмечалась тенденция к повышению содержания ИЛ-17 у больных с IV клинической стадией ВИЧ-инфекции.

При сравнении средних показателей сывороточного ИЛ-17 у больных исследуемых групп (табл. 1) зарегистрировано значимое повышение, в сравнении с контрольной группой, концентрации сывороточного ИЛ-17 у больных с ВИЧ-инфекцией со значительной степенью иммунодефицита – с уровнем CD4-лимфоцитов ниже 200 мкл⁻¹, которые не получали ВААРТ (4 группа).

Таблица 1

Концентрация ИЛ-17 и ИЛ-10 у больных с разным числом CD4-лимфоцитов в зависимости от проведения ВААРТ Me (LQ-UQ)

Показатель	Контрольная группа (n=11)	ВААРТ		без ВААРТ		Р Краскела-Уолиса
		CD4> 200 (n=28)	CD4< 201 (n=16)	CD4> 200 (n=16)	CD4< 201 (n=10)	
ИЛ-10 (пг/мл)	0,1 (0-0,8)	0,1 (0-0,9)	1,75 (0-5,56)*	6 (1-12,6)*	6,7 (4,7-10)*	<0,01
ИЛ-17 (пг/мл)	0,47 (0,1-1,4)	0,1 (0-0,9)	0,28 (0-1,42)	0,25 (0-1,7)	1,22 (0,6-2,6)*	0,021
ИЛ-10/ИЛ-17	0	0	0,36 (0-9,9)	7,28 (2,6-11,2)*	4,9 (1,5-10,6)*	<0,01

* – $P < 0,05$ по критерию Мана-Уитни в сравнении с контрольной группой

Отмечено наличие прямой корреляции средней силы ($R=0,41$, $P < 0,05$) между количеством ИЛ-17 и уровнем вирусной нагрузки ВИЧ. Показатели в других группах значимо не отличались от контрольной группы. Корреляционный анализ также не показал никаких корреляций между содержанием ИЛ-17 в сыворотке крови и другими иммунологическими и лабораторными показателями у обследованных больных.

При исследовании серологических уровней ИЛ-10 выявлено повышение содержания этого цитокина у 69% пациентов. Отмечено достоверное превышение показателей ИЛ-10 у пациентов второй, третьей и четвертой групп. Выявлена прямая корреляция средней силы ($R=0,52$, $P < 0,05$) между количеством ИЛ-10 и уровнем вирусной нагрузки ВИЧ.

Во второй группе больных, получавших ВААРТ, средние показатели ИЛ-10 были в 3 раза ниже, чем у больных обеих групп, не получавших ВААРТ. У данных больных имела место и высокая вирусная нагрузка ($3,7 \log_{10} - 5,6 \log_{10}$), значительно превосходящая показатели пациентов, получавших антиретровирусные препараты.

Показатель соотношения двух исследуемых цитокинов (ИЛ-10/ ИЛ-17) был

достоверно повышен в обеих группах больных, не получавших ВААРТ. У больных четвертой группы средние значения этого показателя были в 1,5 раза ниже, чем в третьей группе. Это подтверждает нарастание количества провоспалительного ИЛ-17 у пациентов с тяжелой иммуносупрессией не получавших ВААРТ.

В то же время значимых корреляционных связей между содержанием ИЛ-10 и уровнем CD4-лимфоцитов, а также с другими лабораторными показателями не выявлено.

В нашем исследовании показано, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией имеет место повышение количества сывороточного ИЛ-10 и ИЛ-17 при тяжелой иммуносупрессии. Снижение соотношения этих цитокинов у пациентов с тяжелой иммуносупрессией не получающих ВААРТ свидетельствует о более значительном повышении провоспалительных реакций на фоне прогрессирующего развития СПИД-индикаторных заболеваний. Применение ВААРТ позволяет значительно подавить репликацию ВИЧ (что подтверждается снижением вирусной нагрузки). Параллельно вначале происходит снижение активности провоспалительных цитокинов (ИЛ-17), а затем и противовоспалительных (ИЛ-10). Выявленные изменения

соотношения цитокинов у наших больных можно объяснить следующим.

При ВИЧ-инфекции отмечается существенное уменьшение субпопуляции Тх17, в том числе в лимфоидных тканях ассоциированных со слизистыми оболочками (желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей). Именно здесь Тх17 выполняют очень важные функции контроля локальной микрофлоры и предупреждения ее транслокации в системный кровоток с последующей диссеминацией по организму. Ведущую роль при этом играет локальная секреция ИЛ-17, который также поддерживает активную пролиферацию гастроинтестинальных энтероцитов, что является активным защитным механизмом [6,7,8].

Угнетение функции Тх17, за счет их разрушения при ВИЧ-инфекции, приводит к нарушению целостности эпителия слизистых оболочек и транслокации микроорганизмов и их токсинов непосредственно в кровь с дальнейшим системным распространением. Как результат, имеет место системная иммунная активация, которая приводит к взрыву репликации ВИЧ в организме с дальнейшим резким снижением количества CD4-лимфоцитов и прогрессированием ВИЧ-инфекции. При этом у больных развиваются разные оппортунистические инфекции, в частности бактериальные и грибковые, при которых Тх17 играют важную защитную роль. Соответственно имеет место повышение продукции цитокинов Тх17, в частности ИЛ-17, уже не только локально на слизистых оболочках, а также и в сыворотке крови. Это и зафиксировано у больных 4 группы. У большинства больных этой группы имели место тяжелые СПИД-индикаторные поражения, в том числе бактериальной и грибковой этиологии. Одновременно происходит активация секреции противовоспалительного ИЛ-10 и его количество также нарастает параллельно с вирусной нагрузкой ВИЧ. При тяжелой иммуносупрессии и развитии оппортунистических инфекций секреция ИЛ-17 становится более значительной.

Назначение ВААРТ приводит к уг-

нетению вирусной репликации, повышению количества Т-хелперов, в том числе Тх17, что восстанавливает их функцию на слизистых оболочках. Следствием этого являются уменьшение транслокации микрофлоры и угнетение системной иммунной активации, что проявляется в снижении концентрации провоспалительных цитокинов (в том числе ИЛ-17). Вслед за этим происходит снижение активности противовоспалительных реакций, что проявляется снижением количества ИЛ-10.

Повышенное содержание ИЛ-17 и ИЛ-10 в сыворотке крови больных с ВИЧ-инфекцией может рассматриваться как маркер системной иммунной активации у пациентов с тяжелой иммуносупрессией. Разработка и применение сопутствующей ВААРТ иммуномодулирующей терапии с блокадой или активацией секреции конкретных цитокинов может повысить эффективность лечения пациентов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции при развитии СПИД-индикаторных поражений.

Выводы

1. Уровень сывороточного ИЛ-17 и ИЛ-10 у больных с ВИЧ-инфекцией не зависит от пола, возраста больных и клинической стадии заболевания.
2. При ВИЧ-инфекции отмечается повышение концентрации ИЛ-10, особенно у пациентов с тяжелой иммуносупрессией ($CD4 < 200$ мкл⁻¹).
3. У больных ВИЧ-инфекцией с тяжелой иммуносупрессией ($CD4 < 200$ мкл⁻¹), которые не получают высокоактивную антиретровирусную терапию, отмечается повышение содержания ИЛ-10 и ИЛ-17 в сыворотке крови.
4. Повышение содержания ИЛ-10 и ИЛ-17 в сыворотке крови у больных с ВИЧ-инфекцией может рассматриваться как маркер системной иммунной активации на фоне значительного снижения количества CD4-лимфоцитов у пациентов с конечными стадиями заболевания.

Литература

1. Cytokine profile in human immunodeficiency virus positive patients with and

- without tuberculosis / S.K. Agarwal [et al.] // J. Assoc. Physicians. India. – 2001. – Vol. 49. – P. 799-802.
2. Breen E.C. Pro- and anti-inflammatory cytokines in human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome / E.C. Breen // Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol. 95. – P. 295-304.
 3. CD4 T cells mediate abscess formation in intra-abdominal sepsis by an IL-17-dependent mechanism / D.R. Chung [et al.] // J. Immunol. 2003. – Vol. 170. – P. 1958-1963.
 4. Roles of Toll-like receptor 4 and IL-23 in IL-17 expression in response to *Klebsiella pneumoniae* infection / K.I. Happel [et al.] // J. Immunol. – 2003. – Vol. 170. – P. 4432-4436.
 5. Endogenous IL-17 as a mediator of neutrophil recruitment caused by endotoxin exposure in mouse airways / M. Miyamoto [et al.] // J. Immunol. – 2003. – Vol. 170. – P. 4465-4472.
 6. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid / D. Mucida [et al.] // Science. – 2007. – Vol. 317. – P. 256-260.
 7. Intracellular production of type I and type II cytokines during HIV-1 progression in Thai patients / N. Onlamoon [et al.] // Asian. Pac. J. Allergy. Immunol. – 2003. – Vol. 21. – P. 43-48.
 8. Interleukin-17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice / E. Tartour [et al.] // Cancer. Res. – 1999. – Vol. 59. – P. 3698-3704.
 9. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing ROR gamma function / L. Zhou [et al.] // Nature. – 2008. – Vol. 453. – P. 236-240.

**EFFECT OF THE DEGREE OF IMMUNOSUPPRESSION
AND HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY ON SERUM IL-17
AND IL-10 LEVEL IN PATIENTS WITH HIV-INFECTION**

D.G. Zhyvytsia

We analyzed IL-17 and IL-10 serum levels in HIV-infected patients with different stage of disease, degree of immunodeficiency and treatment. We observed 70 patients with HIV infection. Among the patients studied 44 patients on antiretroviral therapy. HIV infection is marked increase in the concentration of IL-10, especially in patients with severe immunosuppression (CD4 <200 ml-1). In HIV-infected patients with severe immunosuppression, which do not receive highly active antiretroviral therapy, there is an increase of IL-10 and IL-17 in serum, which may indicate a systemic immune activation.

Key words: *HIV-infection, IL-17, IL-10, HAART, CD4-cell.*

Живица Д.Г. – канд. мед. наук, доц., зав. кафедрой инфекционных болезней ГЗ "Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины", г. Запорожье.

E-mail: naukazmapo@gmail.com.