

# Особенности параметров клеточного иммунного ответа и цитокинового статуса у ВИЧ-инфицированных пациентов с хронической болезнью почек

М.М. Гаджикулиева<sup>1</sup>, Г.В. Волгина<sup>1</sup>, Н.Д. Ющук<sup>1</sup>, И.П. Балмасова<sup>2</sup>, М.М. Гультяев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, Российская Федерация

<sup>2</sup> Лаборатория патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний НИМСИ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, Российская Федерация

## Characteristics of cell immune response and cytokine status parameters in HIV-infected patients with chronic kidney disease

М.М. Gadzhikulieva<sup>1</sup>, G.V. Volgina<sup>1</sup>, N.D. Yushchuk<sup>1</sup>, I.P. Balmasova<sup>2</sup>, M.M. Gultyayev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 Delegatskaya str., build. 1, Moscow, 127473, Russian Federation

<sup>2</sup> Laboratory of pathogenesis and treatment of infectious diseases of A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 Delegatskaya str., build. 1, 127473, Moscow, Russian Federation

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, иммунный ответ, хроническая болезнь почек, маркеры повреждения почек, цитокиновый статус

### Резюме

**Введение:** несмотря на достижения в изучении иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции, остаются нерешенными вопросы в области диагностики особенностей клеточного иммунного ответа, цитокинового профиля у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХБП. Исследования в этом направлении создадут предпосылки для более полного понимания механизмов повреждения почек при ВИЧ-инфекции, что является актуальным и практически важным.

**Цель исследования:** определить роль иммунных факторов на основе изучения клеточного и цитокинового звеньев иммунного ответа в патогенезе поражения почек при ВИЧ-инфекции.

**Материал и методы:** исследование показателей клеточного и цитокинового звеньев иммунного ответа проведено у 30 ВИЧ-инфицированных пациентов (средний возраст  $31,7 \pm 6,2$  года) с ХБП. Группу сравнения составили 10 пациентов с ВИЧ-инфекцией без почечной патологии. Контрольную группу составили здоровые лица – 24 человека для анализа иммунного статуса и 15 человек для оценки нормальных показателей цитокинового профиля. Изучение клеточного состава лимфоцитов типовой иммунограммы выполнено на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II. Определение в сыворотке крови концентрации цитокинов проведено методом твердофазного ИФА на многоканальном фотометре Infinite F50.

**Результаты:** у пациентов с ВИЧ-инфекцией поражение почек (наличие протеинурии, снижение СКФ) развивалось на фоне снижения содержания в крови Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов (CD3+/CD4+) ( $0,2 \times 10^9/\text{л}$  и  $0,4 \times 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p=0,015$ ) при росте числа цитотоксических Т-клеток (CD3+/CD8+), ИФН $\gamma$ , ИЛ-10, ИЛ-13, ТФР $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . При проведении корреляционного

Адрес для переписки: Проф. Гаджикулиева Мадина Маратовна  
e-mail: madina67@mail.ru

Corresponding author: Prof. Madina M. Gadzhikulieva  
e-mail: madina67@mail.ru

анализа с хелперной популяцией Т-лимфоцитов были связаны уровни цитокина профиброгенного действия – ИЛ-13, контролирующего гуморальный иммунный ответ ( $r=0,671$ ,  $p=0,034$ ), и ФНО- $\alpha$  ( $r=-0,733$ ,  $p=0,025$ ), регулирующего секрецию ТФР- $\beta$ . При снижении уровня CD4+-лимфоцитов менее 200 клеток/мкл и повышении концентрации РНК ВИЧ в крови более 100.000 копий/мл у ВИЧ-инфицированных пациентов с поражением почек отмечалось статистически значимое повышение ФНО- $\alpha$  (при уровне CD4+ лимфоцитов более и менее 200 клеток/мкл – 19,0 пг/мл и 24,2 пг/мл соответственно,  $p=0,017$ ; при уровне РНК ВИЧ более и менее 100 000 копий/мл – 24,4 пг/мл и 19,7 пг/мл соответственно,  $p=0,012$ ). Установлена прямая корреляционная связь ФНО- $\alpha$  ( $r=0,683$ ,  $p=0,042$ ) с протеинурией и обратная со скоростью клубочковой фильтрации ( $r=-0,755$ ,  $p=0,031$ ).

**Заключение:** у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХБП выявлены разнонаправленные изменения в показателях типовых иммунограмм, цитокинового статуса. Поражение почек развивалось на фоне более выраженного падения содержания в крови Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов с преобладанием провоспалительных и иммуносупрессорных реакций. В формировании повреждения почек при ВИЧ-инфекции установлена ведущая роль ФНО- $\alpha$  в сочетании с депрессией иммунной системы и высокой вирусной нагрузкой.

### Abstract

**Introduction:** despite advances in the study of the immunopathogenesis of HIV-infection, many aspects of diagnosis of the characteristics of the cellular immune response and the cytokine profile in HIV-infected patients with CKD remain unanswered. Answering these questions can provide a more complete understanding of the mechanisms of kidney damage in HIV-infection.

**The study aimed** to determine the role of immune factors based on the study of the cellular and cytokine immune response in the pathogenesis of kidney damage in HIV-infection.

**Material and methods:** the study involved 30 HIV-infected patients with chronic kidney disease (mean age  $31.7 \pm 6.2$  years). The comparison group consisted of 10 patients with HIV-infection without renal pathology. The control groups of 24 and 15 healthy individuals were used to analyze the immune status and normal cytokine profile, respectively. The study of the cellular composition of lymphocytes of a typical immunogram was performed on a BD FACSCanto II flow cytometer. The determination of the concentration of cytokines in blood serum was carried out by the method of solid-phase ELISA on a multichannel photometer Infinite F50.

**Results:** in patients with HIV-infection kidney damage (presence of proteinuria, decreased GFR) developed against a background of a decrease in the blood content of the T-helper subpopulation of lymphocytes (CD3+/CD4+) ( $0.2 \times 10^9/1$  and  $0.4 \times 10^9/1$ , respectively,  $p=0.015$ ) with an increase in the number of cytotoxic T cells (CD3+/CD8+), IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-13, TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$ . A correlation analysis was found between the helper population of T-lymphocytes and the cytokine profibrotic action levels IL-13 that controls the humoral immune response ( $r=0.671$ ,  $p=0.034$ ), and TNF $\alpha$  ( $r=-0.733$ ,  $p=0.025$ ) that regulates secretion TGF $\beta$ . In patients with a decreased level of CD4+ lymphocytes of less than 200 cells/ $\mu$ l and an increase in the concentration of HIV RNA in the blood of more than 100,000 copies/ml in HIV-infected patients with kidney damage, a statistically significant increase in TNF $\alpha$  was observed (with a level of CD4+ lymphocytes of more and less than 200 cells/ $\mu$ l – 19.0 pg/ml and 24.2 pg/ml, respectively,  $p=0.017$ ; with HIV RNA levels of more and less than 100,000 copies/ml, 24.4 pg/ml and 19.7 pg/ml, respectively,  $p=0.012$ ) A direct correlation was established between TNF $\alpha$  ( $r=0.683$ ,  $p=0.042$ ) and proteinuria, and the inverse with glomerular filtration rate ( $r=-0.755$ ,  $p=0.031$ ).

**Conclusion:** in HIV-infected patients with CKD, changes were revealed in the parameters of typical immunograms and cytokine status. Kidney damage developed against the background of a more pronounced drop in the blood T-helper subpopulation of lymphocytes with a predominance of pro-inflammatory and immunosuppressive reactions. The leading role of TNF $\alpha$  in combination with depression of the immune system and high viral load in the formation of kidney damage in HIV-infection has been established.

**Key words:** HIV-infection, immune response, chronic kidney disease, markers of kidney damage, cytokine status

### Введение

Интерес к проблеме поражения почек при ВИЧ-инфекции растет во всем мире. Связанное с ВИЧ-инфекцией острое и хроническое почечное повреждение может быть обусловлено разными патогенетическими механизмами, ведущими к широ-

кому спектру клинических проявлений [1-3]. Установлено, что непосредственное воздействие вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) связано с развитием ВИЧ-ассоциированной нефропатии (ВИЧ-АН) и тромботической микроангиопатии (ТМА), в патогенезе которой ВИЧ может быть основным, но не единственным фактором. При ВИЧ-АН по-

вреждение почечных паренхиматозных клеток обусловлено цитопатическим действием вируса, интраклеточной экспрессией генов ВИЧ, приводящей к повреждению эпителия клубочков и эпителиоцитов канальцев, дисрегуляцией генов, определяющих дифференцировку и клеточный цикл клеток. Развитие ТМА, ассоциированной с ВИЧ, может быть опосредовано прямым воздействием вируса, косвенным влиянием секретируемых цитокинов или действием ВИЧ-ассоциированных протеинов (Tat и gp120) на эндотелий с потерей его тромборезистентного фенотипа. В этих условиях происходит активация тромбоцитов, вторичная активация плазменного звена гемостаза с формированием тромбов в микроциркуляторном русле. Образование антител к белкам ВИЧ сопровождается формированием в почках иммунных комплексов с развитием иммунокомплексных гломерулонефритов (ИКГН). Часто встречающаяся коинфекция вирусами гепатитов В и С может вызвать развитие мембранозной нефропатии, мембранопролиферативного и криоглобулинемического гломерулонефрита, а также смешанной криоглобулинемии. Возрастание доли вторичных поражений почек обусловлено последствиями приема психотропных и наркотических средств, инфекционными и онкологическими осложнениями продвинутой стадии болезни, широким применением потенциально нефротоксичных лекарственных препаратов, гемодинамическими и метаболическими нарушениями [4-6].

При этом различные варианты вовлечения почек при ВИЧ-инфекции независимо от ее стадии характеризуются прогрессирующим течением с развитием тяжелых осложнений. Принимая во внимание продолжающийся рост количества ВИЧ-инфицированных в мире, такое положение чревато увеличением среди них числа пациентов с конечной стадией хронической болезни почек (ХБП), требующей проведения заместительной почечной терапии [7, 8].

Все это определяет необходимость раннего обнаружения признаков почечной дисфункции, немаловажное значение при этом имеет изучение влияния вирусии РНК ВИЧ, особенностей клеточного состава лимфоцитов, цитокинового статуса и других иммунологических показателей на развитие и прогрессирование патологии почек. Исследования в этом направлении создадут предпосылки для более полного понимания механизмов повреждения почек при ВИЧ-инфекции, что является актуальным и практически важным.

### Цель исследования

На основе изучения клеточного и цитокинового звеньев иммунного ответа определить роль иммунных факторов в патогенезе поражения почек при ВИЧ-инфекции.

### Материал и методы

Определение показателей клеточного иммунного ответа и цитокинового статуса проведено у 30 пациентов с ВИЧ-инфекцией и хронической болезнью почек (ХБП) в возрасте от 26 до 46 лет (средний возраст  $31,7 \pm 6,2$  год, мужчин 60%). ХБП устанавливали на основании общепринятых критериев: наличия протеинурии (ПУ), изменений мочевого осадка и признаков нарушения функции почек, определяемых в течение  $\geq 3$  месяцев. Функциональное состояние почек оценивали по величине скорости клубочковой фильтрации (СКФ, мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> – интегральному показателю, характеризующему степень сохранности/утраты массы действующих нефронов) с использованием формулы расчета СКД-ЕРІ (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [7]. Критерием нарушения функции почек являлось снижение СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Из группы наблюдения были исключены пациенты с ХБП, патологией органов мочевой системы до выявления ВИЧ-инфекции, транзиторным характером повреждением почек.

Клинические проявления ХБП, развившиеся у пациентов на фоне ВИЧ-инфекции, были представлены мочевым синдромом, артериальной гипертензией (АГ), острым нефритическим синдромом, нефротическим синдромом, хронической почечной недостаточностью. Мочевой синдром у пациентов с ХБП характеризовался изолированной ПУ разной степени выраженности ( $n=5/16,7\%$ ), ПУ в сочетании с гематурией/лейкоцитурией ( $n=17/56,6\%$ ) или гематурией ( $n=8/26,7\%$ ). АГ наблюдалась у 63,3% пациентов (19/30). Острый нефритический синдром был зарегистрирован у 6 (20%) пациентов, нефритический синдром – у 13 (43,3%), нарушение функции почек (СКФ < 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) – в 40% ( $n=12$ ) наблюдений.

При распределении в зависимости от уровня протеинурии в 8 случаях установлена ПУ менее 1,0 г/сутки, в 9 – ПУ от 1,0 до 3,0 г/сутки, в 13 – ПУ нефротического уровня, более 3,0 г/сутки. Учитывая расчетную величину СКФ (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), все исследуемые пациенты с ПУ были проанализированы по стадиям ХБП. Так, ХБП стадии С1 (нормальная или повышенная СКФ) имела место у 20% ( $n=6$ ) пациентов, стадия С2 (СКФ 60-89) – у 36,7% ( $n=11$ ), стадия С3а-3б (СКФ 30-59) – у 33,3% ( $n=10$ ), стадия С4 (СКФ 15-29) – у 3,3% ( $n=1$ ). Конечная стадия ХБП (СКФ менее 15 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) выявлена у 6,7% ( $n=2$ ) пациентов. Из 13 ВИЧ-инфицированных пациентов с ПУ нефротического уровня, у которых клинически установлен хронический гломерулонефрит, у 9 – проведена биопсия почки и верифицирован диагноз ИКГН.

Морфологические варианты ИКГН были представлены диффузным пролиферативным (у 6 паци-

ентов), мембранопротеративным (1 случай), мезангиопротеративным (1 случай) и фокальным протеративным (1 случай) гломерулонефритом.

Группу сравнения составили 10 ВИЧ-инфицированных пациентов без признаков поражения почек, сопоставимые по полу и возрасту с изучаемым контингентом пациентов с поражением почек. В контрольную группу включены здоровые лица, сопоставимые по полу и возрасту с ВИЧ-инфицированными пациентами: 24 человека для анализа иммунного статуса и 15 человек для оценки нормальных показателей цитокинового профиля. Требованиями к отбору группы контроля были информированное согласие на обследование; отсутствие в анамнезе сведений, позволяющих причислить обследуемых к категории часто и длительно болеющих лиц, лиц с хроническими заболеваниями, с патологией почек, с признаками аллергических, инфекционно-воспалительных, аутоиммунных, иммунодефицитных состояний.

В исследуемых группах ВИЧ-инфицированных пациентов (с ХБП и без ХБП) и группе контроля проводили оценку взаимосвязей между показателями иммунного статуса, цитокиновым профилем.

Определение показателей типовой иммунограммы выполнено на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с помощью станции автоматической пробоподготовки BD FACS Sample Prep Assistant II (Becton Dickinson, США). Для оценки абсолютного и относительного числа Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD3+/CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+/CD8+) с определением иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8), количества натуральных (естественных) киллерных клеток (CD3-/CD16+/CD56+), натуральных (естественных) киллерных клеток с признаками Т-лимфоцитов (CD3+/CD16+/CD56+), В-лимфоцитов (CD19+) использовали стандартизированный комплект моноклональных антител (МКАТ) BD Multitest 6-Color TBNK Reagent (BD Biosciences), содержащий меченные PerCP-Cy5.5 anti-CD45 МКАТ, FITC anti-CD3 МКАТ, PE-Cy7 anti-CD4 МКАТ, APC-Cy7 anti-CD8 МКАТ, PE anti-CD16/anti-CD56 МКАТ, APC anti-CD19 МКАТ.

Расчет абсолютных величин показателей осуществляли по следующей формуле:

$$\text{Число клеток (10}^9\text{/л)} = \frac{\% \text{ клеток от общего числа лимфоцитов}}{100\%} \times \text{число лимфоцитов (10}^9\text{/л)}$$

Расчета иммунорегуляторного индекса (ИРИ) проводили по формуле:

$$\text{ИРИ} = \frac{\text{Число CD3+/CD4+ клеток}}{\text{Число CD3+/CD8+ клеток}}$$

С целью повышения сопоставимости данные представлены не собственно значениями показателей при наличии или отсутствии маркеров повреждения почек у пациентов с ВИЧ-инфекцией, а коэф-

фициентами их отклонения (КО) от контрольных значений здоровых лиц, для расчета которых использовали следующую формулу:

$$\text{КО} = 100\% + \frac{\text{Показатель больного} - \text{Показатель здорового}}{\text{Показатель здорового}} \times 100\%$$

Материалом для исследования являлась венозная кровь. Забор крови проводили у пациентов утром натощак количеством 5,0 мл в пробирки Vacuum Tube EDTA.K3 (цельная кровь). Исследование крови осуществлялось в течение 2-х часов после забора.

Исследование в сыворотке крови концентрации цитокинов проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа на многоканальном фотометре Infinite F50 (фирмы Austria GmbH компании Tecan) с использованием коммерческих диагностических тест-систем (трансформирующий фактор роста  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), интерлейкины 10, 12, 13 (ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13) – Platinum ELISA, eBioscience, Austria; фактор некроза опухолей-альфа (ФНО- $\alpha$ ) – «альфа-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ»; альфа-интерферон, гамма-интерферон (ИНФ- $\gamma$ ) – «гамма-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ», Новосибирск).

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием программы SPSS 17.0. При описании количественных признаков представлены медианы и границы интерквартильного интервала между 25-м и 75-м процентилями [25%; 75%].

## Результаты

Анализ отклонений показателей типовых иммунограмм у ВИЧ-инфицированных пациентов с наличием и отсутствием маркеров повреждения почек (ПУ, снижение СКФ) в сопоставлении с показателями здоровых лиц выявил снижение в крови содержания Т-лимфоцитов (CD3+) за счет Т-хелперов (CD3+/CD4+) при росте числа цитотоксических Т-клеток (CD3+/CD8+). При этом у больных ВИЧ-инфекцией с ХБП по сравнению с больными без почечной патологии были достоверно снижены относительное (14,75% и 22,0% соответственно,  $p=0,005$ ), абсолютное ( $0,2 \times 10^9/\text{л}$  и  $0,4 \times 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p=0,015$ ) число CD3+/CD4+ клеток и иммунорегуляторный индекс (0,2 и 0,4 соответственно,  $p=0,014$ ). Как указано выше, с целью повышения сопоставимости мы представили коэффициенты отклонения изученных нами показателей у пациентов с ВИЧ-инфекцией с или без протеинурии от контрольных значений этих показателей у здоровых лиц (Рис. 1).

Кроме того, реакция иммунной системы у ВИЧ-инфицированных пациентов с признаками поражения почек по сравнению со здоровыми лицами проявилась также достоверным снижением абсолютного ( $p=0,027$ ) и процентного ( $p=0,039$ ) содержания в крови В-лимфоцитов (CD19+). По содержанию естественных киллеров (CD3-/CD56+) в крови

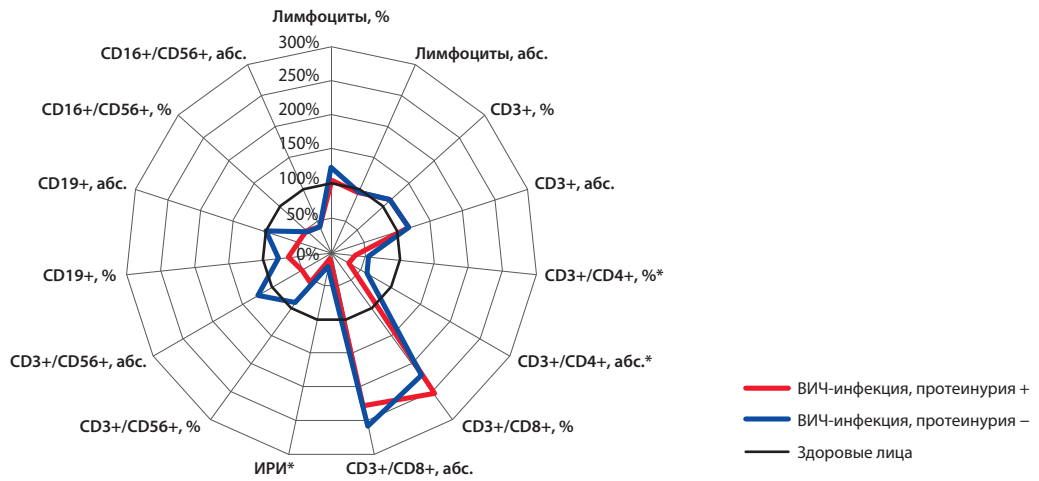


Рис. 1. Коэффициенты отклонения показателей типовой иммунограммы от контрольных значений у пациентов с ВИЧ-инфекцией с протеинурией (с ХБП) и без протеинурии (без ХБП) (\*  $p < 0,05$ )

Fig. 1. The coefficients of deviation of the parameters of the typical immunogram from the control values in patients with HIV-infection with proteinuria (with CKD) and without proteinuria (without CKD) (\*  $p < 0,05$ )

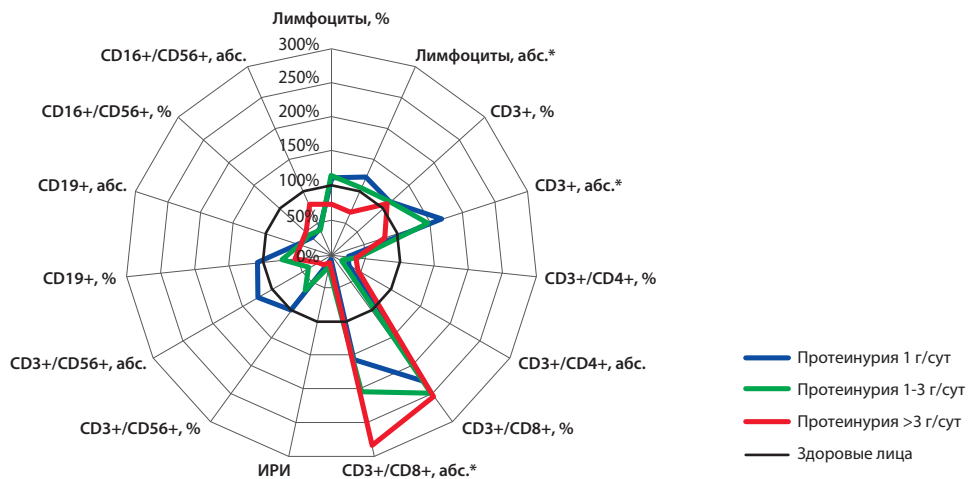


Рис. 2. Коэффициенты отклонения показателей типовой иммунограммы от контрольных значений у пациентов с ВИЧ-инфекцией в зависимости от уровня протеинурии (\*  $p < 0,05$ )

Fig. 2. The coefficients of deviation of the typical immunogram from the control values in patients with HIV-infection depending on the level of proteinuria (\*  $p < 0,05$ )

при ВИЧ-инфекции независимо от почечной патологии отмечено достоверно значимое снижение относительных и абсолютных величин по сравнению с контролем (6,85% и 15,0% соответственно,  $p = 0,003$ ); ( $0,1 \times 10^9/\text{л}$  и  $0,25 \times 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p < 0,001$ ), что характерно для хронической вирусной инфекции [9, 10].

При сопоставлении иммунологических показателей у пациентов с ВИЧ-инфекцией с учетом уровня ПУ выявлены разнонаправленные их сдвиги. Так, при нарастании ПУ отмечено снижение в крови общего числа лимфоцитов и абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3+) при росте абсолютного числа цитотоксических Т-клеток (CD3+/CD8+) ( $p < 0,05$ ) (Рис. 2).

По данным определения цитокинового профиля в крови больных ВИЧ-инфекцией с ХБП в сопоставлении с результатами группы контроля выявлено, что у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХБП преобладал иммуносупрессорный цитокиновый профиль, на что указывало возрастание более, чем в 50 раз ТФР- $\beta$  ( $394,4 \text{ пг/л}$  и  $7,0 \text{ пг/л}$  соответственно,  $p = 0,001$ ) и увеличение в 4 раза ИЛ-10 ( $49,5 \text{ пг/л}$  и  $12,5 \text{ пг/л}$ , соответственно,  $p = 0,001$ ) на фоне снижения ИФН- $\gamma$  ( $79,7 \text{ пг/л}$  и  $84,0 \text{ пг/л}$ , соответственно,  $p = 0,496$ ), ИЛ-13 ( $4,16 \text{ пг/л}$  и  $60,0 \text{ пг/л}$  соответственно,  $p = 0,001$ ) (Табл. 1). Аналогичные изменения были выявлены и при ВИЧ-инфекции без признаков поражения почек. По всей видимости, данный цитокиновый статус характерен для ВИЧ-инфекции в целом.

Таблица 1 | Table 1

Показатели уровня цитокинов в крови ВИЧ-инфицированных пациентов с и без поражения почек  
Indicators of the level of cytokines in the blood of HIV-infected patients with and without kidney damage

Показатели цитокинового статуса	Пациенты с ВИЧ-инфекцией		Контрольная группа (n=15)	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
	С ХБП (n=30)	Без ХБП (n=10)				
ИФНа, пг/л	35,8 [29,9; 49,9]	33,7 [28,6; 41,1]	9,6 [4,3; 10,5]	0,373	0,001*	<0,001*
ИФНγ, пг/л	79,7 [72,7; 93,2]	70,2 [63,2; 82,3]	84,0 [40,5; 144,0]	0,024*	0,496	0,683
ИЛ-10, пг/л	49,5 [39,9; 78,2]	40,3 [31,7; 59,2]	12,5 [9,5; 14,1]	0,160	0,001*	<0,001*
ИЛ-12, пг/л	14,4 [12,9; 18,5]	14,4 [13,5; 16,2]	11,1 [8,8; 12,9]	0,975	0,001*	0,008*
ИЛ-13, пг/л	4,16 [3,6; 6,3]	3,5 [3,1; 4,2]	60,0 [56,0; 84,9]	0,031*	0,001*	0,001*
ФНО-α, пг/мл	21,8 [18,7; 25,6]	19,37 [17,8; 21,3]	0,0 [0,0; 6,8]	0,111	0,001*	<0,001*
ТФРβ, пг/л	394,4 [374,3; 406,9]	402,1 [384,6; 412,5]	7,0 [4,38; 8,4]	0,373	0,001*	<0,001*

Примечание: медиана [25%; 75%]. p<sub>1</sub> – значимость различий показателей у пациентов с ВИЧ-инфекцией с и без ХБП; p<sub>2</sub> – значимость различий показателей у пациентов с ВИЧ-инфекцией и ХБП и группой здоровых; p<sub>3</sub> – значимость различий показателей у пациентов с ВИЧ без ХБП и группой здоровых; \* – значимые различия (p<0,05).

При соотношении уровней цитокинов в разных группах ВИЧ-инфицированных больных (с ХБП и без ХБП) установлено повышение ИФН-γ в группе пациентов с поражением почек (79,7 пг/л и 70,2 пг/л, соответственно, p=0,024). Как было показано выше, в исследуемых группах выявлено выраженное снижение числа Т-хелперов 1-го типа (Th1), продуцирующих этот цитокин, что согласуется с результатами исследования других авторов по изучению клеточного состава субпопуляции лимфоцитов при ВИЧ-инфекции [11].

Изучение уровней цитокинов в крови больных ВИЧ-инфекцией с симптомами заболевания почек с учетом возрастного и гендерного факторов не выявил достоверных различий.

Показатели цитокинового статуса у пациентов с ВИЧ-инфекцией и ХБП также анализировались с учетом уровня абсолютного количества CD4+ лимфоцитов (более и менее 200 клеток/мкл) и концентрации РНК ВИЧ в крови (более и менее 100 000 копий/мл). Так, у этой категории пациентов отмечалось увеличение уровней большинства цитокинов, в том числе и профиброгенного цитокина ТФР-β, играющего важную роль в прогрессировании почечного поражения, при снижении уровня CD4+ лимфоцитов менее 200 клеток/мкл и повышении концентрации ВИЧ (РНК ВИЧ) в крови более 100 000 копий/мл. Тем не менее, статистически значимое повышение было зарегистрировано только со стороны ФНО-α – цитокина, контролирующего секрецию ТФР-β (при уровне РНК ВИЧ более и менее 100 000 копий/мл – 24,4 пг/мл и 19,7 пг/мл соответственно, p=0,012; при уровне CD4+ лимфоцитов более и менее 200 клеток/мкл – 19,0 пг/мл и 24,2 пг/мл соответственно, p=0,017). Кроме того, у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХБП по мере прогрессирования ВИЧ-инфекции было выявлено возрастание концентрации РНК ВИЧ с усилением продукции ФНО-α (Рис. 3).

Изменение уровней цитокинов в определенной степени регулирует пролиферацию иммунокомпе-

тентных клеток [12], в связи с этим было целесообразно провести корреляционный анализ между показателями иммунного статуса, цитокиновым профилем с учетом ПУ при ВИЧ-инфекции. В результате выявлено, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией и поражением почек уровень ИФН-γ прямо коррелировал с уровнем естественных киллеров (CD3-/CD56+) (r=0,574, p=0,001) и обратно с уровнем Т-хелперов (r=-0,469, p=0,009), а уровень ИФН-α прямо коррелировал с числом В-лимфоцитов (CD19+) (r=0,374, p=0,042). При корреляционном анализе между уровнями исследуемых цитокинов и ПУ установлена прямая связь с ФНО-α (r=0,683, p=0,042). ФНО-α формирует большинство корреляционных связей у больных с ИКГН. Выявлена отрицательная корреляция ФНО-α с хелперной популяцией Т-лимфоцитов (CD3+/CD4+) (r=-0,733, p=0,025) и СКФ (r=-0,755, p=0,031) (Рис. 4).

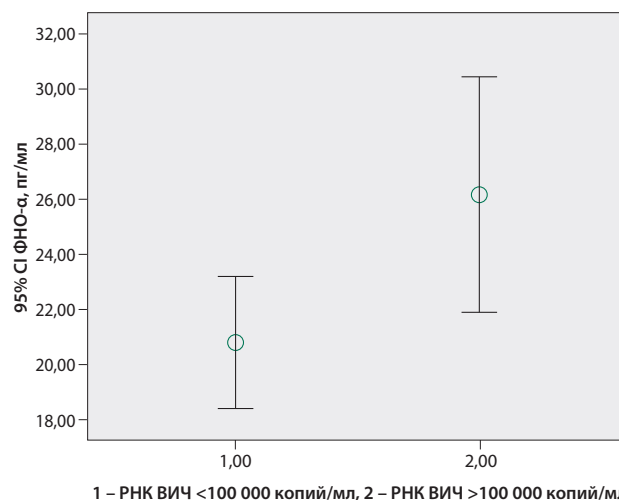


Рис. 3. Связь между уровнем ФНО-α (95% доверительный интервал) и концентрацией РНК ВИЧ у пациентов с ВИЧ-инфекцией и поражением почек

Fig. 3. The relationship between the level of TNFα (95% confidence interval) and HIV RNA concentration in patients with HIV-infection and kidney damage

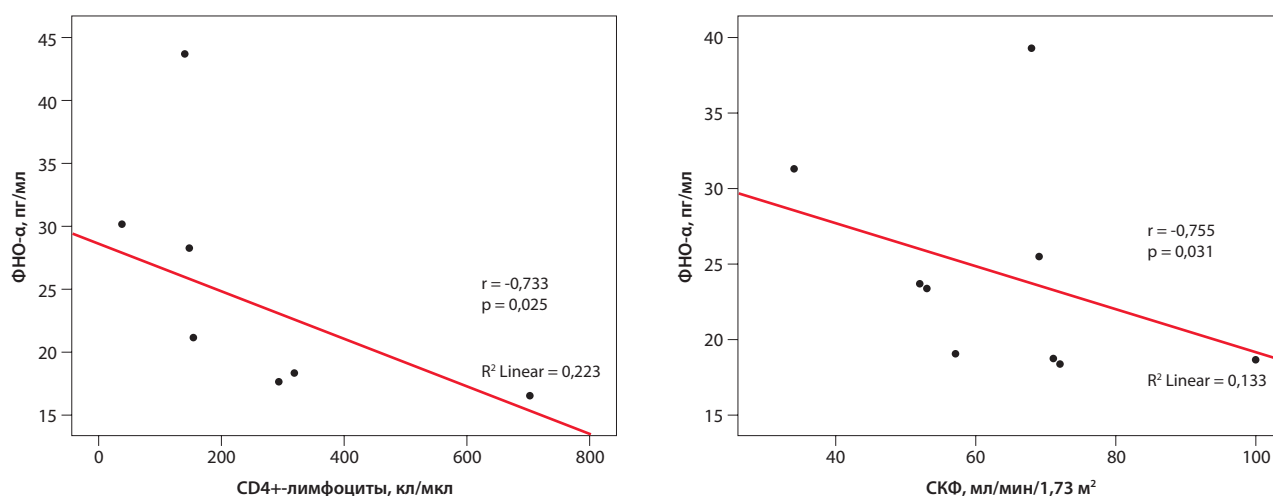


Рис. 4. Корреляционные связи CD4+ лимфоцитов, скорости клубочковой фильтрации с ФНО-α у ВИЧ-инфицированных пациентов с иммунокомплексным гломерулонефритом

Fig. 4. Correlation of CD4+ lymphocytes, glomerular filtration rate with TNFα in HIV-infected patients with immunocomplex glomerulonephritis

У ВИЧ-инфицированных пациентов без повреждения почек корреляционные связи были минимальны, основными клетками среди лимфоцитов являлись Т-эффекторы с цитотоксической активностью (CD3+/CD8+-клетки), а к числу цитокинов, связанных с количеством этих клеток, относили только ИЛ-12, регулирующие клеточный иммунный ответ ( $r=0,671$ ,  $p=0,034$ ). В группе контроля не выявлено взаимосвязи между показателями типовой иммунограммы и уровнем цитокинов.

### Обсуждение

Важную роль в поддержании гомеостаза организма и формировании согласованных реакций его отдельных систем в ответ на внешние воздействия отводят иммунной системе, реализация функций которой осуществляется через межклеточные связи на тканевом и органном уровнях. Посредниками межклеточных и межсистемных взаимодействий выступают медиаторы, роль которых выполняют цитокины – группа регуляторных белков, реализующих передачу сигналов через контакт со специфическими рецепторами на поверхностях клеток [13]. К цитокинам относят несколько подгрупп медиаторов:

- интерлейкины – секреторные регуляторные белки иммунной системы, обеспечивающие медиаторное взаимодействие и связь её с другими системами организма;
- интерфероны – факторы, обладающие противовирусными свойствами;
- колониестимулирующие факторы, активирующие продукцию и дифференцировку клеток-предшественников различных ростков гемопоэза на разных этапах их созревания;
- трансформирующие ростовые факторы, в том числе трансформирующий фактор роста;

- фактор некроза опухолей;
- хемокины или хемотактические цитокины, обеспечивающие активацию процессов миграции различных типов лейкоцитов.

Главными продуцентами цитокинов иммунной системы являются Т-хелперы и макрофаги. Т-хелперы 1 (Th1) и 2 (Th2) типов участвуют в ответных реакциях на патогенное воздействие инфекционных агентов, при этом нарушение баланса цитокин-продуцирующей активности Th1 и Th2 типов играет немаловажную роль в развитии прогрессирования заболеваний, хронизации, аутоиммунных состояний. В свою очередь, гиперпродукция цитокинов обуславливает формирование системных воспалительных реакций [13]. При ВИЧ-инфекции наблюдается дисбаланс синтеза и продукции цитокинов. В норме соотношение Th1 и Th2 взвешенно и конкурентно, гиперэкспрессия цитокинов одного типа клеток приводит к супрессии другого. Для инфекции, вызванной ВИЧ, характерно угнетение Т-звена клеточного иммунитета – Th1 [14].

В проведенном исследовании у пациентов с ВИЧ-инфекцией и ХБП были выявлены разнонаправленные изменения в показателях типовых иммунограмм. Поражение почек развивалось на фоне более выраженного падения содержания в крови Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов при росте числа цитотоксических Т-клеток, что лежит в основе иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции [15, 16].

С хелперной популяцией Т-лимфоцитов были связаны уровни цитокина профиброгенного действия – ИЛ-13, контролирующего гуморальный иммунный ответ, и ФНО-α, регулирующего секрецию ТФР-β. Динамика изменения ИЛ-13 как цитокина, продуцируемого Т-хелперами 2-го типа, может свидетельствовать о нарушении баланса субпопуляций CD4+-лимфоцитов 1 и 2 типов в пользу Th2 [17, 18]. У ВИЧ-инфицированных пациентов с поражением

почек преобладал иммуносупрессорный цитокиновый профиль, о чем свидетельствовали высокие уровни иммуносупрессорных цитокинов ИЛ-10 и ТФР- $\beta$ . Учитывая противовоспалительную роль ИЛ-10, его гиперпродукция может приводить к истощению противовоспалительной системы почки и способствовать переходу острого воспаления в хроническое с последующей трансформацией в фиброгенез [19].

Установлено статистически значимое повышение уровня ИФН- $\gamma$  в группе ВИЧ-инфицированных пациентов с ХБП на фоне существенного снижения количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов – клеток продуцентов ИФН- $\gamma$ . Следует отметить, что наряду с Т-хелперами существенный вклад в продукцию ИФН- $\gamma$  вносят естественные киллеры, которые играют огромную роль в патогенезе ВИЧ-инфекции. Так, известно, что число этих клеток возрастает в динамике заболевания. Согласно полученным данным, число естественных киллеров коррелировало с уровнем ИФН- $\gamma$  и была установлена прямая связь между этими показателями в группе больных с поражением почек. Выявленная взаимосвязь и объясняет факт повышения уровня ИФН- $\gamma$  с учетом повышения естественных киллеров в группе больных ВИЧ-инфекцией с ПУ [15].

При анализе динамики вирусологических и иммунологических показателей показано, что активная репликация ВИЧ и депрессия иммунной системы у пациентов с патологией почек сопровождалась гиперэкспрессией сывороточных цитокинов ТФР- $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , с последним из которых выявлена достоверная зависимость. В формировании повреждения почек при ВИЧ-инфекции установлена ведущая роль ФНО- $\alpha$  в сочетании с высокой вирусемией РНК ВИЧ и глубокой иммуносупрессией.

Ряд авторов утверждают, что модификации экспрессии медиаторов воспаления, вызванные белками ВИЧ, приводят к необратимым изменениям в иммунной системе [10, 20]. Особую роль отводят провоспалительному цитокину ФНО- $\alpha$ , который усиливает пролиферацию Т-клеток, активирует экспрессию генов ВИЧ и инициирует активацию репликации вируса, находящегося в «дремлющем» состоянии [21, 22]. Следует отметить, что ФНО- $\alpha$  – кахектин с некротизирующим действием или эндотоксин-индуцированный белок, название которого ассоциировано с его противоопухолевым эффектом, связанным с геморрагическим некрозом. Он обладает не только цитотоксическим действием в отношении опухолей, но и воспалительным, иммуномодулирующим эффектами. Будучи медиатором воспаления, ФНО- $\alpha$  активирует фагоциты, нейтрофилы, способствует дифференцировке гемопоэтической стволовой клетки, эндотелиальных клеток. В большой концентрации ФНО- $\alpha$  вызывает повреждение клеток эндотелия и повышает микроваскулярную проницаемость, активируя системы гемостаза и комплемента с развитием внутрисосудистого микротромбообразо-

вания [13]. Кроме того, усиленная продукция ФНО- $\alpha$  вызывает целый ряд нарушений в иммунной системе, способствующих более быстрому прогрессированию болезни с поражением различных органов, в том числе и почек.

По данным литературы, при длительном повреждении ткани происходит значительное накопление в крови гуморальных медиаторов воспаления, оказывающих влияние, как на основные клеточные элементы воспаления, привлекая их в очаг альтерации, так и на клетки органа-мишени [23]. В почке они представлены проксимальными тубулярными, мезангиальными клетками, макрофагами, фибробластами. Активированные макрофаги и мезангиальные клетки становятся основными источниками локальной гиперпродукции, аутокринного/паракринного (на синтезирующую их клетку/на соседние клетки) действия провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) и ростовых факторов (тромбоцитарного фактора роста, ТФР- $\beta$ ), вызывающие непосредственно гломерулярное повреждение и стимулирующие клеточную пролиферацию, активацию мезангиоцитов и продукцию ими мезангиального матрикса. В ряде исследований показано, что именно ФНО- $\alpha$  вместе с ИЛ-1, ИЛ-6 способствует активации мезангиальной пролиферации при пролиферативных формах воспалительных поражений почечного клубочка, IgA-нефропатии, волчаночном нефрите, а ТФР- $\beta$  как активатору синтеза основных компонентов экстрацеллюлярного матрикса (фибронектина, протеогликанов, коллагена) отводят немаловажную роль в развитии гломерулосклероза, тубулоинтерстициального фиброза [24, 25]. Кроме того, гиперпродукция ФНО- $\alpha$ , обладающего фиброгенным эффектом и способствующего продукции факторов роста, в том числе и ТФР- $\beta$ , посредством стимуляции эпителиальной и мезенхимальной реакции может способствовать пролиферации фибробластов. Вследствие этого происходит нарушение процессов деградации матрикса и развитие коллагеноза с последующим исходом в фиброз [19, 26].

Установлено, что у больных ВИЧ-инфекцией с нефропатией определяются высокие концентрации ФНО- $\alpha$  в крови. Вероятно, выявленные изменения в системе медиаторов воспаления у пациентов с ВИЧ-инфекцией и поражением почек являются результатом привлечения макрофагов в почечный интерстиций и отражают активность патологических изменений в почках [27]. Кроме того, по результатам исследования, выявлена прямая корреляционная связь ФНО- $\alpha$  с ПУ и обратная – ФНО- $\alpha$  со СКФ. Следует отметить, что ФНО- $\alpha$ , источником которого являются клетки воспалительного инфильтрата, может вызывать не только клубочковое поражение, но и участвовать в повреждении канальцевого эпителия, что способствует формированию тубулоинтерстициальных изменений, присоединение которых приводит к прогрессированию ХБП





Рис. 5. Схема почечного континуума при ВИЧ-инфекции

Fig. 5. Renal continuum pattern in HIV-infection

[28, 29]. К примеру, снижение уровня клубочковой фильтрации коррелирует со степенью тубулоинтерстициальных изменений, представленных повреждением канальцевого эпителия и формированием интерстициального фиброза, которые, как мы предполагаем, у пациентов с ВИЧ-инфекцией могут быть следствием продукции провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ ) и факторов роста (ТФР- $\beta$ ). Такие корреляции нашли свое отражение в настоящем исследовании, результаты которого указывают на важную роль ФНО- $\alpha$  в развитии и прогрессировании хронического воспаления. Известно, что ФНО- $\alpha$  участвует в тех же патологических процессах в почках у пациентов с хроническим гломерулонефритом, не инфицированных ВИЧ, но выявленные нарушения регуляции экспрессии цитокинов у ВИЧ-инфицированных пациентов с поражением почек являются одним из первых исследований в этой области.

### Заключение

Таким образом, оценка параметров клеточного иммунного ответа и цитокинового статуса у пациентов с ВИЧ-инфекцией и ХБП свидетельствовала о преобладании у них иммуносупрессорных и провоспалительных реакций. В развитии патологии почек при ВИЧ-инфекции установлена ведущая роль ФНО- $\alpha$  в сочетании с высокой вирусной нагрузкой и депрессией иммунной системы, что было отражено в схеме почечного континуума при ВИЧ-инфекции с точки зрения предикторов повреждения почек, экспрессии медиаторов воспаления (Рис. 5).

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interests*

### Список литературы

1. Hou J, Nast CC. Changing concepts of HIV infection and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2018; 27(3): 144-152.
2. Jung O, Haack H.S., Brodt H.R. et al. Changing spectrum of renal disease in HIV infection. *Dtsch Med Wochenschr*. 2013; 138(38): 1887-1891.
3. Bertoldi A., De Crignis E., Miserocchi A. et al. HIV and kidney: a dangerous liaison. *New Microbiol*. 2017; 40(1): 1-10.
4. Ryom L., Mocroft A., Kirke O. et al. Predictors of advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease in HIV-positive persons. *AIDS*. 2014; 28: 187-199.
5. Ando M., Yanagisawa N. Epidemiology, clinical characteristics, and management of chronic kidney disease in human immunodeficiency virus-infected patients. *World J Nephrol*. 2015; 4(3): 388-395.
6. Achbra A.C., Nugent M., Mocroft A. et al. Chronic Kidney Disease and Antiretroviral Therapy in HIV-Positive Individuals: Recent Developments. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2016; 13(3): 149-57.
7. Lucas G.M., Ross M.J., Stock P.G. et al. Clinical practice guidelines for the management of chronic kidney disease in patients infected with HIV: 2014 update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2014; 59: e96-138.
8. Kooij K.W., Vogt L., Wit F.W. et al. Higher prevalence and faster progression of chronic kidney disease in human im-

munodeficiency virus-infected middle-aged individuals compared with human immunodeficiency virus-uninfected controls. *J Infect Dis.* 2017; 216: 622-31.

9. *Sereti I., Lane H.C.* Immunopathogenesis of Human Immunodeficiency Virus: Implications for Immune-Based Therapies. *Clin Infect Dis.* 2001; 32: 1738-1755.

10. *Moir S., Chun T.W., Fauci A.S.* Pathogenic mechanisms of HIV disease. *Annu Rev Pathol.* 2011; 6: 223-248.

11. *Terzjewa V.I., Popova D.N., Elenkov I.I.* IFN- $\gamma$  Attenuates Spontaneous Lymphocyte Proliferation by Fuelling Regulatory T Cells in HIV-1-Infected Patients. // *Viral Immunol.* 2017; 30(3): 157-166.

12. *Леви А. Э.* ВИЧ и патогенез СПИДа: Пер. с англ. М.: Научный мир. 2010; 736 с.

*Levy D. E.* HIV and the pathogenesis of AIDS: Per. from English. М.: Scientific World, 2010. 736 s.

13. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. СПб.: Фолиант 2008; 552 с.

*Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S.* Cytokines. St. Petersburg: Folio, 2008. 552 s.

14. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство. Под ред. В.В. Покровского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 696 с.

HIV and AIDS: national guidelines. Ed. V.V. Pokrovsky. М.: GEOTARMEDIA, 2020. 696 s.

15. *Scully E., Alter G.* NK Cells in HIV Disease. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2016; 13(2): 85- 94.

16. *Doitsh G., Greene W.C.* Dissecting how CD4 T cells are lost during HIV infection. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(3): 280-291.

17. *Strutz F., Neilson E.G.* New insights into mechanism of fibrosis in immune renal injury. *Springer Semin Immunopathol.* 2003; 24: 459-476.

18. *French M.A., Cozzi-Lepri A., Arduino R.C. et al.* Plasma levels of cytokines and chemokines and the risk of mortality in HIV-infected individuals: a case-control analysis nested in a large clinical trial. *AIDS.* 2015; 29 (7): 847-851.

19. *Conaldi P.G., Bottelli A, Wade-Evans A. et al.* HIV-persistent infection and cytokine induction in mesangial cells: a potential mechanism for HIV-associated glomerulosclerosis. *AIDS.* 2000; 14 (13): 2045 – 2047.

20. *Mikulak J., Singhal P.C.* HIV-1 and kidney cells: better understanding of viral interaction. *Nephron Exp Nephrol.* 2010; 115 (2): 15-21.

21. *Alefano M., Crotti A., Vivenzi E. et al.* New players in cytokine control of HIV infection. *Curr HIV/AIDS.* 2008; 5: 27-32.

22. *Madrigal-Jimenez H.M., Flores-Flores L., Carrillo Estrada F. et al.* High levels of HIV-1 RNA Associated with Early-onset Glomerulopathy in patients with HIV Infection. *Mayo Clin Proc.* 2007; 82 (9): 1103-1116.

23. *Wada T., Yokoyama H., Kobayashi K.* Chemokines: new target molecules in renal diseases. *Clin Exp Nephrol.* 2000; 4: 273-280.

24. *Paiardini M., Müller-Trutwin M.* HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev.* 2013; 254: 78-101.

25. *Bottinger E.P., Bitzer M.* TGF- $\beta$  signaling in renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 2600-2610.

26. *Wang H., Li J., Gai Z. et al.* TNF- $\alpha$  Deficiency Prevents Renal Inflammation and Oxidative Stress in Obese Mice. *Kidney Blood Press Res.* 2017; 42 (3): 416-427.

27. *Okon K.* Tubulo-interstitial changes in glomerulopathy. Prognostic significance. *Pol J Pathol.* 2003; 4 (3): 163-169.

28. *Naicker S., Rahmanian S., Kopp J.B.* HIV and chronic kidney disease. *Clin Nephrol.* 2015; 83 (7): 32-38.

29. *Ross M.J.* Advances in the pathogenesis of HIV-associated kidney diseases. *Kidney Int.* 2014; 86: 266-74.

Дата получения статьи: 17.05.2020

Дата принятия к печати: 12.01.2021

Submitted: 17.05.2020

Accepted: 12.01.2021