

УДК 615.03:616-039+ 616.36-002+616.98

ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ НА ФОНЕ ВААРТ

²Б.И.Гельцер, ¹Л.Ф.Скляр, ¹В.С.Елисева, ^{2,3}К.И.Шахгельдян, ¹Е.В.Маркелова, ³Е.Д.Емцева, ²С.Н.Бениова¹ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Владивосток, Россия²ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, Владивосток, Россия³ФГБОУ ВО «Владивостокский государственный университет экономики и сервиса», Россия

© Коллектив авторов, 2018 г.

Целью исследования является выявление иммунологических маркеров, которые могут иметь значение для прогнозирования лекарственной устойчивости пациентов к антиретровирусной терапии. Материалы и методы. Обследованы 53 пациента с ВИЧ-инфекцией, с вирусологическим и иммунологическим неуспехом ВААРТ. Всем пациентам проведено исследование лекарственной устойчивости методом генотипирования, определены уровни цитокинов IL-2, IL-6, IL-16, IL-23, TNF- α , вирусной нагрузки ВИЧ, CD4+ Т-лимфоцитов. Для построения гипотезы о характере влияния лекарственной устойчивости на результаты лабораторных проб (CD4+ Т-лимфоциты, вирусная нагрузка ВИЧ и цитокины) использовались метод визуализации в форме диаграмм размаха, корреляционный анализ. Для оценки вероятности лекарственной устойчивости построены модели на основе дерева решений и логистической регрессии. Заключение. На основе информационного критерия Акаике, а также по результатам анализа математических моделей, лучшей была признана модель, позволяющая оценивать наличие лекарственной устойчивости на основании уровня IL-16.

Ключевые слова: цитокины, логистическая регрессия, ВИЧ-инфекция, лекарственная устойчивость.

MODELS OF EARLY VERIFICATION OF DRUG RESISTANCE IN PATIENTS WITH HIV ON THE BASIS OF IMMUNOLOGICAL INDICES

²B.I.Geltser, ¹L.F.Sclar, ¹V.S.Eliseeva, ^{2,3}K.I.Shakhgeldyan, ¹E.V.Markelova, ³E.D.Yemtseva, ²S.N.Beniova¹Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia²Far Eastern Federal University, School of Biomedicine, Vladivostok, Russia³Vladivostok State University of Economics and Service, Russia

The aim of the study is to identify immunological markers that may be important to predict drug resistance of patients to HAART. Materials and methods. Examined 53 patients with HIV infection, virological and immunological HAART failure. All patients underwent the study of drug resistance genotyping method, determined the levels of cytokines IL-2, IL-6, IL-16, IL-23, TNF- α , HIV viral load, CD4+ T-lymphocytes. For building hypotheses about the nature of the impact of drug resistance on the results of laboratory tests (CD4+ T-lymphocytes, HIV viral load and cytokines) used imaging technique in chart form of the scale, correlation analysis. To predict the patient's risk of drug resistance built models based on decision tree and logistic regression. Conclusion. On the basis of information criterion, Akaike, and the results of the analysis of the predictive capabilities of the model, were considered the best model to determine the presence of drug resistance on the basis of the level of IL-16.

Key words: cytokines, logistic regression, HIV infection, drug resistance.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2018-10-1-54-62>

Введение. В последние годы роль иммунной активации и воспаления при инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) становится все более значимой областью не только для научных наблюдений, но и для ежедневной клинической практики врачей. У все большего количества пациентов наблюдаются негативные последствия анти-

ретровирусной терапии из-за возникновения иммунологических сдвигов под действием лекарственных препаратов [1]. Развитие лекарственной резистентности нередко наблюдается среди ВИЧ-инфицированных пациентов и, как правило, приводит к поддержанию репликации ВИЧ, порой на значительных уровнях [2]. С другой стороны, даже у тех паци-

ентов, у кого наблюдается снижение вирусной нагрузки (ВН) на фоне высокоактивной антивирусной терапии (ВААРТ), сохраняется иммунная активация и воспаление, которые могут сопровождаться развитием прогрессирования болезни и смертью от причин, не связанных с ВИЧ [3]. Исследования патофизиологии ВИЧ позволяют предполагать, что оценка биомаркеров иммунного воспаления, помимо количества CD4+ Т-лимфоцитов и уровня вирусемии, способствует возможности прогноза течения ВИЧ-инфекции и риска неблагоприятных исходов и, соответственно, они должны быть использованы в рутинном мониторинге пациентов [4].

Изменение иммунологических показателей на фоне ВААРТ как при развитии лекарственной резистентности, так и при отсутствии репликации ВИЧ определяет актуальность проблемы исследования цитокинового статуса у данных пациентов. Таким образом, существует необходимость комплексного подхода в оценке степени тяжести состояния с учетом клинико-лабораторных показателей у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Целью исследования является выявление иммунологических маркеров, которые могут иметь значение при формировании лекарственной устойчивости (ЛУ) пациентов к ВААРТ.

Материалы и методы. Исследование проведено на когорте 53 пациентов, характеризующихся неуспехом ВААРТ и наблюдающихся в Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Приморского края в 2013–2017 годах. Средний возраст пациентов составил $38,8 \pm 2,6$ года. Мужчин было 28 (52,8%), женщин — 25 (47,2%). Длительность проведения ВААРТ варьировала от 1,5 до 6 лет. При оценке уровня приверженности к проводимой терапии было установлено, что у 34 больных (56%) она была низкой, у 17 пациентов (28%) — средней.

В группу обследования вошли пациенты с различным количеством ранее назначенных схем терапии. Так, две и три схемы ВААРТ были назначены более половины больным (64,2%) — по 32,1% пациентов в каждом случае соответственно. Только 4 пациентам (7,5%) было назначено 5 схем ВААРТ, при этом трое из них умерли в период наблюдения. Одну схему ВААРТ получали 11 (20,8%) пациентов.

Половина схем ВААРТ первого ряда содержала группы препаратов нуклеозидных (НИОТ) и нуклеозидных (ННИОТ) ингибиторов обрат-

ной транскриптазы, а вторая половина — сочетание нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и ингибиторов протеазы (ИП). Среди схем первой группы чаще всего назначалась комбинация ламивудин + зидовудин + эфавиренз (82%, 43 чел.); среди схем второй группы преобладали сочетания ламивудин + зидовудин + лопинавир бустированный (67%, 35 чел.). При последующих сменах схем ВААРТ предпочтение отдавалось бустированным ИП — лопинавиру, дарунавиру.

Всем пациентам исследуемой группы было проведено тестирование ЛУ, по результатам которого они были разделены на две подгруппы — с выявленной ЛУ (31 чел., 58,5%) и отсутствием детектируемых мутаций резистентности в геноме (22 чел., 41,5%).

Лабораторные тесты контроля эффективности ВААРТ включали иммунологические (CD4+ Т-лимфоциты) и вирусологические (ВН ВИЧ) показатели. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили с помощью одноплатформенной технологии методом проточной цитофлюориметрии с использованием прибора BD FACSCalibur™ (Becton Dickinson, США) и меченых флюорохромами моноклональных антител BD Tritest CD3 FITC/CD4 PE/CD45 PerCP (Becton Dickinson, США). Для определения вирусной нагрузки ВИЧ использовали систему автоматизированной пробоподготовки m2000sp, анализатор m2000rt и реагенты Abbott RealTime HIV-1 (Abbott, США).

Показанием к исследованию мутаций резистентности являлась вирусологическая неэффективность проводимого лечения. Материалом для проведения молекулярно-генетических исследований была плазма крови, взятая в период проведения терапии. Для выделения нуклеиновых кислот, проведения реакции обратной транскрипции, полимеразной цепной реакции, реакции циклического секвенирования была использована тест-система ViroSeq HIV-1 Genotyping System v. 2.0 (Celera Diagnostics, Abbott, США). Для проведения автоматического определения последовательностей методом капиллярного электрофореза использован генетический анализатор AB 3500 (Applied Biosystems, США). Анализ полученных хроматограмм секвенсов проводился с использованием компьютерной программы Sequencing Analysis v. 5.4. Для выявления и анализа мутаций лекарственной резистентности ВИЧ использованы программы ViroSeq v. 2.8 и SeqScape v. 2.7. Полученные консенсусные последовательности сравнивались с референсными с помощью базы

данных Стенфордского университета, находящейся в свободном доступе (<http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra?action=sequenceInput>).

В сыворотке крови обследованных больных определяли уровни следующих цитокинов: интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-16 (IL-16), интерлейкин-23 (IL-23) и фактор некроза опухоли (TNF- α). Тестирование образцов осуществляли с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (Россия) методом твердофазного «сэндвич»-ИФА, согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов проводили с помощью планшетного спектрофотометра Stat Fax 2100

позволяет по наименьшему значению выбрать наилучшую логистическую регрессионную модель [5]. Обработка данных выполнялась на языке R в пакете RStudio v. 1.0.153.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования лекарственной устойчивости ВИЧ в группе пациентов с вирусологическим неуспехом проводимой терапии мутации резистентности были выявлены у 31 пациента (58,5%); у 22 пациентов (41,5%) были выявлены только мутации полиморфизма, не имеющие значения при формировании ЛУ. Структура выявленной лекарственной резистентности представлена в таблице 1.

Таблица 1

Структура выявленной лекарственной резистентности

Препараты	ИП	ИП+НИОТ	ИП+НИОТ+ННИОТ	НИОТ	ННИОТ	НИОТ+ННИОТ	ИП+ННИОТ
Абс., чел.	4	3	9	3	5	6	1
Относ., %	7,5	5,7	17	5,7	9,4	11,3	1,9

(Awareness Technology, США). Расчет количественных параметров проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Концентрацию цитокинов выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Для построения гипотезы о характере влияния ЛУ на результаты лабораторных проб (CD4+ Т-лимфоциты, вирусная нагрузка ВИЧ и цитокины) использовались метод визуализации в форме диаграмм размаха и корреляционный анализ [5]. Для выявления у пациентов с ЛУ наиболее значимых изменений иммунологических показателей построены модели на основе дерева решений и логистической регрессии [6]. Логистическая регрессия строилась для дихотомических зависимых переменных Y по независимым переменным $x_1, x_2, \dots, x_p$ и предполагала, что можно построить линейную модель следующего вида [5]:

$$\ln(\mu Y / (1 - \mu Y)) = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + \dots + a_p x_p$$

где независимые переменные $x_1, x_2, \dots, x_p$ соответствуют уровням лабораторных проб (CD4+ Т-лимфоциты, ВН ВИЧ и цитокины) и позволяют построить линейную модель для логарифма отношения шансов того, что у пациента имеется ЛУ. $\mu Y = P(Y=1)$ — вероятность того, что у пациента имеется ЛУ, а $\mu Y / (1 - \mu Y)$ — отношение шансов того, что $Y=1$.

Для оценки качества модели использовались ROC-анализ и тест отношения правдоподобия [7]. Выбор лучшей модели выполнялся с помощью информационного критерия Акаике (AIC), который

Полученные данные свидетельствуют, что наиболее часто у обследованных нами пациентов выявляются мутации резистентности к препаратам трех основных групп ВААРТ — ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы. Лечение пациентов с подобным профилем резистентности представляет значительные трудности, поскольку спектр возможных терапевтических схем у таких пациентов очень мал. Обращает также внимание большое количество пациентов с ЛУ к ингибиторам обратной транскриптазы — 27 больных среди всех пациентов с ЛУ (50,9%). Известно, что препараты данной группы характеризуются низким генетическим барьером [8], вследствие чего формирование мутаций резистентности к ним происходит достаточно быстро.

При сравнении уровней CD4+ Т-лимфоцитов (табл. 2) была выявлена статистически достоверная разница между группами пациентов с выявленной ЛУ и без нее ($333,5 \pm 99,4$ клеток/мкл против $386,3 \pm 83,1$ клеток/мкл соответственно, $p \leq 0,05$).

Уровни ВН ВИЧ (см. табл. 2) в группе пациентов без сформированной лекарственной резистентности были достоверно выше, чем в группе пациентов с выявленной лекарственной устойчивостью ($12\,039,8 \pm 3968,5$ копий/мл против $7237,0 \pm 2507,3$ копий/мл соответственно, $p \leq 0,001$). Полученные результаты совпадают с имеющимися в научной литературе данными о низком уровне репликации ВИЧ при наличии лекарственной резистентности. Маловыраженные уровни ВН ВИЧ свидетельствуют о сниженном

Таблица 2

Сравнение уровней CD4+ Т-лимфоцитов

Клинико-лабораторные показатели	Пациенты с ЛУ (n=31)	Пациенты без ЛУ (n=22)
CD4+ Т-лимфоциты, клеток/мкл $M \pm S$	333,5 $\pm$ 99,4	386,3 $\pm$ 83,1*
ВН ВИЧ, копий/мл $M \pm S$	7237,0 $\pm$ 2507,3	12 039,8 $\pm$ 3968,5**

Примечание: Степень достоверности различий показателей между группами в зависимости от выявления лекарственной устойчивости ВИЧ: * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,001$.

фитнесе вируса и могут послужить ориентировочными данными для суждения о наличии лекарственной устойчивости ВИЧ [9].

Анализ диаграммы размаха для цитокинов IL-2, IL-6, IL-16, IL-23 показал, что наибольшая разница между медианами значений в группах пациентов с ЛУ и без нее наблюдается у IL-16 (рисунок). При этом была выявлена статистически достоверная разница в уровнях IL-16 между пациентами с выявленной ЛУ и без нее ($29,6 \pm 2,82$ пг/мл против $23,21 \pm 1,04$ пг/мл соответственно, $p \leq 0,001$, U-критерий). Медианы значений IL-2 и IL-6 в груп-

и без нее (табл. 3). При этом мы исключили TNF- α , так как диапазон его значений среди пациентов с ЛУ включал в себя все значения этого показателя у больных без ЛУ.

Минимально достаточные условия дерева решений, характерные для пациентов с ЛУ, выглядят следующим образом:

$$IL-6 < 12,0 \text{ пг/мл или } IL-16 > 26,15 \text{ пг/мл. (1)}$$

Правило (1) позволяет описать изменения цитокинов IL-6 и IL-16 у пациента с ЛУ. Дерево решений, полученное отрицанием правила (1) (IL-6

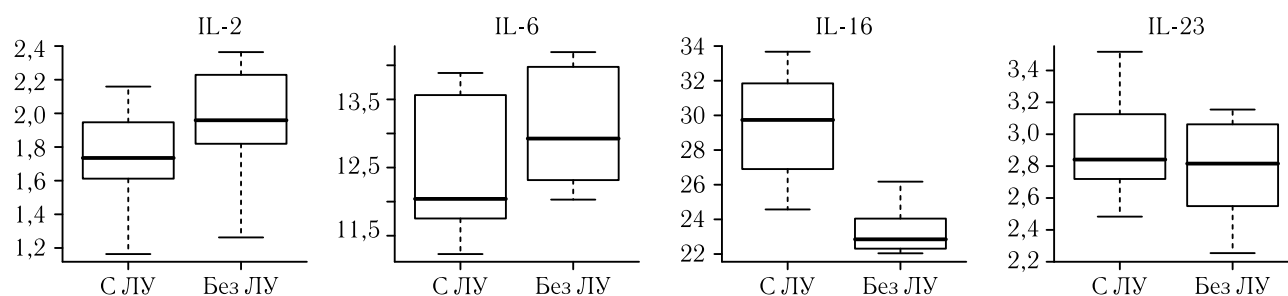


Рисунок. Диаграммы размаха для цитокинов IL-2, IL-6, IL-16, IL-23

Таблица 3

Значимые изменения иммунологических показателей у пациентов с лекарственной устойчивостью и без нее

Интерлейкины	ВИЧ-пациенты с ЛУ (n=31)			ВИЧ-пациенты без ЛУ (n=22)		
	Размах показателей, пг/мл	Условие выделения	Кол-во выделенных пациентов, чел.	Размах показателей, пг/мл	Условие выделения	Кол-во выделенных пациентов, чел.
IL-2	1,16–2,16	<1,25	1	1,26–2,36	>2,16	6
IL-6	11,23–13,9	<12,0	13	12,02–14,18	>13,9	7
IL-16	24,5–33,63	>26,15	26	22,06–26,12	<24,15	19
IL-23	2,48–3,52	>3,2	4	2,25–3,16	<2,48	3
TNF- α	33,54–53,42	>47,0	11	35,06–46,84	—	—

пах пациентов с ЛУ и без нее также достигают значимых различий. Уровни IL-2 между подгруппами пациентов с ЛУ и без нее достоверно различались ($1,75 \pm 0,26$ пг/мл против $1,95 \pm 0,29$ пг/мл соответственно, $p \leq 0,05$, U-критерий), как и уровни IL-6 ($12,41 \pm 0,89$ пг/мл против $13,10 \pm 0,82$ пг/мл соответственно, $p \leq 0,001$, U-критерий).

Мы попытались выявить значимые изменения иммунологических показателей у пациентов с ЛУ

12,0 пг/мл и IL-16 26,15 пг/мл), позволяет описать изменения данных цитокинов у пациентов без ЛУ.

На следующем этапе исследования авторами построены логистические модели, из которых наилучшие результаты получены для регрессии вида:

$$\ln(P(Y=1)/P(Y=0)) = 2,34 \times IL-16 - 58,65. (2)$$

Выражение (2) определяет, что отношение шансов развития ЛУ повышается в 10,34 раза при уве-

личении IL-16 на единицу. Модель (2) и предиктор IL-16 имеют высокую статистическую значимость ($p < 0,0001$ и $p < 0,01$ соответственно). Информационный критерий Акаике AIC был равен 15,14 и является наименьшим среди всех других построенных нами моделей. Проверка модели (2) показала некорректное разделение ВИЧ-пациентов с ЛУ и без нее всего для двух случаев. В первом случае пациента с ЛУ отнесли к этой группе с вероятностью всего 0,22. Во втором случае пациента без ЛУ отнесли к группе с ЛУ с вероятностью 0,915. Вероятности отнесения пациентов к группе с ЛУ за исключением двух некорректных случаев представлены в таблице 4.

Таблица 4

Вероятности отнесения пациентов к группе с ЛУ

Уровень вероятности	ВИЧ-пациенты с ЛУ (n=30)	ВИЧ-пациенты без ЛУ (n=21)
Разброс вероятностей ЛУ	0,74–1	0,0008–0,104
Средняя вероятность ЛУ	0,973	0,032
Медиана вероятности ЛУ	0,999	0,004

ROC-кривая для модели (2) обеспечивает площадь под кривой, равную 0,993, что подтверждает ее высокую прогностическую точность.

показал, что все 31 пациент с ЛУ были отнесены к этой группе с вероятностью более 0,44. При этом 27 из них имели вероятность более 0,915, а у оставшихся четырех она варьировала от 0,44 до 0,62. Среди 22 пациентов без ЛУ 18 случаев были отнесены к группе с ЛУ — с вероятностью от 0 до 0,16, два пациента — с вероятностью 0,44 и 0,55, и один пациент — с вероятностью 0,915 (табл. 5). Площадь под ROC-кривой была равной 0,988, что подтверждает высокое качество модели (3).

Нами рассмотрена также модель, которая позволяет оценить вероятность наличия ЛУ на основе TNF- α и вирусной нагрузки:

$$\ln(P(Y=1)/P(Y=0)) = 1,12 \times \text{TNF-}\alpha - 0,0014 \times \text{Вирусная нагрузка} - 34,6. (4)$$

Модель (4) позволяет уточнить наличие резистентности у 28 из 31 пациента с ЛУ с вероятностью более 0,80. Два пациента с ЛУ отнесены к этой группе с вероятностью 0,57, один пациент — с вероятностью 0,15. Пациенты без ЛУ за исключением одного были отнесены к группе с ЛУ с вероятностью менее 0,38, а один — с вероятностью 0,87. Критерий AIC был равен 20,4, что оценивает эту модель как наихудшую из ранее рассмотренных. Оба предиктора (TNF α и вирусная нагрузка) были значимы ($p < 0,05$), а в целом модель была статистически достоверна ($p < 0,001$).

Таблица 5

Логистическая модель на основе показателей CD4 и вирусной нагрузки

Уровень вероятности	Модель (3)		Модель (4)	
	с ЛУ (n=31)	без ЛУ (n=21)	с ЛУ (n=30)	без ЛУ (n=21)
Разброс вероятностей ЛУ	0,44–1	0,0–0,55	0,57–0,99	0,0–0,38
Средняя вероятность ЛУ	0,927	0,0063	0,954	0,0646
Медиана вероятности ЛУ	0,997	0,000016	0,999	0,0015
Не рассмотренные выше случаи	0,0	1 — с 0,915	1 с 0,15	1 — с 0,87

В качестве альтернативы использованию интерлейкинов как основных маркеров наличия ЛУ нами была построена логистическая модель на основе показателей CD4 и вирусной нагрузки:

$$\ln(P(Y=1)/P(Y=0)) = -0,075 \times \text{CD4} - 0,002 \times \text{Вирусная нагрузка} + 46,36. (3)$$

Оба предиктора модели (3) были значимы ($p < 0,05$), а модель в целом имела высокую достоверность ($p < 0,001$). Информационный критерий AIC составил 20,3, что свидетельствует о меньшей точности модели (3) по сравнению с моделью (2). Анализ результатов прогноза на основе модели (3)

В таблице 5 представлены статистические характеристики моделей (3) и (4).

Нами были построены еще несколько моделей с предикторами IL-2, IL-6 и IL-23, которые, несмотря на высокую статистическую значимость ($p < 0,01$), имели критерий AIC более 59, что свидетельствовало об их невысокой значимости.

При активации иммунных клеток во время антигенной стимуляции происходит усиление продукции цитокинов. Конечным результатом действия многих из них является та или иная степень репликации вируса ВИЧ, которая зависит от баланса между стимулирующим и подавляющим действием

цитокинов [10]. Иммунная активация в значительной мере определяет утрату CD4+ Т-лимфоцитов, приводит к развитию СПИД-ассоциированных и СПИД-неассоциированных заболеваний, а ее показатели являются весомыми прогностическими факторами исхода болезни [11].

В ходе построения математических моделей некоторые цитокины привлекли к себе повышенное внимание.

Наиболее информативным биомаркером в наших исследованиях проявил себя IL-16, который является фактором роста для CD4+ Т-лимфоцитов, а также хемоаттрактантом для CD4+ Т-лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов [12]. Он продуцируется Т-лимфоцитами — преимущественно CD8+ Т-клетками, и эозинофилами. Согласно литературным данным, существует синергическое влияние IL-16 и IL-2 на активацию CD4+ Т-клеток [13]. Будучи иммуномодулирующим и провоспалительным цитокином, он, тем не менее, подавляет индуцированную антигеном пролиферацию клеток и репликацию вируса иммунодефицита человека [14]. В ряде исследований было установлено, что IL-16 (наряду с β -хемокинами MIP-1 β) аддитивным образом ингибирует инфицирование CD4+ Т-клеток ВИЧ [15, 16]. При этом IL-16 представляет собой специфический лиганд для CD4+ Т-лимфоцитов, который является рецептором для основных молекул гистосовместимости класса II и основным рецептором, необходимым для проникновения ВИЧ в клетки-мишени.

В математической модели, построенной на основе дерева решений, высокий уровень IL-16 (более 26,15 пг/мл) наблюдался у большей части пациентов с ЛУ (26 больных из 31). Высокий уровень IL-16 у пациентов с неуспехом ВААРТ и у пациентов с хронической ВИЧ-инфекцией были отмечены в других работах [17, 18]. С другой стороны, в научной литературе опубликованы и противоречащие этому утверждению данные: снижение уровня сывороточного IL-16 коррелирует с прогрессией ВИЧ-инфекции до терминальной стадии, а рост уровня IL-16 коррелирует с положительными ответами на терапию [19]. Значение повышенного уровня IL-16 при ВИЧ-инфекции заключается в его способности переключать циркулирующие зрелые клетки памяти в пролиферирующее состояние в ответ на действие провоспалительного IL-2.

В нашем исследовании в группе пациентов с ЛУ повышение IL-16 сочетается с меньшей вирусной нагрузкой ВИЧ и с большим уровнем CD4+ Т-лим-

фоцитов по сравнению с группой пациентов без ЛУ. Снижение ВН ВИЧ у пациентов данной группы, вероятно, согласуется со способностью IL-16 ингибировать репликацию ВИЧ в макрофагах и Т-лимфоцитах. Сочетание этого явления со сниженным при мутациях резистентности фитнесом, возможно, вносит общий вклад в снижение вирусной нагрузки в целом, поскольку изменения в иммунном гомеостазе являются ключевым звеном при ВИЧ-инфекции. Вероятно, концентрация IL-16 в сыворотке в большей степени отражает иммунологическое и клиническое состояние пациентов по сравнению с IL-6. У пациентов без ЛУ мы наблюдали увеличение вирусной нагрузки в сочетании со снижением уровня IL-16, что может свидетельствовать о прогрессировании ВИЧ-инфекции в условиях недостаточной приверженности больных к лечению. В этом случае, с одной стороны, не происходит формирование мутантных вариантов, но, с другой стороны, наблюдается быстрое прогрессирование заболевания при несдерживаемой репликации вируса и поддержании гиперактивации и хронического воспаления на высоких уровнях.

В правиле (1), помимо IL-16, участвует IL-6, который при значениях меньше 12 позволяет выделить 13 пациентов с ЛУ из 31. IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин с установленными про- и противовоспалительными свойствами. IL-6 синтезируется различными типами лимфоидных и нелимфоидных клеток, включая Т- и В-лимфоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки, макрофаги/моноциты, мезангиальные и глиальные клетки [20]. IL-6 индуцирует продукцию IL-2 мононуклеарными клетками, активируя, таким образом, и Т-клетки [21]. Основное его действие связано с его участием в качестве кофактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и преобразовании в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины [22]. По многообразию клеточных источников продукции и мишеней биологического действия IL-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции.

Обнаруженное нами выраженное повышение уровня IL-6 у пациентов с сохраняющейся вирусной нагрузкой согласуется с гипотезой «постоянно циркулирующего IL-6» [23], который опосредованно (через активацию вырабатывающих его моноцитов и Т-хелперов) используется ВИЧ для усиления своей репликации и играет важную роль в В-клеточной активации. Однако исследуемая

группа неоднородна и состоит из пациентов двух подгрупп в зависимости от выявления ЛУ. Обе группы различаются по уровню CD4+ Т-лимфоцитов, вирусной нагрузке и уровню исследуемых цитокинов, в частности IL-6.

В исследованной нами группе пациентов с неуспехом ВААРТ наблюдаются сохранение репликации ВИЧ и невысокий уровень CD4+ Т-лимфоцитов, причем в подгруппах пациентов эти показатели демонстрируют разнонаправленные тенденции. В подгруппе пациентов с ЛУ мы наблюдаем более низкие значения CD4+ Т-лимфоцитов, что отражает тяжесть иммуносупрессии в условиях неуспеха ВААРТ. С другой стороны, у этих пациентов уровень вирусной нагрузки ВИЧ более низкий, чем у пациентов без выявленной ЛУ. Связано это с тем, что формирование мутаций резистентности приводит к снижению фитнеса вирусной популяции. Понятие фитнеса представляет собой способность к размножению вируса в чувствительном организме, которая зависит от многих факторов со стороны вируса, со стороны хозяина, а также от активности лекарственного препарата [8].

Нами было выявлено значимое увеличение уровня IL-6 у пациентов без ЛУ в сравнении с пациентами с выявленной ЛУ. В группе пациентов без ЛУ репликация ВИЧ находится на более высоком уровне, чем в группе пациентов с выявленной ЛУ. Можно предполагать, что в основе этого лежат причины, не связанные с ЛУ, в частности стойкое нарушение приверженности к проводимой терапии. Известно, что приверженность пациента менее 60–70% мало способствует развитию мутаций лекарственной устойчивости в силу недостаточного лекарственного пресса [24]. Мы предполагаем, что выраженная репликация вируса сопровождается высоким уровнем иммунной активации и, как следствие, повышенным уровнем провоспалительного IL-6. Увеличение уровня РНК ВИЧ при этом вызывает активацию путей тканевого фактора, тромбоза и фибринолиза и/или воспалительную реакцию [25, 26]. Высокий

уровень IL-6 обладает широким функциональным воздействием, включая синтез белков острой фазы воспаления в печени, активацию эндотелиальных клеток, стимулирование пролиферации и дифференцировки [27]. Увеличение уровня IL-6, выявленное нами в группе пациентов без ЛУ, свидетельствует об активно протекающих процессах хронического воспаления и гиперактивации при потере контроля над репликацией ВИЧ [28], то есть связано с прогрессией заболевания.

Тем не менее, несмотря на всю значимость IL-6 для патогенеза ВИЧ-инфекции, мы сформулировали математическую модель, основывающуюся на IL-16, которая по всем характеристикам (значимости модели в целом, значимости предикторов, наибольшем значении площади под ROC-кривой, а также наименьшим значением критерия Акаике, по анализу результатов предсказания этой модели на данной когорте) является наилучшей. Эта модель позволяет с вероятностью 0,99 описать наличие ЛУ больного с неуспехом ВААРТ.

Заключение. Наше исследование показало значимость изучения ряда иммунологических показателей при ВИЧ-инфекции, в частности IL-6 и IL-16. Иммунная активация при ВИЧ-инфекции является ведущим звеном патогенеза, поддерживая системное воспаление в организме пациента. Особенно значимо это становится при неудаче антиретровирусной терапии, которая приводит не только к прогрессированию ВИЧ-инфекции, но и сопровождается формированием лекарственной резистентности, усугубляя, таким образом, течение основного заболевания и способствуя развитию оппортунистических заболеваний на фоне сохраняющейся вирусной репликации. Исследование цитокинов при формировании лекарственной резистентности, безусловно, не может заменить метод генотипирования ВИЧ. Использование метода математических моделей с привлечением иммунологических показателей позволяет оценить вклад каждого из исследуемых биомаркеров в развитие инфекционного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wada N.I., Jacobson L.P., Margolick J.B., Breen E.C., Macatangay B., Penugonda S., Martínez-Maza O., Bream J.H. The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation. *AIDS*, 2015, Vol. 29, No. 4, pp. 463–471. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000545. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2015/02200/The_effect_of_HAART_induced_HIV_suppression_on.8.aspx.
2. Cortez K.J., Maldarelli F. Clinical Management of HIV Drug Resistance. *Viruses*, 2011, Vol. 3, No. 4, pp. 347–378. DOI: 10.3390/v3040347. URL: <http://www.mdpi.com/1999-4915/3/4/347>.

3. French M.A., Cozzi-Lepri A., Arduino R.C., Johnson M., Achhra A.C., Landay A. 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, Vol. 29, No. 7, pp. 847–851. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000618. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2015/04240/Plasma_levels_of_cytokines_and_chemokines_and_the.12.aspx.
4. Hamlyn E., Fidler S., Stöhr W., Cooper D.A., Tambussi G., Schechter M., Miro J.M., McClure M., Weber J., Babiker A., Porter K. Interleukin-6 and D-dimer levels at seroconversion as predictors of HIV-1 disease progression. *AIDS*, 2014, Vol. 28, No. 6, pp. 869–874. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000155. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2014/03270/Interleukin_6_and_D_dimer_levels_at_seroconversion.8.aspx.
5. Кабаков Р.И. R в действии. Анализ и визуализация данных в программе R / Пер. с англ. П.А.Волковой. М.: ДМК Пресс, 2014. 588 с. [Kabakov R.I. R in action. Analysis and visualization of data in the program R. Ed. P.A.Volkova. Moscow: DMK Press, 2014. 588 p. (In Russ.)].
6. Flach P. Machine Learning. The Art and Science of Algorithms that make Sense of Data. Cambridge University Press, 2012, 396 p.
7. Hyndman R.J., Athanasopoulos G. Forecasting: principles and practice. *O Texts*, 2013. URL: <https://www.otexts.org/1461> (September 30, 2017).
8. Бобкова М.Р. Лекарственная устойчивость ВИЧ. М.: Человек, 2014. 288 с. [Bobkova M.R. Drug resistance of HIV. Moscow: Chelovek, 2014, 288 p. (In Russ.)].
9. Селимова Л.М., Серебровская Л.В., Иванова Л.А., Носик Д.Н. Показатели CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов пациентов, инфицированных вариантами вируса иммунодефицита человека 1-го типа подтипа А, несущими мутации V77I в протеазе и A62V в обратной транскриптазе // Вопросы вирусологии. 2010. № 2. С. 22–26. URL: <http://www.medcollegelib.ru/doc/0507-40882-SCN0004.html>. [Selimova L.M., Serebrovskaya L.V., Ivanova L.A., Nosik D.N. Indicators CD4+ and CD8+ T-lymphocytes of patients infected with variants of human immunodeficiency virus 1-th type, subtype A and carrying mutations V77I in protease and A62V in reverse transcriptase. *Problems of Virology*, 2010, No. 2, C. 22–26. URL: <http://www.medcollegelib.ru/doc/0507-40882-SCN0004.html> (In Russ.)].
10. Armah K.A., McGinnis K., Baker J., Gibert C., Butt A.A., Bryant K.J. et al. HIV status, burden of comorbid disease, and biomarkers of inflammation, altered coagulation, and monocyte activation. *Clin. Infect. Dis.*, 2012, No. 55, pp. 126–136. DOI: 10.1093/cid/cis406 <http://paperity.org/p/42769640/hiv-status-burden-of-comorbid-disease-and-biomarkers-of-inflammation-altered-coagulation>.
11. Шмагель К.В., Шмагель Н.Г., Черешнев В.А. Активация иммунитета при ВИЧ-инфекции // Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, № 5. С. 489–504. DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-489-504. URL: <http://mimmun.ru/mimmun/article/view/1348/964>. [Shmagel K.V., Shmagel N.G., Chereshev V.A. Activation of the immune system in HIV infection. *Medical Immunology*, 2017, Vol. 19, No. 5, pp. 489–504. DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-489-504. URL: <http://mimmun.ru/mimmun/article/view/1348/964> (In Russ.)].
12. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. Saint-Petersburg: Foliant, 2008, 552 p. (In Russ.)].
13. Wilson K.C., Center D.M., Cruikshank W.W. The effect of interleukin-16 and its precursor on T lymphocyte activation and growth. *Growth Factors*, 2004, No. 22 (2), pp. 97–104. PMID: 15253385. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/b285/78bd90242858d2b607836f329816be45920.pdf>.
14. Amiel C., Darcissac E., Tuong M., Dewulf J., Loyens M., Mouton Y., Capron A., Bahr G.M. Interleukin-16 (IL16) inhibits human immunodeficiency virus replication in cells from infected subjects, and serum IL-16 levels drop with disease progression. *J. Infect. Dis.*, 1999, No. 179, pp. 83–91. DOI: 10.1086/314550. URL: <http://paperity.org/p/58504903/interleukin-16-il-16-inhibits-human-immunodeficiency-virus-replication-in-cells-from>.
15. Baier M., Werner A., Bannert N., Metzner K., Kurth R. HIV suppression by interleukin-16. *Nature*, 1995, No. 378, pp. 563. DOI: 10.1038/378563a0. URL: <https://www.nature.com/articles/378563a0>.
16. Bisset L.R., Rothen M., Joller-Jemelka H.I., Dubs R.W., Grob P.J., Opravil M. Change in circulating levels of the chemokines macrophage inflammatory proteins 1a and 1b, RANTES, monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-16 following treatment of severely immunodeficient HIV-infected patients with indinavir. *AIDS*, 1997, No. 11, pp. 485–491. PMID: 9084796. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/1997/04000/Change_in_circulating_levels_of_the_chemokines.12.aspx.
17. Bader A., Brockmeyer N., Schnaitmann E., Mertins L. et al. Interleukin-16 serum levels during the course of HIV-1 infection. *AIDS*, 2001, Vol. 15, No. 4, pp. 528–529. PMID: 11242152. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2001/03090/Interleukin_16_serum_levels_during_the_course_of.14.aspx.
18. Chun T.W., Justement J.S., Moir S., Hallahan C.W., Ehler L.A., Liu S., McLaughlin M., Dybul M., Mican J.M., Fauci A.S. Suppression of HIV replication in the resting CD4+ T cell reservoir by autologous CD8+ T cells: implications for the development of therapeutic strategies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, No. 98, pp. 253–258. DOI: 10.1073/pnas.98.1.253. URL: <https://www.pubfacts.com/detail/11136258/Suppression-of-HIV-replication-in-the-resting-CD4-T-cell-reservoir-by-autologous-CD8-T-cells-implica>.
19. Center D.M., Kornfeld H., Ryan T.C., Cruikshank W.W. Interleukin 16: implications for CD4 functions and HIV-1 progression. *Immunol. Today*, 2000, No. 21 (6), pp. 273–280. PMID: 10825739. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Center+D.M.%2C+Kornfeld+>

- H. %2C+Ryan+T.C.%2C+Cruikshank+W.W.+Interleukin+16%3A+implications+for+CD4+functions+and+HIV1+progression+%2F%2F+Immunol.+Today%2C+2000%2C+%E2%84%96+21(6)%2C+pp.+273-80.+PMID%3A+10825739.
20. Попкова Т.В., Новикова Д.С., Насонов Е.Л. Интерлейкин 6 и сердечно-сосудистая патология при ревматоидном артрите // Научно-практическая ревматология. 2011. № 4. С. 64–72. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2011-63>. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/interleukin-6-i-serdechno-sosudistaya-patologiya-pri-revmatoidnom-artrite>. [Popkova T.V., Novikova D.S., Nasonov E.L. Interleukin-6 and cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Scientific-Practical Rheumatology*, 2011, No. 4, pp. 64–72. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2011-63>. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/interleukin-6-i-serdechno-sosudistaya-patologiya-pri-revmatoidnom-artrite> (In Russ.)].
 21. Орадова А.Ш., Канжигалина З.К., Касенова Р.К. Лабораторная диагностика цитокинов (обзорная статья) // Вестник Казахского государственного медицинского университета. 2015. № 1. С. 357–359. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/laboratornaya-diagnostika-tsitokinov-obzornaya-statya-1>. [Orazova A.Sh., Kanzhigalina Z.K., Kasanova R.K. Laboratory diagnostics of cytokines (review article). *Bulletin of Kazakh State Medical University*, 2015, No. 1, pp. 357–359. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/laboratornaya-diagnostika-tsitokinov-obzornaya-statya-1> (In Russ.)].
 22. Белова О.В., Арион В.Я., Сергиенко В.И. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2008. № 1. С. 41–55. URL: <http://www.immunopathology.com/ru/article.php?article=6>. [Belova O.V., Arion V.Ya., Sergienko V.I. Role of cytokines in immunological function of skin. *Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2008, No. 1, pp. 41–55. URL: <http://www.immunopathology.com/ru/article.php?article=6> (In Russ.)].
 23. Вирус иммунодефицита человека — медицина / Под ред. Н.А.Белякова и А.Г.Рахмановой. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. 752 с. [The human immunodeficiency virus — medicine. Eds. N.A.Belyakov and A.G.Rakhmanova. *Saint-Petersburg.: Baltic medical education center*, 2010, 752 p. (In Russ.)].
 24. Федяева О.Н., Юшук Н.Д., Сирота Н.А. Прогнозирование приверженности антиретровирусной терапии у пациентов с ВИЧ-инфекцией // Казанский медицинский журнал. 2014. № 5. С. 715–721. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/prognostirovanie-priverzhennosti-antiretrovirusnoy-terapii-u-patsientov-s-vich-infektsiei>. [Fedyeva O.N., Yushchuk N.D., Sirota N.A. Prediction of adherence to antiretroviral therapy in patients with HIV infection. *Kazan Medical Journal*, 2014, No. 5, pp. 715–721. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/prognostirovanie-priverzhennosti-antiretrovirusnoy-terapii-u-patsientov-s-vich-infektsiei> (In Russ.)].
 25. Kuller L.H., Tracy R., Bellosso W., De Wit S., Drummond F., Lane H.C., Ledergerber B., Lundgren J., Neuhaus J., Nixon D., Paton N.I., Neaton J.D. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.*, 2008, Vol. 5, No. 10, pp. 203. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050203. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18942885>.
 26. Volpato S., Guralnik J.M., Ferrucci L., Balfour J., Chaves P., Fried L.P., Harris T.B. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation*, 2001, Vol. 103, No. 7, pp. 947–953. PMID: 11181468. URL: <http://circ.ahajournals.org/content/103/7/947>.
 27. Hartman J., Frishman W.H. Inflammation and Atherosclerosis: A Review of the Role of Interleukin-6 in the Development of Atherosclerosis and the Potential for Targeted Drug Therapy. *Cardiology in Review*, 2014, Vol. 22, No. 3, pp. 147–151. DOI: 10.1097/CRD.000000000000021. URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/Inflammation-and-atherosclerosis-a-review-of-the-r-Hartman-Frishman/9103e48e127cc895869009de43255665f22e8e3f>.
 28. Hamlyn E., Fidler S., Stöhr W., Cooper D.A., Tambussi G., Schechter M., Miro J.M., McClure M., Weber J., Babiker A., Porter K. Interleukin-6 and D-dimer levels at seroconversion as predictors of HIV-1 disease progression. *AIDS*, 2014, Vol. 28, No. 6, pp. 869–874. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001155. URL: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2014/03270/Interleukin_6_and_D_dimer_levels_at_seroconversion.8.aspx.

Статья поступила 20.11.2017 г.

Контактная информация: Елисеева Виктория Сергеевна, e-mail: Vic-eliseeva@mail.ru

Коллектив авторов:

Гельцер Борис Израйлевич — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор департамента клинической медицины Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», 690091, Владивосток, ул. Суханова, 8, e-mail: Boris.geltser@vvsu.ru;
 Склад Лидия Федоровна — д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, 690011, Владивосток, ул. Борисенко, 50, e-mail: Lidiya.sklyar@hotmail.com;
 Елисеева Виктория Сергеевна — м.н.с. центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», 690105, Владивосток, ул. Борисенко, 50, e-mail: Vic-eliseeva@mail.ru;
 Шахгельдян Карина Иосифовна — д.т.н., директор Института информационных технологий ФГБОУ ВО «Владивостокский государственный университет экономики и сервиса»; зав. лабораторией анализа больших данных в здравоохранении и биомедицине Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», 690014, Владивосток, ул. Гоголя, 41, ВГУЭС, e-mail: Carinash@vvsu.ru;
 Маркелова Елена Владимировна — д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2, e-mail: Markev2010@mail.ru;
 Емцева Елена Дмитриевна — к.ф.-м.н., доцент кафедры математики и моделирования ФГБОУ ВО «Владивостокский государственный университет экономики и сервиса», 690014, Владивосток, ул. Гоголя, 41, e-mail: Emtseva@mail.ru;
 Бениова Светлана Николаевна — д.м.н., профессор Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», 690105, Владивосток, ул. Русская, 55, e-mail: Office@kkb2.ru.