

УДК 616.98:576.3

<http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-3-52-60>

СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ CD4+ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ВИЧ/ВГС КОИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

© Л. Б. Королевская*, Е. В. Сайдакова, В. В. Власова, К. В. Шмагель

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

Цель работы: оценка параметров митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с дискордантным и стандартным ответом иммунной системы на антиретровирусную терапию.

Материалы и методы. Обследованы ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты с дискордантным (n=21) и стандартным (n=20) ответом на лечение. Контрольную группу составили 23 неинфицированных добровольца. Методом проточной цитофлюорометрии в CD4+ Т-лимфоцитах было установлено содержание PGC-1 α , определены масса и мембранный потенциал митохондрий.

Результаты. Показано, что величина митохондриального мембранного потенциала CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных субъектов со стандартным и дискордантным ответом на лечение сопоставима с таковой у неинфицированных доноров. У ВИЧ/ВГС коинфицированных больных по сравнению со здоровыми донорами повышена экспрессия PGC-1 α и увеличена масса органелл в CD4+ Т-клетках. Установлено, что в отличие от здоровых лиц у ВИЧ/ВГС коинфицированных субъектов отсутствует зависимость между массой митохондрий и содержанием PGC-1 α в CD4+ Т-лимфоцитах.

Заключение. В CD4+ Т-клетках ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с дискордантным и стандартным ответом иммунной системы на антиретровирусную терапию рост массы органелл не связан с производством энергии. При ВИЧ/ВГС инфекции отсутствует взаимосвязь между массой митохондрий и регулятором их биогенеза.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, гепатит С, митохондрии, CD4+ Т-лимфоциты, антиретровирусная терапия, дискордантный ответ

*Контакт: Королевская Лариса Борисовна, bioqueen@mail.ru

STATE OF CD4+ T-LYMPHOCYTES MITOCHONDRIA IN HIV/HCV COINFECTED PATIENTS WITH DIFFERENT EFFICIENCY OF IMMUNE SYSTEM RESTORATION DURING ANTIRETROVIRAL THERAPY

© Larisa B. Korolevskaya*, Evgenia V. Saidakova, Violetta V. Vlasova, Constantin V. Shmagel

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences — a branch of the Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Objective: to assess mitochondrial parameters in CD4+ T-cells of HIV/HCV coinfecting patients with a discordant and standard response of the immune system to antiretroviral therapy.

Materials and methods. HIV/HCV coinfecting patients with discordant (n=21) and standard (n=20) response to treatment were examined. The control group comprised of 23 uninfected volunteers. In CD4+ T-cells, PGC-1 α content, mitochondrial mass, and mitochondrial membrane potential were determined with flow cytometry.

Results. In CD4+ T-cells of HIV/HCV coinfecting subjects with standard and discordant response to treatment, mitochondrial membrane potential was similar to that of uninfected donors. Compared with healthy controls, HIV/HCV coinfecting patients had increased organelles' mass and PGC-1 α expression in CD4+ T-cells. In contrast to healthy individuals, HIV/HCV coinfecting subjects had no correlation between mitochondrial mass and PGC-1 α content in CD4+ T-lymphocytes.

Conclusion. In CD4+ T-cells of HIV/HCV coinfecting patients with discordant and standard response to antiretroviral therapy, up-regulation of mitochondrial mass is not associated with energy production. In HIV/HCV coinfection, there is no relationship between the mitochondrial mass and mitochondrial biogenesis regulator.

Key words: HIV-infection, hepatitis C, mitochondria, CD4+ T-lymphocytes, antiretroviral therapy, discordant response

*Contact: Korolevskaya Larisa Borisovna, bioqueen@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Королевская Л.Б., Сайдакова Е.В., Власова В.В., Шмагель К.В. Состояние митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС-коинфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунной системы при проведении антиретровирусной терапии // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2021. Т. 13, № 3. С. 52–60, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-3-52-60>.

Conflict of interest: the authors stated that there is no potential conflict of interest.

For citation: Korolevskaya L.B., Saidakova E.V., Vlasova V.V., Shmagel K.V. State of CD4+ T-lymphocytes mitochondria in HIV/HCV coinfecting patients with different efficiency of immune system restoration during antiretroviral therapy // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2021. Vol. 13, No. 3. P. 52–60, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-3-52-60>.

Введение. Применение антиретровирусной терапии (АРВТ) приводит к угнетению репликации вируса и последующему увеличению абсолютного количества CD4+ Т-лимфоцитов в периферической крови ВИЧ-инфицированных пациентов (стандартный ответ на АРВТ) [1]. Однако у части больных (до 30%) развивается дискордантный ответ на лечение, при котором, несмотря на эффективное снижение вирусной нагрузки, численность периферических CD4+ Т-клеток остается низкой [2, 3]. У таких больных по сравнению с субъектами, стандартно отвечающими на АРВТ, значительно увеличен риск заболеваемости и смертности как от СПИД-ассоциированных заболеваний, так и болезней, неассоциированных со СПИД [4].

Коинфицирование вирусом гепатита С (ВГС) широко распространено среди ВИЧ-позитивных лиц вследствие общих путей передачи вирусов. Необходимо отметить, что среди ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов доля субъектов с дискордантным ответом на лечение выше, чем среди ВИЧ моноинфицированных больных [5]. Кроме того, коинфекция ВГС вносит существенный вклад в увеличение заболеваемости, неассоциированной со СПИД, и смертности больных, зараженных ВИЧ [6].

Митохондрии являются жизненно важными органеллами клетки, которые связаны с метаболизмом, производством энергии, клеточным дыханием, продукцией активных форм кислорода, пролиферацией, гибелью клетки [7–10]. Изменение ряда параметров митохондрий, таких как увеличение или уменьшение мембранного потенциала и массы органелл, дефекты биогенеза, аккумуляция активных форм кислорода, ультраструктурные модификации и др., были показаны в Т-лимфоцитах ВИЧ-позитивных пациентов [11–14], а также различных экспериментальных модельных системах и гепатоцитах больных, зараженных ВГС [15,

16]. Данных о состоянии митохондрий у ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц с различной эффективностью восстановления иммунитета на фоне АРВТ в доступной литературе не представлено.

Целью настоящей работы была оценка параметров митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с дискордантным и стандартным ответом иммунной системы на антиретровирусную терапию.

Материалы и методы. Проведение исследования было одобрено этическим комитетом Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (№ IRB00008964). Каждый обследованный подписал информированное согласие. В исследование были включены ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты, до начала лечения имевшие численность периферических CD4+ Т-лимфоцитов менее 200 мкл⁻¹. Больные регулярно принимали АРВТ более двух лет и не получали лечение интерферонами. Эффективность АРВТ оценивали по увеличению количества CD4+ Т-лимфоцитов крови относительно произвольно установленного порогового значения 350 мкл⁻¹ [3]. В соответствии с этим критерием пациенты были разделены на две группы: субъекты с дискордантным ответом на АРВТ (количество CD4+ Т-клеток менее 350 мкл⁻¹; n=21) и больные со стандартным ответом на лечение (число CD4+ Т-клеток более 350 мкл⁻¹; n=20). Контрольную группу составили относительно здоровые неинфицированные добровольцы (n=23).

Забор крови осуществляли в пробирки, покрытые микрокаплями этилендиаминтетрауксусной кислоты в качестве антикоагулянта (Weihai Hongyu Medical Devices Co Ltd, Китай). Отделение плазмы от форменных элементов проводили центрифугированием. Уровни вирусной нагрузки ВИЧ и ВГС определяли, соответственно, методом разветвленной ДНК-гибридизации наборами «Versant HIV-1 RNA 3.0 assay

б» на анализаторе Versant 440 (Siemens, Германия) и методом ПЦР в реальном времени наборами «ОТ Гепатоген-С количественный» (ДНК-Технология, Россия) на термоциклере iCycler IQ5 (BioRad, США) согласно прилагаемым инструкциям. Численность CD4+ Т-лимфоцитов периферической крови оценивали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием коммерческого набора Immunocytometry Systems (BDIS) Simultest™ (Becton Dickinson, США). Мононуклеарные клетки получали путем центрифугирования двукратно разведенной крови в градиенте плотности Диаколла (1,077 г/мл, Диаэм, Россия). Выделенные клетки подвергали контролируемому замораживанию в жидком азоте в среде, содержащей 90% термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, Южная Америка) и 10% диметилсульфоксида (AppliChem, Германия) до момента использования. Перед проведением иммунофенотипирования клетки размораживали. Подсчет жизнеспособных клеток (окраска трипановым синим) проводили на приборе Vi-CELL XR Cell Counter (Beckman Coulter, США) с использованием программного обеспечения Vi-CELL XR 2.04 (Beckman Coulter, США).

Идентификацию CD4+ Т-клеток проводили методом проточной цитометрии на флуориметре Fortessa (Becton Dickinson, США) с использованием моноклональных анти-CD3-AF700 (Becton Dickenson США), анти-CD4-Qdot605 (Invitrogen, США) антител и витального красителя LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain Kit (Invitrogen, США). Митохондриально-селективные катионные красители MitoTracker™ Orange CM-H2TMRos и MitoTracker™ Green FM (Invitrogen, США) были применены, соответственно, для оценки мембранного потенциала и массы митохондрий в CD4+ Т-лимфоцитах. Нефлуоресцентный краситель MitoTracker Orange проникает в клетку пассивной диффузией и предпочтительно аккумулируется в митохондриях, где окисляется до флуоресцентной формы [17]. Интенсивность его свечения напрямую связана с величиной мембранного потенциала активных митохондрий. Краситель MitoTracker Green после проникновения в клетку и под внутреннюю мембрану митохондрий взаимодействует с остатками цистеина в составе митохондриальных белков [17, 18]. Его накопление в матриксе прямо пропорционально содержанию (митохондриальной массе) и не зависит от мембранного потенциала органеллы. Красители готовили согласно прилагаемым инструк-

циям, конечные концентрации MitoTracker Green и MitoTracker Orange составили, соответственно, 25 нМ и 500 нМ. В качестве маркера биогенеза митохондрий использовали PGC-1 α (Peroxisome proliferator activated receptor Gamma Coactivator-1 alpha) — коактиватор транскрипционных факторов митохондриальных генов, вовлеченных, в том числе, и в увеличение массы органелл [19, 20]. Внутриклеточное определение PGC-1 α проводили с использованием поликлональных анти-PGC-1 α -DyLight488 антител (Novus Biologicals, Великобритания) и буферных растворов для фиксации и пермеабиллизации клеток (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием непараметрических методов. В выборке рассчитывали медиану и интерквартильные размахи (25–75 перцентиль). Достоверность различий определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена.

Результаты и их обсуждение. Все группы не различались между собой по возрасту и половому составу обследованных субъектов (таблица). Среди ВИЧ/ВГС коинфицированных больных обеих групп преобладал парентеральный путь заражения ВИЧ. Пациенты со стандартным и дискордантным ответом на АРВТ не различались по длительности ВИЧ- и ВГС-инфекции, концентрации вируса гепатита С в крови, численности периферических CD4+ Т-лимфоцитов до начала приема антиретровирусных препаратов. К моменту проведения исследования репликация ВИЧ у пациентов была подавлена (вирусная нагрузка менее 50 копий/мл крови), что свидетельствует о вирусологической эффективности назначенной терапии. По сравнению с больными, давшими стандартный ответ на лечение, иммунодискордантные субъекты имели меньшую продолжительность АРВТ ($P < 0,05$). Абсолютное количество CD4+ Т-клеток у субъектов с дискордантным ответом на АРВТ было значительно ниже, чем в других группах ($p < 0,001$). У ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов второй группы, несмотря на эффективный ответ иммунной системы на лечение, численность CD4+ Т-лимфоцитов была снижена относительно соответствующего показателя здоровых добровольцев ($p < 0,001$).

Оценка ряда показателей состояния митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов ВИЧ/ВГС коинфицированных и неинфицированных людей обнаружила

Клинические характеристики обследованных групп

Таблица

Table

Clinical characteristics of the examined groups

Показатели	ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты		Здоровые добровольцы (3)
	дискордантный ответ на АРТ (1)	стандартный ответ на АРТ (2)	
Обследовано пациентов, п	21	20	23
Возраст, лет	37 (34–39)*	36 (33–40)	32 (28–39)
Пол (мужчины), п	12 (57%)	9 (45%)	8 (35%)
Пути передачи ВИЧ-инфекции			
Парентеральный, п	21 (100%)	19 (95%)	—
Половой, п	0 (%)	1 (5%)	—
Характеристика ВИЧ-инфекции			
Продолжительность, лет	7 (3–15)	12 (6–16)	—
Длительность АРТ, лет	3 (2,4–3,5) P _{1–2} <0,05	4,2 (3–6,9)	—
Численность CD4+ Т-клеток до начала АРТ, мкл ⁻¹	120 (33–155)	120 (97–190)	—
Численность CD4+ Т-клеток на момент исследования, мкл ⁻¹	252 (191–296) P _{1–2} <0,001 P _{1–3} <0,001	474 (388–617) P _{2–3} <0,001	885 (772–1262)
Вирусная нагрузка ВИЧ, копий/мл	<50**	<50	—
Характеристика ВГС-инфекции			
Продолжительность, лет	7 (3–15)	12 (6–16)	—
Вирусная нагрузка ВГС, I _n копий/мл	10,8 (8,8–12,1)	11,2 (10,4–12,0)	—

Примечание: ВИЧ — вирус иммунодефицита человека; ВГС — вирус гепатита С; АРТ — антиретровирусная терапия. * — указаны медианы и интерквартильные размахи; ** — предел чувствительности тест-системы. Различия между группами определены с использованием U-критерия Манна-Уитни

Note: HIV - human immunodeficiency virus; HCV - hepatitis C virus; ART - antiretroviral therapy. * — medians and interquartile ranges are indicated; ** — the sensitivity limit of the test system. The differences between the groups were determined using the Mann-Whitney U-test.

следующее. У здоровых лиц медиана интенсивности флуоресценции потенциал-чувствительного красителя MitoTracker Orange (рис. 1, а) была ниже по сравнению с соответствующими значениями, установленными у пациентов с ВИЧ/ВГС коинфекцией. При сравнении групп ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц более высокий заряд мембраны митохондрий был выявлен у субъектов со стандартным ответом на АРВТ. Вместе с тем статистически значимых различий между всеми исследованными группами не установлено ($p > 0,05$).

Масса митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных как с дискордантным, так и со стандартным ответом на АРВТ статистически значимо превышала соответствующий показатель, обнаруженный у здоровых людей (рис. 1, б; $p < 0,05$). Хотя медиана интенсивности свечения MitoTracker Green у пациентов с дискордантным ответом на АРВТ была ниже, чем у больных, стандартно отвечающих на лечение, статистически значимых различий между группами не

выявлено. Одним из основных факторов, индуцирующих увеличение массы митохондрий в клетке (биогенез), является транскрипционный коактиватор PGC-1 α [20]. Оценка его содержания в CD4+ Т-лимфоцитах (рис. 1, в) показала, что у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов средняя интенсивность флуоресценции клеток, экспрессирующих PGC-1 α , существенно превышала соответствующий показатель, обнаруженный у здоровых добровольцев ($p < 0,001$). При сравнении групп ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц более высокое содержание PGC-1 α было установлено у субъектов с дискордантным ответом на АРВТ. Однако выявленные различия не достигали уровня статистической значимости ($p > 0,05$). Следует отметить, что мы не выявили связи между исследованными параметрами и продолжительностью АРВТ ($p > 0,05$). Таким образом, установлено, что по сравнению со здоровыми людьми у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных вне зависимости от эффективности ответа на АРВТ существенно увеличена масса митохондрий

и повышена экспрессия маркера их биогенеза в CD4+ Т-клетках.

Исходя из того, что PGC-1 α считается одним из позитивных регуляторов биогенеза митохондрий [20], мы провели оценку связи между уровнем его экспрессии и интенсивностью свечения красителя MitoTracker Green, накопление которого прямо пропорционально массе органелл [18]. У здоровых людей (рис. 2, а) была обнаружена прямая стати-

Изменения параметров митохондрий у ВИЧ-инфицированных больных были показаны ранее [11–14]. Как правило, авторы исследовали влияние ВИЧ-инфекции, длительности терапии или ее отсутствия на состояние митохондрий Т-лимфоцитов различных субпопуляций. В настоящей работе нами впервые проведена оценка мембранного потенциала митохондрий, массы органелл и регулятора их биогенеза в CD4+ Т-лимфоцитах

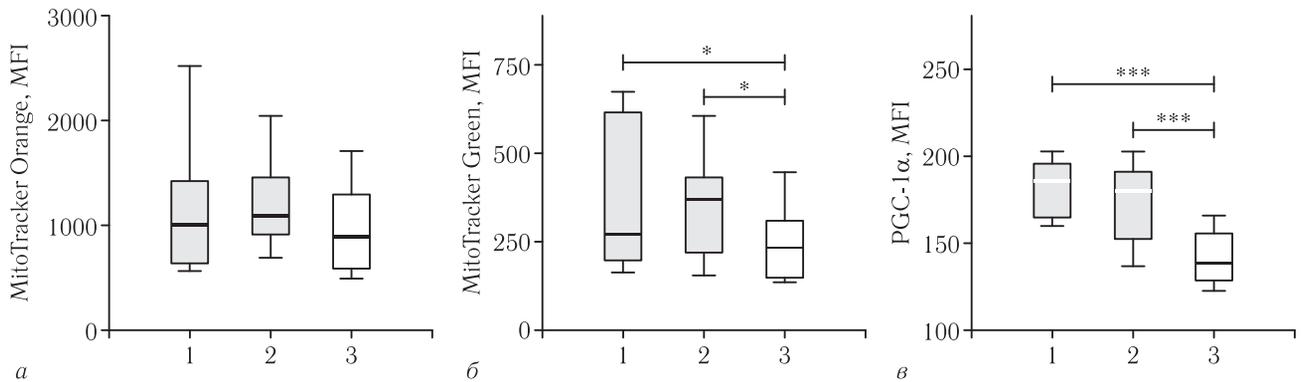


Рис. 1. Мембранный потенциал, масса митохондрий и содержание PGC-1 α в CD4+ Т-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунитета на фоне антиретровирусной терапии: а — заряд мембраны митохондрий; б — масса органелл; в — содержание PGC-1 α . Группы обследованных: 1 — ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты с дискордантным ответом на лечение; 2 — ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты со стандартным ответом на терапию; 3 — здоровые добровольцы. * — P<0,05; *** — P<0,001 (U-критерий Манна-Уитни). MFI — средняя интенсивность свечения

Fig. 1. Membrane potential, mitochondrial mass and PGC-1 α content in CD4+ T-lymphocytes of HIV/HCV co-infected patients with different immunity restoration efficiency against the background of antiretroviral therapy: а — mitochondrial membrane charge; б — organelle mass; в — PGC-1 α content. The groups examined were: 1 — HIV/HCV co-infected patients with a discordant response to treatment; 2 — HIV/HCV co-infected patients with a standard response to therapy; 3 — healthy volunteers. * — P<0,05; *** — P<0,001 (Mann-Whitney U-test). MFI — Mean Fluorescence Intensity

стически значимая зависимость между массой митохондрий в CD4+ Т-лимфоцитах и транскрипционным коактиватором их биогенеза ($r=0,655$; $p<0,001$). Вместе с тем у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов со стандартным ответом на АРВТ (рис. 2, б) связь между показателями была значительно слабее ($r=0,216$; $p>0,05$), а у больных с дискордантным ответом на лечение (рис. 2, в) отсутствовала ($r=0,099$; $p>0,05$).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что по сравнению со здоровыми людьми у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунитета при проведении АРВТ увеличена масса митохондрий и существенно повышено содержание PGC-1 α в CD4+ Т-лимфоцитах. При этом величина митохондриального мембранного потенциала CD4+ Т-клеток у ВИЧ/ВГС коинфицированных субъектов со стандартным и дискордантным ответом на лечение сопоставима с таковой у неинфицированных доноров.

ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунной системы при проведении АРВТ.

Мембранный потенциал является важным показателем функционального состояния митохондрий: его поддержание служит индикатором «здоровья» органелл и уровня метаболической активности клетки, а утрата ассоциирована с митохондриальным путем апоптоза [8]. Трансмембранный потенциал возникает в результате окислительно-восстановительных превращений, связанных с активностью цикла Кребса, и служит промежуточной формой накопления энергии, которая используется аденозинтрифосфат (АТФ)-синтазой для образования АТФ, являющегося универсальным источником энергии клетки [7]. Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют об отсутствии различий заряда мембраны митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных и неинфицированных лиц. Наличие дискордантного ответа у коинфицированных больных не

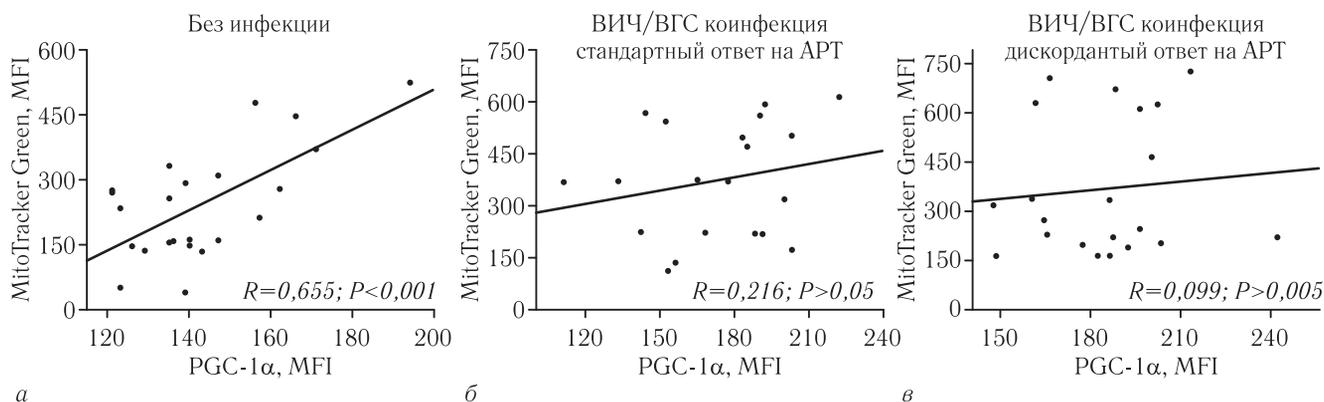


Рис. 2. Связь между массой митохондрий и уровнем экспрессии PGC-1 α в CD4+ Т-лимфоцитах у ВИЧ/ВГС коинфицированных и неинфицированных людей. MFI — средняя интенсивность свечения. Использован метод ранговых корреляций Спирмена
Fig. 2. The relationship between the mass of mitochondria and the level of PGC-1 α expression in CD4+ T lymphocytes in HIV/HCV co-infected and uninfected people. MFI — Mean Fluorescence Intensity. Spearman's method of rank correlations was used

сопровождалось значительным изменением митохондриального мембранного потенциала. Следует отметить, что представленные в доступной литературе данные о поляризации митохондрий у ВИЧ-позитивных больных крайне противоречивы. Рядом авторов не было выявлено различий при оценке мембранного потенциала CD4+ Т-клеток у ВИЧ-инфицированных пациентов (как получающих, так и не получающих АРВТ) и здоровых доноров [11, 12]. Другие исследователи указывают на существенное снижение заряда мембраны митохондрий мононуклеарных клеток у ВИЧ-зараженных субъектов по сравнению со здоровыми добровольцами и наличие прямой корреляционной связи между числом CD4+ Т-лимфоцитов и величиной мембранного потенциала [13]. При этом авторы отмечают более высокий заряд мембраны митохондрий у больных, получающих лечение, по сравнению с пациентами, не принимающими АРВТ, что может свидетельствовать о позитивном влиянии терапии на поляризацию органелл.

Митохондрии являются динамичными органеллами, которые, адаптируясь к энергетическим и метаболическим потребностям клетки, постоянно подвергаются слиянию, фрагментации, митофагии и биогенезу [9]. В ходе этих событий может меняться масса или число митохондрий. В настоящей работе мы установили, что по сравнению со здоровыми донорами у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов со стандартным и дискордантным ответом на АРВТ значительно увеличена масса митохондрий в CD4+ Т-лимфоцитах. Известно, что повышение массы органелл может происходить в физиологических условиях, например, в мышечной ткани как адаптивная реакция клеток к высокому расходу

энергии при физической нагрузке [21]. Вместе с тем было показано, что у ВИЧ-инфицированных больных увеличение массы митохондрий в CD8+ Т-лимфоцитах является негативным фактором, связанным с повышенной чувствительностью клеток к спонтанному и Fas-индуцированному апоптозу [10]. Кроме того, у пациентов, не получающих АРВТ, постепенное нарастание массы органелл в CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитах ассоциировано с прогрессированием заболевания [11]. Хорошо известно, что ВИЧ-инфекция характеризуется наличием хронической иммунной активации, которая может значительно усиливаться при дискордантном ответе на АРВТ и коинфицировании ВГС [3, 22]. Рядом авторов было установлено, что активация CD4+ Т-лимфоцитов мышцей сопровождается значительными изменениями в митохондриях и приводит к увеличению их массы, объема, росту количества органелл на клетку и усилению биогенеза [23]. По-видимому, обнаруженное нами в данной работе увеличение массы митохондрий у ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц может быть, в том числе, связано и с наличием хронической иммунной активации.

В клетке поддержание массы митохондрий обеспечивается двумя противоположными процессами — биогенезом, направленным на ее увеличение, и митофагией, обеспечивающей удаление поврежденных органелл или их чрезмерного количества [9]. Как уже упоминалось, ключевым регулятором митохондриального биогенеза считается коактиватор PGC-1 α [20]. Активируемые им ядерные респираторные факторы NRF-1 и NRF-2 усиливают продукцию митохондриальных белков и последующую экспрессию в ядре митохондриального транскрипционного фактора А (mtTFA), который стимулирует

транскрипцию митохондриальной ДНК [19, 20]. В настоящей работе мы установили, что в CD4+ Т-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных больных по сравнению с таковыми у здоровых доноров было повышено содержание PGC-1 α и увеличена масса митохондрий. Опираясь на представленные в литературе данные о том, что в различных клетках повышенная экспрессия PGC-1 α приводит к усилению биогенеза митохондрий, мы провели корреляционный анализ между массой органелл и маркером их биогенеза. Оказалось, что в CD4+ Т-лимфоцитах прямая взаимосвязь между данными показателями отмечается только у неинфицированных доноров. У ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц такая связь отсутствовала. Исходя из полученных данных, можно предположить, что у ВИЧ/ВГС коинфицированных субъектов PGC-1 α либо не способен эффективно регулировать массу митохондрий, либо он перестает быть основным регулятором биогенеза митохондрий в CD4+ Т-лимфоцитах. Необходимо отметить, что митохондриальная биогенетическая программа не ограничена участием только данного транскрипционного коактиватора, а включает в себя взаимодействие разных факторов, обеспечивающих интеграцию множества транскрипционных регуляторных путей [9, 19, 20]. Более того, сам PGC-1 α действует как коактиватор различных ядерных респираторных факторов и гормональных рецепторов, способствующих экспрессии митохондриальных генов, вовлеченных в синтез ферментов цикла Кребса и β -окисления жирных кислот, белков

комплексов дыхательной цепи, протеинов, регулирующих фрагментацию/слияние митохондрий [24]. Это, по-видимому, может вносить дополнительный вклад в сложную систему регуляции контроля биогенеза и функций митохондрий.

Таким образом, нами впервые показано, что в CD4+ Т-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с различной эффективностью восстановления иммунитета на фоне АРВТ существенно повышена экспрессия PGC-1 α и увеличена масса митохондрий по сравнению с соответствующими значениями, установленными у здоровых людей. У больных с дискордантным и стандартным ответом на АРВТ проанализированные параметры митохондрий были сопоставимы. Важно отметить выявленный нами у ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц диссонанс между массой и зарядом митохондрий CD4+ Т-лимфоцитов: рост массы органелл не связан с производством ими энергии. Кроме того, при ВИЧ/ВГС коинфекции отмечается утрата взаимосвязи между массой митохондрий и регулятором их биогенеза. Возможные причины данных явлений предстоит установить в дальнейших исследованиях.

* * *

Работа выполнена в рамках государственного задания «Механизмы регуляции иммунной системы» (номер госрегистрации темы АААА-А19-119112290007-7) с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Autran B., Carcelain G., Li T.S., Gorochov G., Blanc C., Renaud M., Durali M., Mathez D., Calvez V., Leibowitch J., Katlama C., Debre P. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy // *Immunol. Lett.* 1999. Vol. 66, No. 1–3. P. 207–211.
2. Gaardbo J.C., Hartling H. J., Gerstoft J., Nielsen S.D. Incomplete immune recovery in HIV infection: mechanisms, relevance for clinical care, and possible solutions // *Clin. Dev. Immunol.* 2012. Vol. 2012. P. 670957. doi: 10.1155/2012/670957.
3. Lederman M.M., Calabrese L., Funderburg N.T., Clagett B., Medvik K., Bonilla H., Gripshover B., Salata R.A., Taeye A., Lisgaris M., McComsey G.A., Kirchner E., Baum J., Shive C., Asaad R., Kalayjian R.C., Sieg S.F., Rodriguez B. Immunologic failure despite suppressive anti-retroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells // *J. Infect. Dis.* 2011. Vol. 204, No. 8. P. 1217–1226. doi: 10.1093/infdis/jir507.
4. Lapadula G., Cozzi-Lepri A., Marchetti G., Antinori A., Chiodera A., Nicastrì E., Parruti G., Galli M., Gori A., Monforte Ad Iona Foundation Study. Risk of clinical progression among patients with immunological nonresponse despite virological suppression after combination antiretroviral treatment // *AIDS.* 2013. Vol. 27, No. 5. P. 769–779. doi: 10.1097/QAD.0b013e32835cb747.
5. Santin M., Mestre M., Shaw E., Barbera M.J., Casanova A., Niubo J., Bolao F., Podzamczar D., Gudiol F. Impact of hepatitis C virus coinfection on immune restoration during successful antiretroviral therapy in chronic human immunodeficiency virus type 1 disease // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008. Vol. 27, No. 1. P. 65–73. doi: 10.1007/s10096-007-0384-3.
6. Chen T.Y., Ding E.L., Seage III G.R., Kim A.Y. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression // *Clin. Infect. Dis.* 2009. Vol. 49, No. 10. P. 1605–1615. doi: 10.1086/644771.

7. Kuhlbrandt W., Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes // *BMC Biol.* 2015. Vol. 13. P. 89. doi: 10.1186/s12915-015-0201-x.
8. Gottlieb E., Armour S.M., Harris M.H., Thompson C.B. Mitochondrial membrane potential regulates matrix configuration and cytochrome c release during apoptosis // *Cell Death Differ.* 2003. Vol. 10, No. 6. P. 709–717. doi: 10.1038/sj.cdd.4401231.
9. Palikaras K., Tavernarakis N. Mitochondrial homeostasis: the interplay between mitophagy and mitochondrial biogenesis // *Exp. Gerontol.* 2014. Vol. 56. P. 182–188. doi: 10.1016/j.exger.2014.01.021.
10. Petrovas C., Mueller Y.M., Dimitriou I.D., Altkort S.R., Banerjee A., Sklar P., Mounzer K.C., Altman J.D., Katsikis P.D. Increased mitochondrial mass characterizes the survival defect of HIV-specific CD8(+) T cells // *Blood.* 2007. Vol. 109, No. 6. P. 2505–2513. doi: 10.1182/blood-2006-05-021626.
11. Yu F., Hao Y., Zhao H., Xiao J., Han N., Zhang Y., Dai G., Chong X., Zeng H., Zhang F. Distinct Mitochondrial Disturbance in CD4+T and CD8+T Cells From HIV-Infected Patients // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2017. Vol. 74, No. 2. P. 206–212. doi: 10.1097/QAI.0000000000001175.
12. Masson J.J.R., Murphy A.J., Lee M.K.S., Ostrowski M., Crowe S.M., Palmer C.S. Assessment of metabolic and mitochondrial dynamics in CD4+ and CD8+ T cells in virologically suppressed HIV-positive individuals on combination antiretroviral therapy // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, No. 8. P. e0183931. doi: 10.1371/journal.pone.0183931.
13. Sternfeld T., Schmid M., Tischleder A., Mudra S., Schlamp A., Kost B.P., Gruber R., Youle M., Bogner J.R., Goebel F.D. The influence of HIV infection and antiretroviral therapy on the mitochondrial membrane potential of peripheral mononuclear cells // *Antivir. Ther.* 2007. Vol. 12, No. 5. P. 769–778.
14. Deguit C.D.T., Hough M., Hoh R., Krone M., Pilcher C.D., Martin J.N., Deeks S.G., McCune J.M., Hunt P.W., Rutishauser R.L. Some Aspects of CD8(+) T-Cell Exhaustion Are Associated With Altered T-Cell Mitochondrial Features and ROS Content in HIV Infection // *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes.* 2019. Vol. 82, No. 2. P. 211–219. doi: 10.1097/Qai.0000000000002121.
15. Barbaro G., Di Lorenzo G., Asti A., Ribersani M., Belloni G., Grisorio B., Filice G., Barbarini G. Hepatocellular mitochondrial alterations in patients with chronic hepatitis C: ultrastructural and biochemical findings // *Am. J. Gastroenterol.* 1999. Vol. 94, No. 8. P. 2198–2205. doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.01294.x.
16. Piccoli C., Quarato G., Ripoli M., D'Aprile A., Scrima R., Cela O., Boffoli D., Moradpour D., Capitanio N. HCV infection induces mitochondrial bioenergetic unbalance: causes and effects // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. Vol. 1787, No. 5. P. 539–546. doi: 10.1016/j.bbabi.2008.11.008.
17. Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J.F. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes // *Cytometry A.* 2011. Vol. 79, No. 6. P. 405–425. doi: 10.1002/cyto.a.21061.
18. Presley A.D., Fuller K.M., Arriaga E.A. MitoTracker Green labeling of mitochondrial proteins and their subsequent analysis by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection // *Journal of Chromatography B.* 2003. Vol. 793, No. 1. P. 141–150. doi: 10.1016/s1570-0232(03)00371-4.
19. Scarpulla R.C. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. Vol. 1813, No. 7. P. 1269–1278. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.019.
20. Wu Z., Puigserver P., Andersson U., Zhang C., Adelmant G., Mootha V., Troy A., Cinti S., Lowell B., Scarpulla R.C., Bruce M. Mechanisms Controlling Mitochondrial Biogenesis and Respiration through the Thermogenic Coactivator PGC-1 // *Cell.* 1999. Vol. 98, No. 1. P. 115–124. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80611-x.
21. Perry C.G.R., Hawley J.A. Molecular Basis of Exercise-Induced Skeletal Muscle Mitochondrial Biogenesis: Historical Advances, Current Knowledge, and Future Challenges // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2018. Vol. 8, No. 9. doi: 10.1101/cshperspect.a029686.
22. Gonzalez V.D., Falconer K., Blom K.G., Reichard O., Morn B., Laursen A.L., Weis N., Alaeus A., Sandberg J.K. High levels of chronic immune activation in the T-cell compartments of patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type 1 and on highly active antiretroviral therapy are reverted by alpha interferon and ribavirin treatment // *J. Virol.* 2009. Vol. 83, No. 21. P. 11407–11411. doi: 10.1128/JVI.01211-09.
23. Akkaya B., Roesler A.S., Miozzo P., Theall B.P., Al Souz J., Smelkinson M.G., Kabat J., Traba J., Sack M.N., Brzostowski J. A., Pena M., Dorward D.W., Pierce S.K., Akkaya M. Increased Mitochondrial Biogenesis and Reactive Oxygen Species Production Accompany Prolonged CD4(+) T Cell Activation // *J. Immunol.* 2018. Vol. 201, No. 11. P. 3294–3306. doi: 10.4049/jimmunol.1800753.
24. Cheng C.F., Ku H.C., Lin H. PGC-1alpha as a Pivotal Factor in Lipid and Metabolic Regulation // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19, No. 11. doi: 10.3390/ijms19113447.

Поступила в редакцию/Received by the Editor: 02.04.2021 г.

Авторство:

Вклад в концепцию и план исследования, вклад в сбор данных, вклад в анализ данных и выводы, вклад в подготовку рукописи — Л.Б.Королевская, Е.В.Сайдакова, В.В.Власова, К.В.Шмагель.

Сведения об авторах:

Королевская Лариса Борисовна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»; 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; e-mail: bioqueen@mail.ru;

Сайдакова Евгения Владимировна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»; 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; e-mail: radimira@list.ru;

Власова Виолетта Викторовна — лаборант лаборатории экологической иммунологии, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»; 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13; e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com;

Шмагель Константин Владимирович — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экологической иммунологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»; 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13; e-mail: shmagel@iegm.ru.