

УДК 616-097:616.98

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТРОПИЗМА ВИЧ-1

¹Н.В.Матиевская, ²Д.Е.Киреев, ²М.Ю.Дмитрюкова, ¹И.О.Токунова, ³И.А.Кондратович¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь²Центральный НИИ Эпидемиологии, Москва, Россия³Гродненская областная инфекционная клиническая больница, Гродно, Беларусь

CLINICAL, IMMUNOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF HIV INFECTION IN DEPENDENCE ON HIV-1 TROPISM

¹N.V.Matsiyevskaya, ²D.E.Kireev, ²M.Y.Dmitryukova, ¹I.O.Tokunova, ³I.A.Kondratovich¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus²Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia³Grodno regional clinic of infectious diseases, Grodno, Belarus

© Коллектив авторов, 2015 г.

Выполнен анализ клинико-иммунологических и молекулярно-эпидемиологических особенностей ВИЧ-инфекции у 57 пациентов, инфицированных в 98,2% случаев субтипом А ВИЧ, в зависимости от тропизма. Определение тропизма ВИЧ проводилось путем секвенирования V3 петли гена *gp120*. Установлена более выраженная экспрессия маркеров активации у пациентов, инфицированных R5-тропными вариантами вируса по сравнению с пациентами, инфицированными не R5-тропными вирусами. Выявлен различный характер экспрессии CCR5 и CXCR4 на лимфоцитах крови при формировании стадии СПИДа в зависимости от тропизма вируса, что позволяет предположить о существовании различных механизмов формирования иммуносупрессии, связанных с вирусным тропизмом. В изучаемой группе пациентов не обнаружено корреляции между клиническими проявлениями ВИЧ-инфекции, включая наличие СПИД, и тропизмом вируса.

Ключевые слова: ВИЧ-1, тропизм, корецептор, CCR5, CXCR4.

Analysis of clinical, immunological and epidemiological features of HIV infection in 57 patients infected by subtype A HIV-1 in 98,2% cases has been done in dependence on viral tropism. Detection of HIV tropism was performed by sequencing of V3 loop of *gp120* gene. It was revealed that patients infected by R5-tropic HIV had more expressed immunity activation markers on blood lymphocytes in comparison with ones infected by non-R5-tropic HIV. The different profile of CCR5 and CXCR4 expression on blood lymphocytes were detected in patients with AIDS in dependence on tropism that seem to associate with existing of different mechanism of immunosuppression formation in different viral tropism. Correlation between clinical symptoms including presence of AIDS and viral tropism has not been revealed in studied group.

Key words: HIV-1, tropism, coreceptor, CCR5, CXCR4.

Введение. Инфицирование клеток человека ВИЧ-1 инициируется связыванием поверхностных белков вируса с основным клеточным рецептором CD4 и одновременно с одним из хемокиновых рецепторов CCR5 или CXCR4, выполняющих роль корецепторов ВИЧ для проникновения в клетки-мишени. В зависимости от используемого корецептора выделяют 3 варианта ВИЧ: CCR5 (R5)-тропный вирус, использующий корецептор CCR5 во время присоединения к клетке, CCR5 и CXCR4 (R5X4) — вирус с двойным тропизмом, CXCR4(X4)-тропный вирус, который является наиболее редким вариантом [1, 2].

Известно, что R5-тропные вирусы являются доминирующими на стадии первичной инфекции, однако у 50% пациентов в динамике развития ВИЧ-инфек-

ции происходит смена тропизма ВИЧ с R5 на R5/X4 и в дальнейшем на X4. У 50% ВИЧ-инфицированных пациентов не происходит «переключения» тропизма вируса и вплоть до развития терминальной стадии заболевания доминирующим вариантом является CCR5-тропный вариант [2, 3].

Тропизм ВИЧ-1 к хемокиновым рецепторам связывают со структурой варибельного участка белка оболочки *gp120* — V1–V3. Также известно, что гиперварибельный участок гена *gp120* петля V3 имеет важное значение в характере иммунного ответа организма и возможности вируса «ускользнуть» от прессинга иммунной системы [4, 5].

Большинство исследований в мире по определению тропизма выполнено на изолятах ВИЧ-1, отно-

сящихся к субтипам В и С, которые являются доминирующим в странах Западной Европы, Африки, в США [1]. Известно, что на территории Республики Беларусь и странах СНГ длительное время циркулирует субтип А, который обнаруживают более чем у 90% пациентов. При этом по своим филогенетическим характеристикам он идентичен вирусам, циркулирующим в России и Украине [6].

Целью нашего исследования явилось установление клинико-иммунологических и эпидемиологических особенностей ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ-1 субтипа А у пациентов, проживающих в Гродненской области Республики Беларусь.

Материалы и методы. Тропизм ВИЧ-1 к корецепторам CCR5 и CXCR4 был определен у 57 ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в Гродненской области Республики Беларусь. Среди них было 34 женщины, 23 мужчины, средний возраст пациентов составил $35,4 \pm 7,4$ лет. Клиническая стадия ВИЧ на момент забора крови устанавливалась на основании клинической классификации ВОЗ. По клиническим стадиям пациенты распределялись следующим образом: 1-я стадия — 30 (52,6%) пациентов, 2-я — 9 (15,8%), 3-я — 14 (24,6%), 4-я — 4 (7,0%). Стадия СПИД ($n=19$) диагностировалась при наличии у пациента 4-й клинической стадии ВИЧ-инфекции и/или уровня CD4-лимфоцитов ниже 200 кл/мкл. В зависимости от тропизма ВИЧ-пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа — пациенты, инфицированные R5-тропными вариантами ВИЧ, 2-я группа — пациенты, инфицированные не R5-тропными вариантами (вирусами с двойным тропизмом, либо X4-тропными вариантами ВИЧ).

Определение тропизма ВИЧ проводилось с помощью набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии (Россия) согласно инструкции производителя.

В ходе исследования определяли нуклеотидную последовательность петли V3 гена белка оболочки (*gp120*) ВИЧ. Редактирование нуклеотидных последовательностей и получение консенсусной нуклеотидной последовательности проводилось с помощью программного обеспечения «ДЕОНА» (МедАйТи Групп, Россия). Анализ нуклеотидной последовательности производился на сайте <http://www.genopheno.org/> института информатики Макса Планка (Max Planck institut informatik, Германия).

Определение тропности вируса осуществлялось на основании показателя FPR (false positive rate) — величине, определяющей вероятность, с которой данный вирус будет ложно определен как X4-троп-

ный. CCR5-тропным считался образец при наличии показателя FPR более 20%. При величине FPR менее 20% образцы считались не CCR5-тропными (R5/X4, либо R4-тропными).

Определение субтипа ВИЧ проводилось на основании нуклеотидных последовательностей фрагмента гена белка оболочки с помощью ресурса REGA HIV-1 Subtyping Tool — Ver. 3.0.

Филогенетический анализ последовательностей петли V3 гена белка оболочки ВИЧ проводился при помощи ПО MEGA ver. 6.06. Дерево построено методом Maximum Likelihood с использованием модели эволюции НКУ. Полученное дерево было протестировано методом статистического бутстрэпа, количество выборок составило 1000.

Иммунологические исследования были выполнены у 29 пациентов. Иммунофенотип клеток крови определялся на проточном цитофлуориметре «FACSCalibur» («Becton Dickenson», США) с использованием программного обеспечения «CellQuest» 3.3 и «Weasel» версия 2.9 (WENI, Австралия). Для определения показателей иммунитета в работе были использованы моноклональные антитела производства «Becton Dickenson» (США): CD3 (SK7, FITC); CD4 (SK3, FITC)/CD8 (SK1, PE)/CD3 (SK7, PerCP); HLA-DR (L243, APC); CD4 (SK3, APC); CD25 (M-A251, FITC); моноклональные антитела производства «AbDserotec» (США): CD184 (CXCR4) (12G5, PE); CD195 (CCR5) (2D7/CCR5, FITC).

Статистический анализ проводили с помощью пакета «Statistica», версия 10. Нормальность распределения величин оценивали с использованием W-критерия Шапиро-Вилка. Для сравнения двух независимых выборок использовали U-критерий Манна-Уитни, для сравнения зависимых выборок — W-критерий Вилкоксона. Анализ значимости различий по частоте встречаемости признаков оценивался с помощью критерия χ^2 , в таблицах сопряженности 2×2 . Для определения зависимостей между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования. Распределение пациентов по уровню показателя FPR представлено в таблице 1.

Как видно из представленной таблицы 1, на основании величины показателя FPR в 36,8% исследованных образцах ВИЧ был определен как не R5-тропный вариант, включающий популяцию R5/X4 или X4-тропных вирусов, в 63,2% — как R5-тропный. Таким образом, в исследуемой группе

пациентов инфицирование R5-тропными вариантами отмечено в 1,7 раза чаще.

Таблица 1
Показатель FPR при определении тропизма ВИЧ

FPR	N	%
0,0–10,0 (не-R5-тропный)	8	14,0
10,0–20,0 (не-R5-тропный)	13	22,8
20,0–40,0 (R5-тропный)	12	21,1
40,0–60,0 (R5-тропный)	13	22,8
60,0–80,0 (R5-тропный)	8	14,1
80,0–100,0 (R5-тропный)	3	5,2

Клиническая характеристика пациентов в зависимости от характера тропизма ВИЧ представлена в таблице 2.

номерным и соответствует ранее опубликованным данным [7, 8]. Не получено достоверных различий по содержанию CD4 и CD8 Т-лимфоцитов в группах пациентов.

Результаты филогенетического анализа последовательности региона V3 петли в зависимости от тропизма для 51 пациента, включенного в исследование, представлены на рисунке. В анализ были включены 22 последовательности, полученные ранее на территории РФ, Белоруссии и Украины и депонированные в базе данных Национальной лаборатории Лос-Аламос, США (отмечены на дереве кругами). Большинство последовательностей, полученных в ходе данного исследования, образовали единый кластер. Так же в этот кластер вошли 7 последовательностей субтипа А из базы данных Национальной

Таблица 2
Клиническая характеристика пациентов в зависимости от тропизма ВИЧ-1

Показатель	1-я группа, R5-тропный, n=36	2-я группа, не R5-тропный, n=21
Мужчины	14 (38,9%)	9 (42,9%)
Женщины	22 (61,1%)	12 (57,1)
Возраст	35,5	35,5
ПИН	14 (38,9%)	8 (38,1%)
1-я клиническая стадия	20 (55,6%)	10 (47,6%)
2-я клиническая стадия	6 (16,7%)	3 (14,3%)
3-я клиническая стадия	8 (22,2%)	6 (28,6%)
4-я клиническая стадия	2 (5,6%)	2 (9,5%)
СПИД	10 (27,8%)	9 (42,9%)
Длительность ВИЧ-инфекции	3 (1–11)*	6 (1–13)
CD4 Т-лимфоциты (%)	21,1 (0,9–49,8)	20,7 (1–32,6)
CD4 Т-лимфоциты (абс)	365,0 (13,8–1833,0)	328,7 (9–623,6)
CD8 Т-лимфоциты (%)	54,8 (29,0–76,8)	56,6 (15,9–81,8)
CD8 Т-лимфоциты (абс)	874,6 (354,6–3643,2)	847,7 (254,1–1760,1)
АРВТ	17 (47,2%)	4 (19,0%)
Длительность АРВТ	1 (0–5)	1 (0–4)

Примечание: * — $<0,05$, Test χ^2 .

Как видно из представленной таблицы 2, пациенты в группах не различались по возрасту, полу, путям инфицирования, количеству пациентов, получающих антиретровирусную терапию (АРВТ). Не установлено достоверных различий в частоте клинических стадий ВИЧ-инфекции в группах. Приблизительно у половины пациентов каждой группы отсутствовали клинические проявления ВИЧ-инфекции (1-я клиническая стадия).

Стадия СПИД присутствовала в обеих группах пациентов ($p>0,05$). Длительность ВИЧ-инфекции, которая оценивалась исходя из даты официального учета пациента как ВИЧ-инфицированного, была больше во 2-й группе пациентов, что является зако-

лаборатории Лос-Аламос. Уровень бутстрэп (статистика) поддержки узлов второго порядка внутри данного кластера крайне низок (14%). Это свидетельствует о высокой схожести последовательностей внутри данного кластера. Несколько отдельно, однако внутри кластера более высокого уровня (поддержка 58%), находятся группа последовательностей 565, 566 и 588. Аналогично, но еще на уровень выше (поддержка 84%) находится последовательность 405. Отдельно от остальных находится последовательность 403, она кластеризуется совместно с последовательностями субтипа В из базы данных Лос-Аламос. Зависимости между характером кластеризации исследуемых образцов и их тропизмом

обнаружено не было (R5-тропные варианты отмечены на древе закрашенными треугольниками, не-R5-тропные — пустыми треугольниками).

Иммунологические исследования были выполнены у 29 ВИЧ-инфицированных пациентов, которые не получали АРВТ. Среди них были 17 пациентов,



Рисунок. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей петли V3.

Субтипирование полученных 57 последовательностей с использованием REGA HIV-1 Subtyping Tool — Ver. 3.0 показало, что все последовательности относятся к субтипу А, за исключением образца 403, последовательность которого была отнесена к субтипу В.

Таким образом, 98,2% пациентов, включенных в исследование, инфицированы вариантами ВИЧ-1 субтипа А.

инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ и 12 — не R5-тропным вариантом (табл. 3).

Как видно из представленной таблицы 3, при сравнении иммунологических показателей пациентов в зависимости от тропизма ВИЧ установлены достоверные различия в абсолютном содержании активированных Т-лимфоцитов в группах пациентов. При инфицировании R5-тропными вариантами ВИЧ имела место более выраженная экспрессия

маркера активации HLA-DR на лимфоцитах крови, а также большее содержание активированных Т-лимфоцитов (CD3HLA-DR) и активированных цитотоксических лимфоцитов (CD8HLA-DR) — эффекторных клеток иммунной системы.

Как видно из таблицы 5, у пациентов 1-й группы при СПИДе отмечено снижение абсолютного содержания активированных Т-хелперов и Т-регуляторных клеток (CD4CD25) по сравнению с пациентами без СПИДа. Во 2-й группе пациентов при СПИДе

Таблица 3

Иммунологические показатели пациентов в зависимости от тропизма ВИЧ

Показатель, медиана (min-max)	1-я группа R5-тропный, n=17	2-я группа не R5-тропный, n=12	p*
HLA-DR, %	53,29 (18,5–70,6)	37,90 (16,9–68,4)	0,03
HLA-DRA, кл/мкл	1038,14 (324,7–1669,7)	541,18 (215,3–1470,1)	0,02
CD3HLA-DR, %	45,23 (11,7–60,5)	31,31 (7,9–63,8)	0,2
CD3HLA-DRA, кл/мкл	713,49 (206,1–1626,5)	427,67 (143,0–1023,8)	0,05
CD4HLA-DR, %	4,36 (1,2–6,7)	4,04 (1,6–8,5)	0,5
CD4HLA-DRA, кл/мкл	70,03 (18,4–163,6)	54,44 (24,1–153,5)	0,06
CD8HLA-DR, %	40,79 (11,0–193,8)	30,25 (8,5–60,3)	0,1
CD8HLA-DRA, кл/мкл	764,52 (61,6–1655,3)	417,30 (152,3–952,4)	0,03

Примечание: * — Тест Манна-Уитни.

Результаты корреляционного анализа (Spearman) показателя FRP с активированными Т-лимфоцитами и их субпопуляциями представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, показатель FRP имел прямые достоверные корреляции с абсолютным содержанием активированных Т-лимфоцитов (CD3HLA-DR) и основных их субпопуляций — Т-хелперов (CD4HLA-DRA) и цитотоксических лимфоцитов (CD8HLA-DRA), а также экспрессией HLA-DRA на лимфоцитах крови. Таким образом, результаты корреляционного анализа подтвердили данные, представленные в таблице 2.

Содержание активированных Т-лимфоцитов в группах пациентов при наличии и отсутствии СПИД представлено в таблице 5.

Таблица 4

Корреляционный анализ (Spearman) показателя FRP с активированными Т-лимфоцитами

Показатель Медиана (min-max)	N	R	p-level
HLA-DR, %	29	0,30	0,1
HLA-DRA, кл/мкл	29	0,50	0,006
CD3HLA-DR, %	29	0,19	0,3
CD3HLA-DRA, кл/мкл	29	0,45	0,01
CD4HLA-DR, %	29	0,16	0,4
CD4HLA-DRA, кл/мкл	29	0,52	0,004
CD8HLA-DR, %	29	0,29	0,1
CD8HLA-DRA, кл/мкл	29	0,51	0,005

отмечено повышение экспрессии маркера активации (HLA-DR) на лимфоидных клетках, более высоко

Таблица 5

Содержание активированных Т-лимфоцитов в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции и тропизма вируса

Показатели Медиана (min-max)	1-я группа, n=12		p*	2-я группа, n=17		p*
	не СПИД, n=9	СПИД, n=3		не СПИД, n=13	СПИД, n=4	
HLA-DR, %	46,73 (18,5–67,2)*	56,82 (56,3–70,6)	0,10	34,18 (16,8–58,5)	47,19 (39,1–68,4)	0,03
HLA-DRA, кл/мкл	1080,4 (324,7–1669,7)*	677,43 (536,7–1056,0)	0,21	541,18 (302,6–1057,4)	595,83 (215,3–1470,1)	0,87
CD3HLA-DR, %	37,24 (11,7–59,8)	47,75 (45,2–60,5)	0,17	29,90 (8,0–55,8)	36,08 (33,1–63,8)	0,02
CD3HLA-DRA, кл/мкл	742,27 (206,1–1626,5)*	574,65 (427,2–905,5)	0,38	427,67 (143,0–1008,6)	549,44 (174,3–1023,8)	0,9
CD4HLA-DR, %	4,38 (3,0–6,7)	4,25 (1,2–4,7)	0,45	3,83 (2,3–8,5)	4,19 (1,6–5,4)	<0,02
CD4HLA-DRA, кл/мкл	97,19 (49,1–163,6)	40,14 (18,4–56,3)	0,01	62,81 (48,4–153,5)	37,85 (24,1–55,8)	<0,06
CD8HLA-DR, %	38,94 (11,0–59,0)	43,71 (40,8–61,6)	0,26	25,74 (8,5–46,3)	35,08 (32,3–60,3)	0,8
CD8HLA-DRA, кл/мкл	770,63 (193,8–1655,3)*	526,03 (385,3–920,9)	0,31	417,30 (152,3–837,0)	525,40 (170,2–952,4)	0,03
CD4CD25, %	1,61 (0,8–3,6)	0,89 (0,4–1,1)	0,03	1,46 (0,5–3,1)	1,19 (0,3–1,6)	0,27
CD4CD25, кл/мкл	31,29 (14,3–91,9)	10,39 (5,2–10,7)	0,01	23,37 (8,1–56,2)	7,61 (4,8–34,2)	0,09

Примечание: ♦ — Тест Манна-Уитни; * — p<0,05 при сравнении с пациентами без СПИДа 2-й группы.

кий уровень активированных Т-лимфоцитов (CD3HLA-DR) и активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8HLA-DRA), тенденция к снижению активированных Т-хелперов и Т-регуляторных клеток по сравнению с пациентами без СПИДа.

Кроме того, установлено, что у пациентов без СПИДа 1-й группы при сравнении с таковыми пациентами из 2-й группы имела место значительно более выраженная экспрессии HLA-DRA на лимфоцитах крови, более высокий уровень активированных Т-лимфоцитов и активированных цитотоксических лимфоцитов. При сравнении показателей пациентов со СПИДом из разных групп достоверных различий не установлено. Таким образом, более высокий уровень активированных Т-лимфоцитов и цитотоксических лимфоцитов у пациентов, инфицированных R5-тропными вариантами ВИЧ, связан с повышением этих показателей на ранних стадиях ВИЧ-инфекции (до развития СПИДа).

Экспрессия хемокиновых рецепторов на лимфоцитах крови и Т-хелперах у пациентов изучаемых групп при разных стадиях ВИЧ-инфекции представлена в таблице 6.

образцах. Как представлено в данной работе у 98,2% пациентов в группе установлен субтип А ВИЧ, что согласуется с ранее проведенными исследованиями, показавшими доминирование данного субтипа в Республике Беларусь [6]. Результаты филогенетического анализа продемонстрировали высокое генетическое сходство вирусов, циркулирующих в Западной Беларуси (Гродненская область) и на территории России и Украины, что позволяет считать полученные в исследовании результаты применимыми к российским и украинским пациентам, инфицированным вариантами ВИЧ субтипа А.

В ранее выполненных исследованиях было показано, что количество пациентов, инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ, значительно превышает количество инфицированных не R5-тропным вариантом, особенно на ранних стадиях ВИЧ-инфекции [7, 8]. В представленной работе, количество пациентов инфицированных R5-тропными вариантами ВИЧ было в 1,7 раза больше, чем пациентов, инфицированных не R5-тропными вариантами. Прогрессирование ВИЧ-инфекции ассоциируется со сменой тропизма и появлением не R5-тропных вирусов. Однако дан-

Таблица 6
Экспрессия хемокиновых рецепторов CCR5 и CXCR4 на клетках крови в зависимости от тропизма ВИЧ

Показатели	1-я группа, n=19		p*	2-я группа, n=16		p*
	не СПИД, n=16	СПИД, n=3		не СПИД, n=13	СПИД, n=4	
CXCR4, %	15,71 (5,0–35,6)	4,48 (2,1–14,3)	0,04	11,64 (0,0–28,4)	8,73 (6,0–33,0)	0,93
CXCR4, кл/мкл	293,60 (101,5–863,0)	53,92 (31,9–135,1)	0,01	206,89 (0,7–672,7)	68,20 (41,3–973,9)	0,40
CCR5, %	32,86 (13,3–56,7)	42,58 (33,8–61,4)	0,2	34,52 (5,9–45,7)	36,60 (21,0–52,0)	0,50
CCR5, кл/мкл	664,26 (259,0–1555,7)	512,43 (505,2–579,5)	0,2	561,14 (132,7–33,1)	462,60 (110,2–1099,9)	0,87
CD4CXCR4, %	5,71 (1,5–13,7)	0,59 (0,07–8,3)	0,2	3,76 (0,0–14,1)	3,14 (0,8–17,3)	0,87
CD4CXCR4, кл/мкл	107,43 (30,7–331,7)	7,10 (1,1–78,4)	0,02	60,60 (0,0–166,3)	16,94 (10,6–510,0)	0,40
CD4CCR5, %	2,73 (0,8–4,0)	2,62 (0,7–3,3)	0,5	3,29 (0,6–7,2)	1,98 (0,6–4,2)	0,17
CD4CCR5, кл/мкл	54,84 (21,9–84,6)	31,36 (10,6–31,5)	0,06	61,90 (13,3–129,0)	20,81 (8,5–32,6)	<0,03

Примечание: ♦ — Тест Манна Уитни; * — $p < 0,05$ при сравнении с пациентами без СПИДа 2-й группы.

У пациентов, инфицированных R5-тропными вариантами ВИЧ, на стадии СПИДа установлено выраженное снижение экспрессии CXCR4 на лимфоцитах крови и Т-хелперах при сравнении с пациентами без СПИДа. У пациентов, инфицированных не R5-тропными вариантами ВИЧ, при наличии СПИДа установлено значительное снижение экспрессии CCR5 на Т-хелперах (табл. 6).

Обсуждение. В настоящее время большинство исследований в мире по определению тропизма выполнено у пациентов, инфицированных субтипами В и С, реже субтипом А. В связи с этим представляло интерес установить субтипы ВИЧ в исследуемых

наблюдениях. Как представлено в данной работе у 98,2% пациентов в группе установлен субтип А ВИЧ, что согласуется с ранее проведенными исследованиями, показавшими доминирование данного субтипа в Республике Беларусь [6]. Результаты филогенетического анализа продемонстрировали высокое генетическое сходство вирусов, циркулирующих в Западной Беларуси (Гродненская область) и на территории России и Украины, что позволяет считать полученные в исследовании результаты применимыми к российским и украинским пациентам, инфицированным вариантами ВИЧ субтипа А.

В ранее выполненных исследованиях было показано, что количество пациентов, инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ, значительно превышает количество инфицированных не R5-тропным вариантом, особенно на ранних стадиях ВИЧ-инфекции [7, 8]. В представленной работе, количество пациентов инфицированных R5-тропными вариантами ВИЧ было в 1,7 раза больше, чем пациентов, инфицированных не R5-тропными вариантами. Прогрессирование ВИЧ-инфекции ассоциируется со сменой тропизма и появлением не R5-тропных вирусов. Однако дан-

ная закономерность прослеживается не у всех ВИЧ-инфицированных пациентов, в настоящее время известно, что у 50% ВИЧ-инфицированных пациентов не происходит смены тропизма вируса и вплоть до развития терминальной стадии ВИЧ-инфекции у них присутствуют только R5-тропные варианты ВИЧ [2, 3]. Представленные результаты подтверждают данные наблюдения, т.к. у 27,8% пациентов 1-й группы были на стадии СПИД, а частота клинических стадий ВИЧ-инфекции не различалась достоверно в группах наблюдения. Таким образом, клинические критерии ВИЧ-инфекции не коррелируют с тропизмом вируса у конкретного пациента.

В настоящее время хроническая активация иммунной системы (ИС) считается ключевым аспектом патогенеза ВИЧ-инфекции. Гипериммунный ответ приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, усиленной продукции новых вирионов ВИЧ, потере центральных клеточных элементов ИС: CD4+ и CD8+ лимфоцитов. Доказано, что активация ИС является более значимым фактором, чем уровень CD4+ лимфоцитов, в прогнозе выживаемости ВИЧ-инфицированных пациентов. [1, 9, 10].

АРВТ приводит к значительному снижению экспрессии маркеров активации иммунной системы, но не позволяет достичь уровня здоровых индивидуумов. В связи с этим одним из перспективных направлений терапии ВИЧ-инфекции рассматривается возможность влияния на данный механизм иммуносупрессии [11].

Клеточными маркерами активации иммунного ответа считаются такие молекулы, как HLA-DR, CD38+, CD71+ [1, 9]. Для осуществления специфического иммунного ответа антиген должен быть «представлен» Т-лимфоцитам антиген-представляющими клетками (АПК). Т-лимфоциты распознают антигенные пептиды на АПК при условии одновременной экспрессии на них молекул МСН I или II класса. Мембранные молекулы HLA-DR относятся к МСН-II класса, представлены в основном на АПК (дендритных клетках, макрофагах/моноцитах, В-лимфоцитах, эндотелии сосудов и др.). При этом со стороны Т-лимфоцитов, участвующих в распознавании HLA-DR, необходима связь с CD4-молекулой, которая выступает в качестве корепцептора для МНС класса II [12].

Как видно из таблицы 3, в 1-й группе (R5-тропные варианты ВИЧ) отмечена повышенная экспрессия HLA-DR на лимфоидных клетках, Т-лимфоцитах по сравнению со 2-й группой пациентов (не R5-тропные варианты), что ассоциируется с более выраженной активацией Т-клеточного иммунитета у пациентов, инфицированных R5-тропными вирусами. Эти же данные подтверждаются наличием прямых достоверных коррелятивных связей между показателем FRP и абсолютным содержанием активированных Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов (см. табл. 4).

Результаты, представленные в таблице 5, демонстрируют, что более выраженная активация Т-клеточного иммунитета у пациентов, инфицированных R5-тропными вариантами, определяется до развития СПИДа, на стадии СПИД у этих пациентов отмечено существенное снижение Т-регуляторных

клеток, которые рассматриваются как маркеры торможения иммунного ответа, в связи с чем, снижение их содержания также ассоциируется с активацией иммунной системы [13, 14].

У пациентов, инфицированных не R5-тропными вирусами, в отличие от 1-й группы, на стадии СПИДа выявлено достоверное увеличение содержания активированных Т-лимфоцитов и цитотоксических лимфоцитов при сравнении с пациентами без СПИДа.

Как в 1-й, так и во 2-й группах отмечено снижение содержания активированных Т-хелперов при развитии СПИДа, что подтверждает данные о формировании СПИДа на фоне функциональной супрессии Т-хелперов [11, 12].

Известно, что экспрессия CCR5 и CXCR4 на лимфоцитах крови у ВИЧ-инфицированных пациентов ассоциирована соответственно с активацией и торможением клеточного иммунитета [12, 15, 16]. Однако исследований по связи экспрессии CCR5 и CXCR4 на лимфоцитах крови и характере тропизма ВИЧ не проводилось. Установлено различие в экспрессии CCR5 и CXCR4 при формировании СПИДа в зависимости от тропизма ВИЧ. Так в 1-й группе пациентов при СПИДе установлено выраженное снижение экспрессии CXCR4 на лимфоцитах крови и Т-хелперах, в то время как во 2-й группе — снижение экспрессии CCR5.

Заключение. У 98,2% пациентов Гродненского региона Республики Беларусь, включенных в исследование установлен субтип А ВИЧ-1. Зависимости между характером кластеризации исследуемых образцов на филогенетическом дереве и их тропизмом обнаружено не было.

Выявлена высокая схожесть нуклеотидных последовательностей V3 петли ВИЧ-1 с последовательностями ВИЧ, полученными ранее на территории РФ, Белоруссии и Украины и депонированными в базу данных Национальной лаборатории Лос-Аламоса.

Частота инфицированности R5-тропным вариантом ВИЧ превышала частоту инфицирования не R5-тропными вариантами ВИЧ в 1,7 раза. Не обнаружено корреляции между клиническими проявлениями ВИЧ-инфекции, включая наличие СПИДа, с тропизмом вируса.

Установленные различия в экспрессии хемокиновых рецепторов CCR5 и CXCR4, маркеров активации и торможения иммунного ответа в зависимости от тропизма ВИЧ позволяют предположить о существовании различных механизмов формирования иммуносупрессии, связанных с вирусным тропизмом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Levy J.A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges // AIDS. — 2009. — Vol. 23. — P. 147–160.

2. Mosier D.E. How HIV changes its tropism: evolution and adaptation? // *Curr Opin HIV AIDS*. — 2009. — Vol. 4 (2). — P. 125–130.
3. Chikere K., Chou T., Gorrry P.R., Lee B. Affinofile profiling: how efficiency of CD4/CCR5 usage impacts the biological and pathogenic phenotype of HIV // *Virology*. — 2013. — Vol. 435 (1). — P. 81–91.
4. Bozek K., Thielen A., Sierra S., Kaiser R., Lenquauer T. V3 Loop Sequence Space Analysis Suggests Different Evolutionary Patterns of CCR5- and CXCR4-Tropic HIV // *PLoS One*. — 2009. — Vol. 4 (10). — P.7387.
5. Swenson L.C., Mo T., Dong W.W., Zhong X., Woods C.K., Jensen M.A. Deep Sequencing to Infer HIV-1 Co-Receptor Usage: Application to Three Clinical Trials of Maraviroc in Treatment-Experienced Patients // *J Infect Dis*, 2011. — Vol. 203 (2). — P. 237–245.
6. Матиевская Н.В., Цыркунов В.М., Гасич Е.Л., Еремин В.Ф., Козел Л.Г. Генотипы ВГС и субтипы ВИЧ у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС в Гродненском регионе Республики Беларусь // *Медицинская панорама*. — 2013. — Т. 1. — P. С. 9–15.
7. Gulick R.M., Lalezari J., Goodrich J., Clumeck N., DeJesus E., Horban A. Maraviroc for Previously Treated Patients with R5 HIV-1 Infection // *N Engl J Med*. — 2008. — Vol. 359 (14). — P. 1429–1441.
8. Fathkenheuer G., Nelson M., Lazzarin A., Konourina I., Hoepelman A.I., Lampiris H. Subgroup Analyses of Maraviroc in Previously Treated R5 HIV-1 Infection // *N Engl J Med*, 2008. — Vol. 359 (14). — P.1442–1455.
9. Fuse S., Molloy M.J., Usherwood E.J. Immune Responses Against Persistent Viral Infections: Possible Avenues for Immunotherapeutic Interventions // *Crit Rev Immunol*. — 2008. — Vol. 28 (2). — P. 159–183.
10. Orendi J.M., Bloem A.C., Borleffs J.C., Wijnholds F.J., de Vos N.M., Nottet H.S. Activation and Cell Cycle Antigens in CD4+ and CD8+ T Cells Correlate with Plasma Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) RNA Level in HIV-1 Infection // *J Infect Dis*. — 1998. — Vol. 178 (5). — P. 1279–1287.
11. Matsiyevskaya N., Tsyrukunov V. Activation of blood T-cells in HIV/HCV co-infected patient // *Sanamed*. — 2013. — Vol. 8 (1). — P. 11–18.
12. Matsiyevskaya, N.V., Tsyrukov V.M., Hancharou A.Y. CXCR4+ and CCR5+ expression on blood lymphocytes and its changes in AIDS development in HIV/HCV coinfectd patients // *Progress Health Sciences*. — 2012. — Vol. 2 (2). — P. 12–20.
13. Kinter A., McNally J., Riggin L., Jackson R., Roby G., Fauci A.S. Suppression of HIV-specific T cell activity by lymph node CD25+ regulatory T cells from HIV-infected individuals // *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2007. — Vol. 104 (9). — P. 3390–3395.
14. Ji J., Cloyd M.W. HIV-1 binding to CD4 on CD4/CD25 regulatory T cells enhances their suppressive function and induces them to home to, and accumulate in, peripheral and mucosal lymphoid tissues: an additional mechanism of immunosuppression // *Int Immunol*, 2009. — Vol. 21 (3). — P. 283–294.
15. Contento R.L., Molon B., Boularan C., Pozzan T., Manes S., Marullo S., Viola A. CXCR4–CCR5: A couple modulating T cell functions // *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008. — Vol. 105 (29). — P. 10101–10106.
16. Moncunill G., Armand-Ugon M., Pauls E., Clotetand B., Clotet B., Este J.A. HIV-1 escape to CCR5 coreceptor antagonism through selection of CXCR4-using variants *in vitro* // *AIDS*. — 2008. — Vol. 22 (1). — P. 23–31.

Статья поступила 23.01.2015 г.

Контактная информация: Матиевская Наталья Васильевна, e-mail: natamati@mail.ru

Коллектив авторов:

Матиевская Наталья Васильевна — д.м.н, доцент кафедры инфекционных болезней Гродненского государственного медицинского университета, 230009, Гродно, ул. Горького, д. 80, +375 (152) 43-53-01, e-mail: natamati@mail.ru;

Киреев Дмитрий Евгеньевич — к.биол.н., н.с. Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, 7(495) 974-96-46, доб. 2227, e-mail: dmitry.kireev@pcr.ru;

Дмитрюкова Марина Юрьевна — к.биол.н., н.с. Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, +7(495) 974-96-46, доб. 2601, e-mail: mdmitryukova@cmd.su;

Токунова И.О. — ассистент кафедры инфекционных болезней Гродненского государственного медицинского университета, 230009, Гродно, ул. Горького, д. 80, +375 (152) 43-53-01, e-mail: tokunova.ira@gmail.com;

Кондратович И.А. — врач консультативно-диспансерного кабинета Гродненской областной инфекционной больницы, 230009, Гродно, БЛК, д. 57, +375 (152) 45-00-16, e-mail: iriskak@mail.ru.