

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С НА ИММУННЫЙ СТАТУС ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ ИНЪЕКЦИОННЫХ НАРКОТИКОВ

Решетников И.В.

*ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64), e-mail: reshetnikov\_igor@mail.ru*

Одним из главных путей передачи ВИЧ в России остается внутривенное употребление наркотиков. Число ВИЧ-инфицированных лиц с сопутствующим заболеванием хронический вирусный гепатит С (ХВГС) очень велико вследствие общих путей передачи ВИЧ и ВГС. Влияние вирусного гепатита С на течение ВИЧ-инфекции остается спорным вопросом. В нашей работе исследовались особенности иммунного статуса ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных наркотиков (ПИИ) с хроническим вирусным гепатитом С. Для этого была использована система расширенного дифференциального подсчета лейкоцитов методом проточной цитометрии CytoDiff. Данная система позволяет определять относительные и абсолютные количества следующих клеточных популяций: В-лимфоциты, Т- и NK-клетки (CD16+ и CD16-), моноциты (CD16+ и CD16-), зрелые нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, незрелые гранулоциты, предшественники Т- и В-клеток. Уровень лимфоцитов CD4+ определялся с помощью стандартной панели моноклональных антител CD45-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. Был проведен сравнительный анализ двух групп ВИЧ-инфицированных пациентов – ПИИ с дополнительным заболеванием ХВГС и лица без ХВГС, не употребляющие инъекционные наркотики. В группе ПИИ с коинфекцией ВИЧ/ВГС были зафиксированы более низкие относительные и абсолютные количества Т-хелперов. Достоверных различий по другим популяциям лейкоцитов не выявлено.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус гепатита С (ВГС), потребители инъекционных наркотиков (ПИИ).

## THE INFLUENCE OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS C ON THE IMMUNE STATUS OF HIV-INFECTED INJECTING DRUG USERS

Reshetnikov I.V.

*South Ural State Medical University, Chelyabinsk city, Russia (454092, Chelyabinsk city, Vorovskogo street, 64), e-mail: reshetnikov\_igor@mail.ru*

One of the most important ways of transfer of HIV in Russia still have the intravenous use of drugs. The number of the HIV-infected persons with an additional disease the chronic viral hepatitis C (CHCV) is very significantly owing to the general ways of transfer of HIV and HCV. The influence of viral hepatitis C on the progress of HIV infection remains a disputable question. The features of the immune status of the HIV-infected injecting drug users (IDU) with CHCV were investigated in our study. The system of extended white blood cell differential by flow cytometry CytoDiff was used for this purpose. This system allows to count relative and absolute quantities of the following cellular populations: B-lymphocytes, T- and NK-cells (CD16+ and CD16-), monocytes (CD16+ and CD16-), mature neutrophils, eosinophils, basophiles, immature granulocytes, T- and B-cell precursors. Concentration of CD4+ lymphocytes was counted by the standard panel of monoclonal antibodies CD45-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. We carried the comparative analysis of two groups of HIV-infected patients – the IDU with an additional disease CHCV and the non-IDU without CHCV. The lower relative and absolute quantities of T-helpers were recorded in group of the IDU with coinfection HIV/HCV. Reliable distinctions in other leukocytes populations were not revealed.

Keywords: human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis C virus (HCV), injecting drug users (IDU).

Коинфекция ВИЧ/ВГС широко распространена по всему миру. Это связано, прежде всего, с общими путями передачи обоих вирусов. Инфицирование ВИЧ через парентеральное употребление наркотиков остается одним из главных путей передачи ВИЧ-инфекции. По этой причине число ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных

наркотиков (ПИН) с сопутствующим заболеванием ВГС очень велико. От 50 до 90 % ПИН, которые заражаются ВИЧ в результате инъекционного потребления наркотиков, одновременно инфицированы ВГС [6].

Данные относительно влияния инфицирования ВГС на течение ВИЧ-инфекции остаются противоречивыми. Ряд ученых отмечает более быстрое прогрессирование ВИЧ-инфекции у пациентов с ВГС [2, 3, 8]. Часть ученых отмечает, что никакого значимого влияния ВГС на число Т-хелперов, скорость развития СПИД или смертность у ВИЧ-инфицированных лиц не наблюдается [7].

Целью нашей работы стало изучение влияния ХВГС на субпопуляционный состав лейкоцитов и вирусную нагрузку ВИЧ у ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных наркотиков.

### **Материалы**

В исследовании приняли участие 62 ВИЧ-инфицированных лица с III и IVA стадией заболевания по Покровскому, находящихся на диспансерном наблюдении в инфекционном отделении для лечения больных ВИЧ/СПИДом Клиники ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России. Среди ВИЧ-инфицированных ПИН, вошедших в исследование, большая часть использовала героин или «ханку» (опиоидный наркотик кустарного производства).

Для исключения влияния стадии заболевания на результаты сравнения был проведен анализ отдельно для пациентов с III и IVA стадиями заболевания. ВИЧ-инфицированные лица каждой стадии были разделены на 2 группы – лица, не являющимися ПИН, без сопутствующего заболевания ХВГС (группа 1) и ПИН с сопутствующим диагнозом ХВГС (группа 2). Среди пациентов с III стадией заболевания в группу 1 вошли 25 человек, в группу 2 – 17 человек. Среди пациентов с IVA стадией заболевания в группу 1 вошли 5 человек, в группу 2 – 15 человек.

Среди ВИЧ-инфицированных лиц с III стадией в группе 1 средний возраст составил  $30,0 \pm 6,3$  лет, в группе 2 –  $29,9 \pm 3,3$  лет. Среди ВИЧ-положительных лиц с IVA стадией в группе 1 средний возраст составил  $26,8 \pm 4,1$  лет, в группе 2 –  $32,8 \pm 4,0$  лет. Все пациенты, включенные в исследование, не получали антиретровирусную терапию.

ВГС у большинства ВИЧ-инфицированных лиц, включённых в исследование, был охарактеризован врачом-клиницистом как ХВГС минимальной степени активности.

### **Методы**

Для изучения субпопуляционного состава лейкоцитов нами была использована новейшая система расширенного дифференциального подсчета лейкоцитов методом проточной цитометрии CytoDiff производства компании BeckmanCoulter. Система CytoDiff включает в себя панель моноклональных антител, реагенты для контроля качества и

соответствующее программное обеспечение. Анализ проводился на проточном цитометре FC500 Cytoomics производства BeckmanCoulter.

Реагенты CytoDiff представляют собой пятицветную комбинацию из 6 моноклональных антител, которая позволяет с помощью проточной цитометрии определить 9 гематологических параметров в образце цельной крови. Комбинация антител CD36-FITC/CD2-PE/CD294(CRTH2)-PE/CD19-ECD/CD16-PC5/CD45-PC7.

Реагент предназначен для использования в рутинной практике клинической лаборатории для *invitro* диагностики.

При использовании значения общего количества лейкоцитов (WBC), полученного с помощью автоматического гематологического анализатора, анализ образца, окрашенного реагентом CytoDiff, позволяет получить как значения относительного содержания тех или иных популяций клеток, так и абсолютные значения.

Используемая стратегия гейтирования позволяет обнаружить циркулирующие лейкоциты, среди которых в дальнейшем определяют 9 гематологических параметров. Результат представляется в виде процентного содержания положительно-окрашенных клеток.

В образцах цельной крови система определяет следующие гематологические параметры (таблица 1).

Таблица 1

Популяции лейкоцитов и соответствующие им фенотипы, доступные для определения с помощью системы CytoDiff

Популяция клеток	Условное обозначение (фенотип)
В-лимфоциты	Ly B (SSClow, CD45high, CD16-, CD2 и CRTH2-, CD19+)
Т- и НК-клетки CD16-	T- (SSClow, CD45high, CD16-, CD2+ или CRTH2+)
Т- и НК-клетки CD16+	T+ (SSClow, CD45high, CD16+, CD2+ или CRTH2+)
Т- и НК-клетки	Lymph T&NK
Общее количество лимфоцитов	LymphTotal
Популяция клеток	Условное обозначение (фенотип)
Моноциты CD16-	M- (SSCint, CD16-, CD2- и CRTH2-, CD19-, CD36+)
Моноциты CD16+	M+ (SSCint, CD16+, CD2- и CRTH2-, CD19-, CD36+)

Общее количество моноцитов	MonoTotal
Незрелые гранулоциты	Imm Gr (SSChigh, CD45int, CD16-, CD2- и CRTH2-)
Эозинофилы	Eo Total (SSChigh, CD45high, CD16-, CD2+ или CRTH2+)
Зрелые нейтрофилы	Neutro Mature (SSChigh, CD45high, CD16+)
Общее количество нейтрофилов	NeutroTotal
Предшественники В-лимфоцитов	Xb (SSClow, CD45low, CD16-, CD2 и CRTH2-, CD19+)
Предшественники Т-лимфоцитов	Xt (SSClow, CD45low, CD16-, CD2+ или CRTH2+)
Предшественники моноцитов	Xm
Базофилы	Baso Total (SSCint, CD45int, CD16-, CD2+ или CRTH2+)

Для определения числа Т-хелперов была использована дополнительная панель моноклональных антител CD45-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. Анализ проводился на том же проточном цитометре FC500 Cytomics.

Определение вирусной нагрузки ВИЧ проводилось методом ПЦР на автоматизированной системе для анализа нуклеиновых кислот Abbott m2000rt.

### Результаты и обсуждение

Среди ВИЧ-инфицированных пациентов с III стадией заболевания в группе 2 относительно группы 1 наблюдается снижение относительного и абсолютного числа Т-хелперов (таблица 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ показателей иммунной системы у ВИЧ-инфицированных лиц с III стадией заболевания с учетом сопутствующего заболевания ХВГС и приема наркотиков, (M±m)

Показатели	Группа 1 (ПИН-, ХВГС-)	Группа 2 (ПИН+, ХВГС+)
	n=25	n=17
Т-хелперы, %	27,75±1,63	20,37±1,77
Т-хелперы, клеток/мкл	536,45±31,39	405,43±47,84

Примечание: в таблицах 2 и 3 указаны только статистически значимые показатели, p<0,05.

Среди ВИЧ-инфицированных пациентов с IVA стадией заболевания в группе 2 относительно группы 1 наблюдается снижение относительного числа лимфоцитов, Т- и НК-клеток, в том числе CD16-негативных. В группе 2 также зафиксировано снижение абсолютного количества Т-хелперов и CD16-негативных Т- и НК-клеток (таблица 3).

Таблица 3

Сравнительный анализ показателей иммунной системы у ВИЧ-инфицированных лиц с IVA стадией заболевания с учетом сопутствующего заболевания ХВГС и приема наркотиков, (M±m)

Показатели	Группа 1 (ПИН-, ХВГС-)	Группа 2 (ПИН+, ХВГС+)
	n=5	n=15
Т- и НК-клетки CD16-, %	39,60±4,09	22,29±3,12
Т- и НК-клетки CD16-, клеток/мкл	2327,21±793,33	1146,21±158,68
Т- и НК-клетки, %	42,56±4,31	25,15±3,23
Общее количество лимфоцитов, %	45,89±4,87	28,13±3,33
Т-хелперы, клеток/мкл	543,00±150,71	246,50±50,67

Достоверных различий по уровню вирусной нагрузки ВИЧ не выявлено.

К настоящему времени вопрос о влиянии ВГС на течение ВИЧ-инфекции изучен недостаточно. Результаты нашего исследования показывают, что сопутствующее заболевание ХВГС усугубляет состояние иммунной системы ВИЧ-инфицированных лиц, что выражается в более низком уровне Т-хелперов. По данным ряда ученых, уже при моноинфекции ВГС фиксируется снижение CD4+ клеток [4]. В контексте же ВИЧ-инфекции у ВГС может быть особая роль. ВГС активирует клетки иммунной системы, а активация клеток является обязательным условием для репликации ВИЧ.

Нельзя также исключить воздействия наркотических средств на иммунную систему ПИН. У опиатных наркоманов более высокий уровень инфекционной заболеваемости, что может быть непосредственно связано с ослаблением функций иммунной системы. Морфин и героин усиливают апоптоз лимфоцитов, активируя клетки через их  $\mu$ -опиоидные рецепторы [5]. В контексте ВИЧ-инфекции активация клеток может играть дополнительную роль – активация необходима для репликации вируса.

Возможны и другие причины. Согласно литературным данным, у ВИЧ-инфицированных ПИН наблюдается повышенный уровень кортизола [1]. При этом известно,

что кортикостероиды оказывают негативное влияние на лимфоциты: индуцируют апоптоз и эмиграцию тимоцитов, вызывают апоптоз и подавляют пролиферацию зрелых лимфоцитов.

Таким образом, мы отмечаем негативное влияние коморбидной патологии в виде наркотической зависимости и ХВГС на течение ВИЧ-инфекции, что проявляется в более выраженном дефиците лимфоцитов CD4+. При этом наличие ХВГС не влияет на концентрацию РНК ВИЧ в периферической крови пациентов.

### **Выводы**

Вопрос о влиянии ХВГС на течение ВИЧ-инфекции у ВИЧ-инфицированных ПИН до сих пор изучен недостаточно. Полученные в нашей работе данные показывают, что сопутствующее заболевание ХВГС и внутривенное употребление наркотиков приводят к более выраженному дефициту Т-хелперов у ВИЧ-инфицированных лиц. Такие пациенты требуют более пристального внимания врачей-клиницистов при прогнозировании развития ВИЧ-инфекции и назначении антиретровирусной терапии.

### **Список литературы**

1. Санникова О.Е. Социально-психологические аспекты дезадаптации ВИЧ-инфицированных лиц в пенитенциарной среде / О.Е. Санникова, А.Г. Соловьев, П.И. Сидоров // Экология человека. – 2009. – № 4. – С. 20-24.
2. De Luca A. Coinfection with hepatitis viruses and outcome of initial antiretroviral regimens in previously naïve HIV-infected subjects / A. De Luca, R. Bugarini, A.C. Lepri et al. // Arch Intern Med. – 2002. – Vol. 162. – P. 2125-2132.
3. Greub G. Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus co-infection / G. Greub, B. Ledergerber, M. Battegay et al. // Lancet. – 2000. – Vol. 356. – P. 1800-1805.
4. Laurence J. T-Cell Subsets in Health, Infectious Disease, and Idiopathic CD4+T Lymphocytopenia / J. Laurence // Annals of Internal Medicine. – 1993. – Vol. 119 – P. 55-62.
5. McCarthy L. Opioids, opioid receptors, and the immune response / L. McCarthy, M. Wetzel, J.K.Sliker et al. // Drug Alcohol Depend. – 2001. – Vol. 62. – P. 111-123.
6. Sulkowski M.S. Hepatitis C virus infection as an opportunistic disease in persons infected with human immunodeficiency virus / M.S. Sulkowski, E.E. Mast, L.B. Seef, D.L. Thomas // Clin Infect Dis. – 2000. – Vol. 30. – P. 77-84.
7. Sulkowski M.S. Hepatitis C and progression of HIV disease / M.S. Sulkowski, R.D. Moore, S.H. Mehta et al. // JAMA. – 2002. – Vol. 288. – P. 199-206.

8. Van Asten L. Infection with concurrent multiple hepatitis C virus genotypes is associated with faster HIV disease progression / L. Van Asten, M. Prins // AIDS. – 2004. – Vol. 18. – P. 2319-2324.

**Рецензенты:**

Абрамовских О.С., д.м.н., начальник отдела аспирантуры и докторантуры, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск.

Савочкина А.Ю., д.м.н., заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск.