

- go vozrasta s giperplasticheskimy processami endometriya i gipotireozom. Dis. Novokuzneck; 2009. (in Russian)
24. Wang W.J., Hao C.F., Yi-Lin, Konje J.C. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *J. Reprod. Immunol.* 2010; 84(2): 164–70.
 25. Iwai T., Fujii S., Nanbu Y., Nonogaki H., Konishi I., Mori T. et al. Effect of human chorionic gonadotropin on the expression of progesterone receptors and estrogen receptors in rabbit ovarian granulosa cells and the uterus. *Endocrinology.* 1991; 129(4): 1840–48.
 26. Duncan W.C., Gay E., Maybin J.A. The effect of human chorionic gonadotrophin on the expression of progesterone receptors in human luteal cells in vivo and in vitro. *Reproduction.* 2005; 130(1): 83–93.
 27. Reimer T., Koczan D., Müller H., Friese K., Krause A., Thiesen H.J., et al. Human chorionic gonadotrophin- β transcripts correlate with progesterone receptor values in breast carcinomas. *Journal of molecular endocrinology.* 2000; 24: 33–41.
 28. Kumar S. Research into anti-fertility vaccine continues despite protests. *Lancet.* 1998; 352(9139): 1528.
 29. Taylor A.H., Finney M., Lam P.M.W., Konje J.C. Modulation of the endocannabinoid system in viable and non-viable first trimester pregnancies by pregnancy-related hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2011; 9: 152.
 30. Djuzheva E.V. *Gormonal'naja podgotovka jendometrija u pacien-tok s nejeffektivnymi popytkami JeKO v anamneze dissertacija.* Dis. Moskva; 2010. (in Russian)

Received 16.03.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.826.6]-092:612.017.1.064]-078.33

Селимова Л.М.¹, Калнина Л.Б.¹, Серебровская Л.В.², Иванова Л.А.², Гуляева А.Н.³, Носик Д.Н.¹

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ ПАЦИЕНТОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва; ³ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва

Изучено влияние факторов плазмы пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), получающих и не получающих высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ), на экспрессию фенотипических маркеров лимфоцитов ($CD3^+$, $CD3^+/CD4^+$, $CD3^+/CD8^+$, $CD19^+$, $CD3^+/CD(16+56)^+$, $CD3^+/CD(16+56)^+$, $CD3^+/HLA-DR^+$, $CD4^+/CD62L^+$, $CD8^+/CD62L^+$, $CD8^+/CD38^+$) в мононуклеарных клетках (МНК) крови доноров и секрецию провоспалительных (интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), интерферон- γ , фактор некроза опухоли- α , ИЛ-2) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов. После 24 ч активации МНК с плазмами было показано, что по сравнению с контрольными группами в группе плазм пациентов с ВААРТ наблюдается увеличение количества $CD4^+$ Т-клеток и снижение количества $CD8^+$ Т-клеток. Плазмы больных с ВААРТ активируют в наибольшей степени $CD4^+$ Т-клетки, а плазмы пациентов без лечения – $CD8^+$ Т-клетки. Результаты определения цитокинов в плазмах указывают на то, что у пациентов без лечения воспалительный потенциал повышен по сравнению с группой ВААРТ. Данные по накоплению ИЛ-1 β при культивировании МНК с плазмами указывают на его роль в сохранении жизнеспособности натуральных киллеров. Изучение иммуномодулирующей активности плазм пациентов с ВИЧ-инфекцией может быть рекомендовано как дополнительный метод оценки функционирования иммунной системы.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция; лимфоцит; цитокин; иммуномодуляция.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (10): 45–49.

Selimova L.M.¹, Kalnina L.B.¹, Serebrovskaya L.V.², Ivanova L.A.², Gulyaeva A.N.³, Nosik D.N.¹

THE IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF PLASMA OF PATIENTS INFECTED WITH HUMAN HIV VIRUS

¹The N.F. Gamaleia Federal research center of epidemiology and microbiology of the D.I. Ivanovskii institute of virology of Minzdrav of Russia, 123098 Moscow, Russia; ²The Central research institute of epidemiology of Rosпотребнадзор, 111123 Moscow, Russia; ³The hematological research center of Minzdrav of Russia, 125167 Moscow, Russia

The study was carried out to investigate impact of plasma of patients infected with human HIV virus receiving and not receiving highly active antiviral therapy on: expression of phenotypic markers of lymphocytes ($CD3^+$, $CD3^+/CD4^+$, $CD3^+/CD8^+$, $CD19^+$, $CD3^+/CD(16+56)^+$, $CD3^+/CD(16+56)^+$, $CD3^+/HLA-DR^+$, $CD4^+/CD62L^+$, $CD8^+/CD62L^+$, $CD8^+/CD38^+$) in mononuclear cells of blood of donors and secretion of pro-inflammatory (interleukin-1 β , interferon- γ , tumor necrosis factor- α , interleukin-4 and interleukin-10) cytokines. After 24 hours of activation of mononuclear cells with plasmas it was demonstrated that as compared with control groups, in of plasmas of patients with highly active antiviral therapy increasing of number of $CD4^+$ T-cells and decreasing of $CD8^+$ T-cells is observed. The plasmas of patients with highly active antiviral therapy activate in most instances $CD4^+$ T-cells whereas plasmas of patients without treatment - $CD8^+$ T-cells. The results of detection of cytokines in blood indicate that in patients without treatment inflammatory potential is increased as compared with group of highly active antiviral therapy. The data concerning accumulation of interleukin-1 β under cultivation of mononuclear cells with plasmas indicates at its role in preservation of vitality of natural killers. The analysis of immunomodulatory activity of plasma of patients infected with human HIV virus can be recommended as an additional technique of evaluation of functioning of immune system.

Key words: HIV infection; lymphocyte; cytokine; immunomodulation

Citation: Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (10): 45–49. (in Russ.)

Для корреспонденции: Селимова Людмила Мидатовна, lselim@mail.ru

For correspondence: Selimova L.M., lselim@mail.ru

Введение. Основным иммунологическим показателем течения заболевания при инфекции, вызываемой вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), является снижение количества CD4-лимфоцитов (Т-хелперов). Эти клетки играют существенную роль в регуляции всех звеньев иммунной системы. Снижение их количества и функциональной активности приводит к развитию иммунодефицита, появлению оппортунистических инфекций и смерти [1]. Применяемые в настоящее время различные схемы высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) позволяют добиться существенного подавления репликации вируса и повышения уровня CD4-клеток даже у пациентов с высоким уровнем вирусной нагрузки и низким числом последних [2]. Кроме непосредственного цитопатического влияния вируса на CD4-клетки, в организме пациента развивается хроническая гиперактивация иммунной системы, приводящая к дисфункции врожденных и приобретенных ее звеньев, развитию иммунологической толерантности и потере способности к регенеративным процессам. Нарушаются механизмы пополнения системы свежими популяциями наивных клеток и их созревания в иммунокомпетентные клетки, способные участвовать в эффективном противовирусном ответе [3]. Полного восстановления функциональной активности компонентов иммунной системы не происходит даже на фоне успешной ВААРТ. Поэтому понимание всех механизмов организации и поддержания эффективного иммунного ответа при ВИЧ-инфекции необходимо для создания вакцинных препаратов, поиска эффективных иммунотерапевтических подходов и дополнительных методов оценки функционирования иммунной системы. Сложность регуляции работы всех многокомпонентных звеньев иммунитета, а также полифункциональность участвующих в этих процессах неспецифических факторов гуморального иммунного ответа существенно усложняют изучение особенностей патогенеза ВИЧ-инфекции. Несмотря на 30 лет интенсивных исследований, проблема взаимоотношения вируса с иммунной системой хозяина остается изученной недостаточно.

Одним из подходов к изучению этой проблемы служат различные биологические системы, моделируемые *in vitro*. В настоящее время такого рода исследования получили широкое распространение благодаря развитию цитометрических методов [4, 5] с использованием моноклональных антител к различным фенотипическим маркерам иммунных клеток, позволяющим изучать их физиологические особенности.

В данной работе мы попытались изучить влияние факторов плазмы ВИЧ-инфицированных пациентов на моноклеарные клетки (МНК) доноров. Кроме экспрессии основных маркеров, используемых при фенотипировании лимфоцитов крови (CD3⁺, CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺, CD19⁺, CD3⁻/CD(16+56)⁺, CD3⁺/CD(16+56)⁺, CD3⁺/HLA-DR⁺), определяли экспрессию маркеров активации CD62L⁺ и CD38⁺. Также изучали уровни секреции провоспалительных (интерлейкин-1β (ИЛ-1β), интерферон-γ (ИФН-γ), фактор некроза опухоли-α (ФНО-α), ИЛ-2) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов.

Материалы и методы. В работе использовали образцы периферической крови 33 пациентов на стадии 3 ВИЧ-инфекции, находящихся на диспансерном наблюдении в Специализированном научно-исследовательском отделе эпидемиологии и профилактики синдрома приобретенного иммунодефицита. Из них 17 пациентов (9 женщин и 8 мужчин) не получали ВААРТ и 16 (9 женщин и 7 мужчин) получали. ВААРТ проводили в соответствии с рекомендациями, принятыми в Российской Федерации [6]. МНК получали из периферической крови доноров, обращавшихся в Гематологический научный центр Минздрава России, в возрасте от 18 до 49 лет ($\mu = 30 \pm 9,1$). Кровь отбирали в вакутейнеры, содержащие К₂ЭДТА (BD Vacutainer, Великобритания). Кровь пациентов осаждали при 2000 об/мин в течение 20 мин при 20 °С и отбирали плазму. Для инкубации с МНК донора использовали 1 мл плазмы, оставшуюся часть хранили при -20 °С

до проведения анализа на цитокины и вирусную нагрузку. Кровь доноров делили на две части. Из одной выделяли МНК по стандартной методике в градиенте плотности Фиколла-1077 Плюс, из другой получали плазму, как описано выше, и хранили при -20 °С до проведения анализа на цитокины. Часть МНК окрашивали моноклональными антителами, как описано ниже, остальные делили на равные части, к каждой из которых добавляли по 1 мл плазмы доноров и пациентов, конечная концентрация клеток при этом составляла 10⁶/мл. Пробы инкубировали при 37 °С в присутствии 5% CO₂. Через 24 ч часть суспензии клеток отбирали для анализа наружных фенотипических маркеров методом окрашивания моноклональными антителами фирмы Beckman Coulter (США): CD3(FITC)/CD19(PE), CD3(FITC)/CD4(PE), CD3(FITC)/CD8(PE), CD3(FITC)/HLA-DR(PE), CD3(FITC)/CD(16+56)(PE), CD62L(PCy5), CD8(FITC)/CD38(PE). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре EPICS XL (Beckman Coulter). Все гистограммы были обработаны с использованием программы KALUSA (Beckman Coulter). Оставшуюся суспензию клеток осаждали при 2000 об/мин в течение 20 мин при 20 °С, отбирали надосадочную жидкость и хранили при -20 °С до проведения анализа на цитокины. Уровни цитокинов в плазме измеряли с использованием коммерческих иммуноферментных тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Вирусную нагрузку в плазме пациентов определяли с помощью коммерческой тест-системы полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR, Amplicor HIV Monitor Assay, Roche Diagnostics, США).

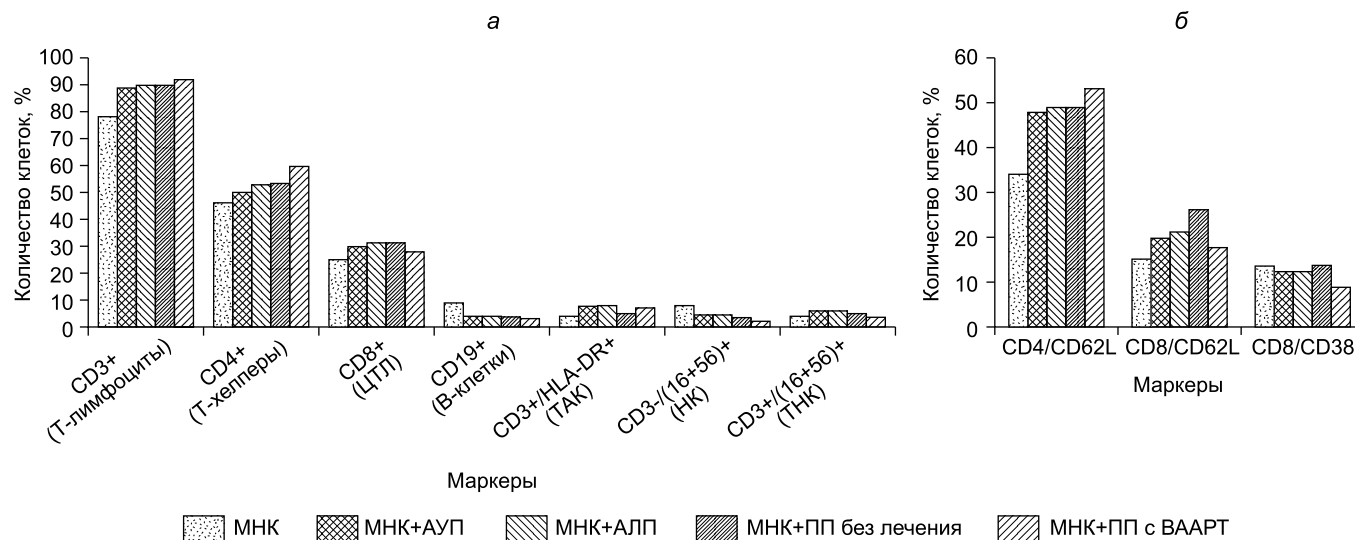
Статистический анализ данных для описательной статистики, определение коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r^s) и сравнение групп данных по U-тесту Манна-Уитни проводили с использованием программы BioStat 2009 (AnalystSoft). Уровень значимости (α) был равен 0,05.

Результаты и обсуждение. При инкубации МНК донора с плазмой пациентов использовали два контроля. В первом случае клетки донора инкубировали в присутствии своей плазмы (аутогенной плазмы (АУП)), во втором – в присутствии плазмы, полученной от другого донора (аллогенной плазмы (АЛП)). Это было сделано для того, чтобы сравнить влияние на МНК аллогенной плазмы условно здоровых лиц и плазмы пациентов с ВИЧ-инфекцией. Результаты определения основных фенотипических маркеров и маркеров активации в пробах приведены на рисунке. На графиках представлены значения медиан для каждой группы анализируемых проб. Также показаны значения медиан для каждого фенотипического маркера МНК доноров, полученных при анализе клеток до инкубации с плазмами. Данные о пациентах представлены в таблице.

Характеристика пациентов с ВИЧ-инфекцией

Показатель	Группа пациентов	
	без ВААРТ	с ВААРТ
Возраст, годы	30,1 ± 2,7 (24–35)	36,3 ± 9,3 (27–57)
Длительность инфицирования, годы	7,2 ± 4 (1–13)	7 ± 2,8 (2–11)
Продолжительность лечения, годы	–	4,25 ± 2,8 (1–9)
CD4 ⁺ Т-клетки, число клеток/мкл	455 ± 130 (287–699)	410 ± 150 (97–697)
Вирусная нагрузка, число копий вирусной РНК/мл, lg	4,7 ± 2,6 (2,7–5,4)	1,9 ± 1 (0–2,7)

Примечание. Приведены средние значения и стандартные отклонения, в скобках указаны минимальные и максимальные величины.



Анализ фенотипических маркеров, экспрессируемых МНК крови: *а* – основные фенотипические маркеры; *б* – маркеры активации.

МНК – МНК крови донора до инкубации с плазмами; МНК+АУП, МНК+АЛП, МНК+ПП без лечения, МНК+ПП с ВААРТ – инкубация с АУП, АЛП, плазмами пациентов без лечения и плазмами пациентов, получающих ВААРТ, соответственно.

Лимфоциты периферической крови состоят из трех основных фенотипических разновидностей клеток: Т-клетки (CD3⁺), В-клетки (CD3/CD19⁺) и натуральные киллеры (НК; CD3⁺/CD(16+56)⁺) [7]. Первые две относятся к факторам, участвующим в развитии приобретенного иммунитета, третья – врожденного. Среди Т-лимфоцитов выделяются два основных типа – клетки CD4 (CD3⁺/CD4⁺) и CD8 (CD3⁺/CD8⁺), называемые по аналогии с их функциональной активностью Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ) соответственно [8]. Развивающийся в организме инфекционный процесс приводит к активации, размножению и дифференцировке покоящихся CD4⁺-клеток в специфические группы, которые вырабатывают различные цитокины, координирующие функционирование всех компонентов иммунной системы. При ВИЧ-инфекции развивается несколько индуцируемых вирусом механизмов, вызывающих их гибель. Уменьшение количества CD4⁺-клеток сопровождается снижением активности и необратимым повреждением всех компонентов иммунитета. От активности Т-хелперов существенно зависит и цитотоксическая активность CD8⁺ Т-клеток, которые используют различные механизмы, обеспечивающие противовирусную защиту [9]. Функционирование этих двух типов клеток при развитии иммунного ответа очень тесно связано и взаимозависимо. Важным критерием оценки иммунной системы человека считается величина соотношения этих клеток (CD4/CD8), которая в норме изменяется в пределах 1,2–2,5. При ВИЧ-инфекции развивается иммунодефицит, и это соотношение становится менее 1 из-за относительного снижения количества CD4⁺ и увеличения CD8⁺ Т-клеток. Об общем количестве зрелых активированных Т-лимфоцитов (ТАК) судят по наличию маркера HLA-DR⁺. Следующий тип Т-клеток, обнаруживаемый в МНК в небольших количествах, относится к Т-натуральным киллерам (ТНК; CD3⁺/CD(16+56)⁺). Для этих клеток характерен специфический механизм активации, связанный с особенностями строения консервативных доменов основного рецептора Т-клеток (ТКР/CD3⁺) и антигенного комплекса гистосовместимости на поверхности клеток, его презентующих [10]. Для их активации не требуется пролиферации и дифференцировки. Они синтезируют различные цитокины, усиливающие активность клеток как врожденного, так и приобретенного иммунитета, и обладают киллерной активностью. Киллерной активностью и способностью секретировать цитокины обладают также НК

[11], доля которых составляет 5–15% от общего количества лимфоцитов крови. Они уничтожают клетки, не несущие МНС-1 (антиген гистосовместимости 1-го типа), которые недоступны действию ЦТЛ и ТНК. И последний компонент – В-клетки, синтезирующие при инфекции вируснейтрализующие антитела. В МНК это главным образом наивные покоящиеся клетки и клетки памяти, составляющие 5–15% от общего количества лимфоцитов крови. При ВИЧ-инфекции количество В-клеток, НК и ТНК падает. ВААРТ увеличивает их содержание, но функциональная активность восстанавливается не полностью [12–14].

Влияние суммарных растворимых факторов плазмы доноров и пациентов на перечисленные выше основные фенотипы МНК показано на рисунке, *а*. Видно, что иммуномодулирующая активность имеет выраженный положительный потенциал при анализе CD3⁺, CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺ и ТАК лимфоцитов. Для CD3⁺-клеток наибольшее увеличение наблюдается в группе образцов, полученных от пациентов с ВААРТ. Количество CD4⁺-клеток увеличивается незначительно относительно АУП и АЛП в группе пациентов без ВААРТ, и на примерно на 7% в группе с ВААРТ. Наибольшее количество CD8⁺ Т-клеток обнаруживается при инкубации в группах АЛП и пациентов без лечения. В группе с ВААРТ количество этих клеток снижено. Больше всего ТАК обнаруживается в контрольных группах, а в группах с ВИЧ-инфекцией их количество имеет тенденцию к снижению в большей степени у пациентов без лечения. Следует отметить, что инкубация МНК всех групп плазм приводила к увеличению количества указанных выше маркеров по сравнению с МНК, тестируемыми до инкубации с плазмами. При анализе ТАК во всех группах это увеличение наиболее выражено в контрольных группах и у пациентов с ВААРТ и незначительное в группе больных без ВААРТ. Таким образом, можно заключить, что все группы плазм содержат факторы, увеличивающие количество лимфоцитов CD3⁺, CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺ и ТАК. При сопоставлении показателей МНК можно заключить, что по сравнению с контрольными группами в группе плазм от пациентов с ВААРТ наблюдается увеличение количества CD4⁺ Т-клеток и снижение количества CD8⁺ Т-клеток, а в ТАК – ниже в обеих группах пациентов, но при ВААРТ их количество увеличивается практически до уровня контроля. При этом медианы соотношения CD4/CD8 составляют 1,9; 1,8; 1,7 и 2 для АУП, АЛП, плазм без лечения и с ВААРТ

соответственно. Количество ТНК по сравнению с контрольными группами снижено. Но делать какие-либо выводы в данном случае и в случае с ТАК сложно, так как клетки с этими фенотипами присутствуют в периферической крови в небольших количествах. Существенное снижение наблюдается для В-клеток и НК. Относительно гибели этих клеток можно сказать, что это связано скорее всего с их функциональными особенностями, а не специфическими факторами плазм. Это может быть следствием спонтанной гибели в результате активации. Показано, что активация МНК фитогемагглютинином и конканавалином А приводит к их гибели [15, 16].

На рисунке, б представлены результаты влияния компонентов всех категорий плазм на экспрессию маркера активации CD62L⁺ на CD4⁺, CD8⁺ Т-клетках и CD38⁺ на CD8⁺ Т-клетках. Этот рецептор отражает готовность иммунной системы отвечать на иммунные сигналы, участвует в рециркуляции клеток и транспорте активированных клеток в места воспаления [17]. Полагают, что роль данного белка в регуляции функционирования иммунной системы значительно шире, чем известно сейчас. При ВИЧ-инфекции его количество снижается [18]. Белок CD38⁺ – это эктоэнзим, экспрессируемый на лейкоцитах и играющий важную роль в пролиферации и дифференцировке Т-клеток. Показано, что активация иммунной системы при ВИЧ-инфекции приводит к увеличению его экспрессии, а ВААРТ – к ее снижению [19]. Точная причина этого неизвестна. Полагают, что это обусловлено действием компенсаторных механизмов иммунной системы в связи со снижением функциональной активности CD8⁺ Т-клеток при ВИЧ-инфекции. Как видно из рисунка, количество CD62L⁺ увеличивается во всех группах плазм на CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках по сравнению с клетками донора. При этом на CD4⁺ Т-клетках оно в наибольшей степени увеличивается в группе пациентов с ВААРТ, а на CD8⁺-клетках существенно возрастает в группе без лечения (примерно на 10%) и незначительно падает в группе с ВААРТ. В целом можно заключить, что иммуномодулирующая активность плазм ВИЧ-инфицированных пациентов отличается от иммуномодулирующей активности АУП и АЛП. Плазмы пациентов с ВААРТ активируют в наибольшей степени CD4⁺ Т-клетки, а плазмы пациентов без лечения – CD8⁺-клетки. Количество CD8⁺CD38⁺ Т-клеток во всех группах плазм сравнимо с МНК доноров, за исключением группы пациентов с ВААРТ. В последнем случае их количество снижено.

При сравнении всех фенотипических показателей МНК при делении пациентов по абсолютному количеству CD4⁺-клеток на две группы (1-я – менее 400 клеток/мл; 2-я – более 400 клеток/мл) какой-либо существенной зависимости мы не обнаружили.

Как уже говорилось, нами изучены уровни про- и противовоспалительных цитокинов в плазмах доноров и пациентов. Инкубация МНК с плазмами практически не выявила изменений в количестве цитокинов в пробах по сравнению с первоначальным тестированием. Мы не обнаружили их накопления, так как скорее всего 24-часовая инкубация слишком короткая. Приблизительно у 85% пациентов без лечения выявлены два или три провоспалительных цитокина (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-2), приблизительно у 7,6% – только ФНО- α и у 7,4% – только ИФН- γ . У пациентов с ВААРТ примерно 60% плазм содержали только ИФН- γ и примерно 40% – два или три провоспалительных цитокина (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-2). Какой-либо существенной корреляции данных по цитокинам с данными, представленными на рисунке, мы не обнаружили. Но следует заметить, что наличие в плазмах пациентов с ВААРТ только ИФН- γ снижает количество CD4⁺CD62L⁺-клеток примерно на 15% по сравнению с плазмами, в которых обнаруживаются два или три провоспалительных цитокина (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-2).

Как уже было отмечено выше, при анализе цитокинов мы не обнаружили усиления секреции большинства тестируемых белков. Исключением был ИЛ-1 β . Из 20 образцов плазмы доноров мы только в 1 образце обнаружили этот цитокин,

в 13 плазмах пациентов без лечения он не обнаруживался, из 10 плазм пациентов с ВААРТ был найден в 1 образце. После инкубации МНК с плазмами в течение 24 ч с этими образцами ИЛ-1 β обнаружен в 6 из 10 культур АУП, в 5 из 10 АЛП, в 8 из 13 с использованием плазм пациентов без лечения и в 8 из 10 – пациентов с ВААРТ. Его количество варьировало в широком диапазоне – 1–250 пг/мл. Важно, что уровень ИЛ-1 β в системах коррелировал с сохранением жизнеспособности НК. При определении коэффициента корреляции Спирмена между количеством цитокина в культуральной жидкости и количеством лимфоцитов с фенотипом CD3⁺/CD(16+56)⁺ были получены следующие значения: –0,03; 0,52; –0,08 и 0,12 для групп АУП, АЛП, пациентов без лечения и с ВААРТ соответственно. Как видно, этот эффект не связан с ВИЧ-инфекцией и наилучшая корреляция была получена в аллогенной системе. Скорее всего это связано с индивидуальными свойствами МНК доноров и/или плазмы доноров, использованных в исследовании. В любом случае эти результаты подтверждают данные о роли ИЛ-1 β в физиологии НК-клеток [20].

Заключение. Полученные результаты указывают на то, что действующие при ВААРТ и без лечения специфические факторы плазмы изученных групп образцов в целом способны поддерживать иммунитет в активном состоянии. В группе пациентов без лечения это подтверждается и результатами, показывающими, что иммуномодулирующая активность плазм сравнима с эффектами АУП и АЛП. На основании показателей экспрессии фенотипов CD62L⁺ и CD38⁺ можно заключить, что в группе плазм пациентов с ВААРТ наблюдается иммуномодулирующий эффект из-за снижения активации CD8⁺ Т-лимфоцитов по белку CD38⁺ и увеличения CD4⁺ Т-лимфоцитов по CD62L⁺, и это скорее всего связано с положительным эффектом ВААРТ. Снижение количества CD8⁺CD62L⁺-клеток с ВААРТ может быть следствием неполного восстановления функциональной активности иммунных клеток. Результаты определения цитокинов в плазмах указывают на то, что у пациентов без лечения воспалительный потенциал повышен. Данные о накоплении ИЛ-1 β при культивировании МНК с плазмой подтверждают его роль в пролиферирующей активности НК-клеток. Изучение иммуномодулирующей активности плазм пациентов на МНК может быть рекомендовано как дополнительный метод оценки функционирования иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

- Rosenberg Z.F., Fauci A.S. The immunopathogenesis of HIV infection. *Adv. Immunol.* 1989; 47: 377–431.
- Pakker N.G., Roos M.T., van Leeuwen R., de Jong M.D., Koot M., Reiss P. et al. Patterns of T-cell repopulation, virus load reduction, and restoration of T-cell function in HIV-infected persons during therapy with different antiretroviral agents. *J. AIDS Hum. Retrov.* 1997; 16(5): 318–26.
- Appay V., Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J. Pathol.* 2008; 214(2): 231–41.
- Caruso A., Licenziati S., Corulli M., Canaris A. D., De Francesco M. A., Fiorentini S. et al. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T cells and their correlation with cell proliferation. *Cytometry.* 1997; 27: 71–6.
- Maino V. C., Suni M. A. and Ruitenberg J. J. Rapid flow cytometric method for measuring lymphocyte subset activation. *Cytometry.* 1995; 20: 127–33.
- Покровский В.В., ред. *ВИЧ-инфекция и СПИД: Клинические рекомендации. 2-е изд.* М.: Медицина; 2009.
- Селимова Л.М., Серебровская Л.В., Калнина Л.Б., Хохлова О.Н., Гуляева А.Н., Носик Д.Н. Показатели иммунного статуса периферической крови доноров. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2014; 6: 40–3.
- Gandhi R.T., and Walker B.D. Immunologic control of HIV-1. *Ann. Rev. Med.* 2002; 53: 149–72.
- Gulzar N., Copeland K.F. CD8⁺ T-cells: function and response to HIV infection. *Curr. HIV Res.* 2004; 2(1): 23–37.
- Bendelac A., Savage P.B., Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu.*

- Rev. Immunol.* 2007; 25: 297–336.
11. Cooper M.A., Fehniger T.A., Caligiuri M.A. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.* 2001; 22(11): 633–40.
 12. Moir S., Fauci A.S. B cells in HIV infection and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 235–45.
 13. Alter G., Altfeld M. NK cells in HIV-1 infection: evidence for their role in the control of HIV-1 infection. *J. Intern. Med.* 2009; 265: 29–42.
 14. van der Vliet H. J., van Vonderen M. G., Molling J. W., Bontkes H. J., Reijm M., Reiss P. Rapid recovery of NKT cells upon institution of highly active antiretroviral therapy for HIV-1 infection. *J. Immunol.* 2006; 177: 5775–8.
 15. Zolnierowicz J., Ambrozek-Latecka M., Kawiak J., Wasilewska D., Grazyna Hoser G. Monitoring cell proliferation in vitro with different cellular fluorescent dyes. *Fol. His. Cytobiol.* 2013; 51(3): 193–200.
 16. Piscianz E., Valencic E., Cuzzoni E., De Iudicibus S., De Lorenzo E., Decorti G. et al. Fate of lymphocytes after withdrawal of tofacitinib treatment. *PLoS ONE.* 2014; 9(1): e85463. doi:10.1371/journal.pone.0085463.
 17. Dwir O., Solomon A., Mangan S., Kansas G.S., Schwarz U.S., and Alon R. Avidity enhancement of L-selectin bonds by flow: shear-promoted rotation of leukocytes turn labile bonds into functional tethers. *J. Cell Biology.* 2003; 163(3): 649–59.
 18. Hayes P.J., Miao Y.M., Gotch F.M. and Gazzard B.G. Alterations in blood leucocyte adhesion molecule profiles in HIV-1 infection. *Clin. Exp. Immun.* 1999; 117: 331–4.
 19. Malavasi F., Deaglio S., Funaro A., Ferrero E., Horenstein A.L., Ortolan E. et al. Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiol. Rev.* 2008; 88: 841–86.
 20. Petrini M., Quaranta M.T., Testa U., Sarnoggia P., Tritarelli E., Carrea A., et al. Expression of selected human HOX-2 genes in B/T acute lymphoid leukemia and Interleukin-2/Interleukin-1 β -stimulated natural killer lymphocytes. *Blood.* 1992; 80(1): 185–93.
 21. Maino V. C., Suni M. A. and Ruitenberg J. J. Rapid flow cytometric method for measuring lymphocyte subset activation. *Cytometry.* 1995; 20: 127–33.
 22. Pokrovsky V. V., ed. *HIV infection and AIDS: Clinical guidelines [ВИЧ-инфекция и СПИД: Клинические Рекомендации]. 2 ed.* Moscow: Meditsina; 2009. (in Russian).
 23. Selimova L. M., Serebrovskaya L. V., Kalnina L. B., Khokhlova O. N., Guliyeva A. N., Nosik D.N. The indicators of immune status of peripheral blood of donors. *Klinicheskaiya Laboratornaya Diagnostika.* 2014; 6: 40–3. (in Russian).
 24. Gandhi R.T., and Walker B.D. Immunologic control of HIV-1. *Ann. Rev. Med.* 2002; 53: 149–72.
 25. Gulzar N., Copeland K.F. CD8⁺ T-cells: function and response to HIV infection. *Curr. HIV Res.* 2004; 2(1): 23–37.
 26. Bendelac A., Savage P.B., Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2007; 25: 297–336.
 27. Cooper M.A., Fehniger T.A., Caligiuri M.A. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.* 2001; 22(11): 633–40.
 28. Moir S., Fauci A.S. B cells in HIV infection and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 235–45.
 29. Alter G., Altfeld M. NK cells in HIV-1 infection: evidence for their role in the control of HIV-1 infection. *J. Intern. Med.* 2009; 265: 29–42.
 30. van der Vliet H. J., van Vonderen M. G., Molling J. W., Bontkes H. J., Reijm M., Reiss P. Rapid recovery of NKT cells upon institution of highly active antiretroviral therapy for HIV-1 infection. *J. Immunol.* 2006; 177: 5775–8.
 31. Zolnierowicz J., Ambrozek-Latecka M., Kawiak J., Wasilewska D., Grazyna Hoser G. Monitoring cell proliferation in vitro with different cellular fluorescent dyes. *Fol. His. Cytobiol.* 2013; 51(3): 193–200.
 32. Piscianz E., Valencic E., Cuzzoni E., De Iudicibus S., De Lorenzo E., Decorti G. et al. Fate of lymphocytes after withdrawal of tofacitinib treatment. *PLoS ONE.* 2014; 9(1): e85463. doi:10.1371/journal.pone.0085463.
 33. Dwir O., Solomon A., Mangan S., Kansas G. S., Schwarz U. S., Alon R. Avidity enhancement of L-selectin bonds by flow: shear-promoted rotation of leukocytes turn labile bonds into functional tethers. *J. Cell Biology.* 2003; 163(3): 649–59.
 34. Hayes P. J., Miao Y. M., Gotch F. M., Gazzard B. G. Alterations in blood leucocyte adhesion molecule profiles in HIV-1 infection. *Clin. Exp. Immun.* 1999; 117: 331–4.
 35. Malavasi F., Deaglio S., Funaro A., Ferrero E., Horenstein A. L., Ortolan E. et al. Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiol. Rev.* 2008; 88: 841–86.
 36. Petrini M., Quaranta M. T., Testa U., Sarnoggia P., Tritarelli E., Carrea A., et al. Expression of selected human HOX-2 genes in B/T acute lymphoid leukemia and Interleukin-2/Interleukin-1 β -stimulated natural killer lymphocytes. *Blood.* 1992; 80(1): 185–93.

Поступила 27.04.15

REFERENCES

1. Rosenberg Z.F., Fauci A.S. The immunopathogenesis of HIV infection. *Adv. Immunol.* 1989; 47: 377–431.
2. Pakker N. G., Roos M. T., van Leeuwen R., de Jong M. D., Koot M., Reiss P. et al. Patterns of T-cell repopulation, virus load reduction, and restoration of T-cell function in HIV-infected persons during therapy with different antiretroviral agents. *J. AIDS Hum. Retrov.* 1997; 16 (5): 318–26.
3. Appay V., Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J. Pathol.* 2008; 214 (2): 231–41.
4. Caruso A., Licenziati S., Corulli M., Canaris A. D., De Francesco M. A., Fiorentini S. et al. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T cells and their correlation with cell proliferation. *Cytometry.* 1997; 27: 71–6.

Received 27.04.15