

УДК 616.98:578.828НIV-097:616.89-008.441.33
**КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ У ПОТРЕБИТЕЛЕЙ ИНЪЕКЦИОННЫХ НАРКОТИКОВ,
СТРАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**

¹Э. П. Станько, ²С. А. Игумнов, ³В. М. Цыркунов

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гомельский государственный медицинский университет

³Республиканский научно-практический центр психического здоровья, г. Минск

С целью определения особенностей клеточного иммунитета у ВИЧ-положительных потребителей инъекционных наркотиков (ВПН) проведено обследование когорты из 37 ВПН, из них 19 (51,4 %) мужчин и 18 (48,6 %) женщин. Группа сравнения была представлена 49 ВИЧ-негативными наркозависимыми пациентами (ВНН), из них 23 (46,9 %) мужчины и 26 (53,1 %) женщины. Группу контроля (К) составили 19 здоровых лиц: 6 (31,5 %) мужчин и 13 (68,4 %) женщин без маркеров парентеральных вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, в возрасте от 23 до 41 года, медиана (Me) — 24,0 года; нижняя квартиль (Q25) — 23,0 года; верхняя квартиль (Q75) — 34,0 года.

Путь инфицирования установлен на основании детализации у ВПН эпидемиологического анамнеза. Для определения клинической стадии ВИЧ-инфекции использовалась классификация ВОЗ (2006).

В результате исследования установлено, что изменения, выявленные у ВПН в клеточном составе периферической крови, характеризуются значительными нарушениями в клеточном звене иммунитета, в частности, снижением Т-хелперов (CD4+ клеток), естественных киллеров и Т-естественных киллеров (CD3-CD16+56+ и CD3+CD16+56+ клеток), В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и регуляторных клеток CD4+25+ в сочетании с повышенным количеством Т-киллеров (CD8+ клеток) и активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+ клеток). Установление корреляционной зависимости между нарушениями в клеточном звене иммунитета и приемом наркотиков («стажем наркотизации» и возрастом пациентов) свидетельствует о наличии дополнительного, значительного по силе иммуносупрессорного эффекта наркотических веществ на состояние иммунореактивности ВИЧ-инфицированных потребителей наркотиков.

Установление факта нарушений в клеточном звене иммунитета у ВНН патогенетически обосновывает необходимость мониторинга за иммунным статусом ПИН и проведения у них иммунокоррекции, так как потребители инъекционных наркотиков являются наиболее уязвимой группой риска инфицирования ВИЧ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, клеточный иммунитет, потребители инъекционных наркотиков.

**CELLULAR IMMUNITY IN INJECTION DRUG USERS
WITH DIFFERENT STAGES OF HIV-INFECTION**

¹E. P. Stanko, ²S. A. Igumnov, ³V. M. Tsyrukunov

¹Grodno State Medical University

²Gomel State Medical University

³Republican Research Center for Mental Health, Minsk

To determine the characteristics of cellular immunity in HIV-positive injection drug users (IDU) a cohort of 37 IDUs, of them 19 (51.4 %) men and 18 (48.6 %) women, was examined. The comparison group included 49 HIV-negative drug-dependent patients (DDP), of them, 23 (46.9 %) men and 26 (53.1 %) women. The control group included 19 healthy people: 6 (31.5 %) men and 13 (68.4 %) women without markers of parenteral viral hepatitis and HIV infection. The age varied from 23 to 41, the median (Me) — 24.0, the lower quartile (Q25) — 23.0, the upper quartile (Q75) — 34.0.

The way of infection was defined on the basis of detailization of the epidemiological anamnesis in DDPs. To determine the clinical stage of HIV infection, the WHO classification (2006) was used.

As a result of the study it was determined that the changes revealed in the cells of peripheral blood in DDPs, are characterized by significant impairments in cellular immunity, in particular, the decline in T-helper cells (CD4+cells), natural killer cells and T-natural killer cells (CD3-CD16+56+ and CD3+CD16+56+ cells), B lymphocytes (CD19+cells) and regulatory cells CD4 25+ in combination with an increased number of T-killer cells (CD8+cells), and activated T lymphocytes (CD3+HLA-DR+cells). The establishment of the correlation between the abnormalities in cellular immunity and drug use («narcotization experience» and the age of the patients) indicates the presence of an additional, significant immunosuppressive effect of drugs on the state of immune reactivity of HIV-positive drug users.

The identification of abnormalities in the cellular component of DDPs' immunity justifies the necessity for monitoring of the immune status of IDUs and for correction of their immune system as injection drug users are the most threatened risk group for HIV infection.

Key words: HIV-infection, cellular immunity, injection drug users.

Введение

Систематическое и длительное потребление инъекционных наркотиков приводит к хо-

рошо изученным в последние годы негативным медико-социальным последствиям — криминальной активности и социальной деза-

даптации, психическим и соматоневрологическим осложнениям, высокой летальности и т. д. Особенно следует отметить дисрегулирующее влияние наркотиков на иммунный статус потребителей. Среди потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) наблюдается рост инфекционной заболеваемости, злокачественными новообразованиями, аутоиммунных процессов. При опийной наркомании около половины пациентов погибает от оппортунистических инфекций, развивающихся на фоне вторичного иммунодефицитного синдрома, характеризующегося повышенным апоптозом лимфоцитов, дефицитом Т-хелперов с инверсией соотношения Т-хелперы/Т-супрессоры, снижением числа НК-клеток, нарушением антителогенеза, фагоцитоза, цитокинового и хемокинового баланса [1]. Вместе с тем, при оценке состояния здоровья ПИН недостаточно изученными остаются вопросы снижения напряженности общего иммунитета и естественной неспецифической резистентности к инфекциям, объективной оценки изменений иммунологических показателей, иммунокоррекции, прогноза ситуации в целом [2].

Наркозависимость, являясь результатом воздействия на человека множества различных факторов, отличается большим разнообразием формирующих и отягощающих ее механизмов. Поэтому патогенетическая роль дисфункции иммунной системы в формировании индивидуальной чувствительности к наркотическим веществам, также в развитии зависимости к наркотикам, особенно при присоединении ВИЧ-инфекции изучена недостаточно, неясными остаются сроки возникновения осложненной наркозависимости, влияние на сопротивляемость больного человека, вопросы ведения ВИЧ-позитивных ПИН. Изучение иммунопатогенеза наркозависимости является важным для проведения обоснованной патогенетической терапии [0]. Однако в отечественной наркологии на сегодняшний день не выработан единый подход к оценке состояния клеточного иммунитета у ПИН, не определено динамическое соотношение рецепторного обеспечения лимфоидных клеток в зависимости от длительности и вида потребления наркотика. Требуют дальнейшего изучения изменения иммунореактивного потенциала организма ПИН при присоединении ВИЧ-инфекции, что диктует необходимость проспективного исследования более крупных когорт ПИН.

Цель исследования

Определение особенностей клеточного иммунитета у ВИЧ-позитивных потребителей инъекционных наркотиков (ВПН).

Материал и методы

Исследование проводилось в рамках выполнения Государственной программы науч-

ных исследований «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» по заданию «Разработать критерии клинико-социального функционирования, оценить качество жизни и дезадаптацию потребителей инъекционных наркотиков (ПИН), страдающих различными стадиями ВИЧ-инфекции». Обследование пациентов и контрольной группы осуществлялось в стационарных условиях на базе наркологического отделения ГУ «РНПЦ психического здоровья» и отдела лабораторной диагностики и лечения туберкулеза ГУ «РНПЦ фтизиатрии и пульмонологии». Основную группу (I) составили 37 ВПН, из них, 19 (51,4 %) мужчин и 18 (48,6 %) женщин. Группа сравнения (II) была представлена 49 ВИЧ-негативными наркозависимыми пациентами (ВНН), из них 23 (46,9 %) мужчины и 26 (53,1 %) женщин. Группу контроля (K) составили 19 здоровых лиц: 6 (31,5 %) мужчин и 13 (68,4 %) женщин без маркеров парентеральных вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, в возрасте от 23 до 41 года, медиана (Me) — 24,0 года; нижняя квартиль (Q25) — 23,0 года; верхняя квартиль (Q75) — 34,0 года.

Путь инфицирования установлен на основании детализации у ВПН эпидемиологического анамнеза. Для определения клинической стадии ВИЧ-инфекции использовалась классификация ВОЗ (2006), в соответствии с которой пациенты распределились следующим образом: I клиническая категория — 9, II категория — 23, III категория — 3, IV категория — 2 пациента. Длительность заболевания ВИЧ-инфекцией составляла от 9 месяцев до 8 лет. В 70 % случаев ВИЧ-инфекция характеризовалась минимальными, субклиническими проявлениями. Выраженная иммуносупрессия, соответствующая стадии СПИД ($CD4^+ < 200$ кл/мкл), установлена у 6 ВПН. Антиретровирусную терапию никто из пациентов на момент обследования не получал. Диагностика синдрома опиоидной зависимости проводилась в соответствии с диагностическими критериями МКБ 10.

Методология клинического и иммунологического исследований являлась комплексной и стандартной: клиническое психиатрическое и соматоневрологическое интервью.

С помощью наборов моноклональных антител фирмы «Becton Dickenson» (США) против $CD3$, $CD4$, $CD8$, $CD16$, $CD19$, $CD25$, $CD56$, HLA-DR антигенов определяли субпопуляции общих Т-лимфоцитов ($CD3^+$), В-лимфоцитов ($CD19^+$), Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$), цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$), естественных Т-киллеров ($CD3^+CD16^+CD56^+$), естественных киллеров ($CD3^+CD16^+CD56^+$), регуляторных/активированных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+$), активированных лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$).

Исследование проведено на проточном цитофлуориметре FACS Canto II производства компании «Becton Dickenson» (США) в соответствии с инструкцией изготовителя тест-системы. При проведении иммунологического исследования периферическую кровь получали путем асептической венопункции с использованием вакуумной системы для забора крови содержащей в качестве антикоагулянта динатриевую соль ЭДТА. Образцы крови хранили при комнатной температуре (18–25 °С). Все образцы крови были проанализированы в течение не более 6 часов после венопункции. Проведение иммунофлюоресцентного окрашивания выполнялось согласно инструкциям производителя моноклональных антител «Becton Dickenson» (США).

Для анализа результатов исследований использован стандартный пакет прикладных статистических программ «Statistica», 6.0 и SPSS, 11.0. Анализ проводился по следующему алгоритму: с помощью теста Колмогорова-Смирнова (критерий d) оценивали соответствие распределения каждой анализируемой переменной нормальному распределению. Нормально распределенные переменные характеризовали с помощью математического ожидания (M) и среднего квадратического отклонения (σ) в формате $M \pm \sigma$. Для

оценки связи между переменными применяли непараметрический корреляционный анализ Спирмена (R). При оценке достоверности воздействия одного из факторов с учетом одновременного влияния на изучаемые показатели еще ряда других факторов применялся многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) — метод, позволяющий вычлнить и оценить вклад каждого конкретного фактора, а также их композиций в величину дисперсии изучаемого показателя. Для оценки различий средних значений в группах при множественных (попарных) сравнениях использовался тест Бонферрони. Нулевая гипотеза (о нормальности распределения, отсутствии влияния группирующих переменных, отсутствии связи между переменными) отвергалась на уровне значимости $\alpha = 0,05$ ($p \leq 0,05$) для каждого из использованных тестов.

Результаты и обсуждение

Оценка клинических проявлений и показателей клеточного иммунитета у пациентов обследованных групп проводилась дифференцированно, в зависимости от возраста начала первых проб наркотика и стажа наркотизации. Возраст обследованных, возраст начала первых проб наркотического вещества и длительность наркотизации представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Возрастные характеристики пациентов и длительность наркотизации обследованных

Показатели	Группы										p
	II группа (ВИЧ-ПИН)					I группа (ВИЧ+ПИН)					
	Me	Min	Max	Q25	Q75	Me	Min	Max	Q25	Q75	
Возраст	29,0	20,0	39,0	25,0	33,0	31,0	24,0	41,0	27,0	33,0	—
Возраст начала первых проб наркотика	20,0	15,0	37,0	18,0	23,0	18,0	13,0	27,0	16,0	20,0	0,004
Стаж	7,0	1,0	18,0	5,0	11,0	13,0	4,0	23,0	10,0	15,0	0,00001

Примечание: в этой и последующих таблицах «—» — отсутствие достоверности ($p > 0,05$)

Как видно из данных таблицы 1, различия в возрасте между пациентами I и II групп не было ($p > 0,05$). В то же время опыт потребления наркотиков у пациентов I группы по сравнению со II группой был более ранним, и первые пробы наркотика пришлись на возраст 13–27 лет в отличие от пациентов II группы — 15–37 лет ($p < 0,004$). Более длительный стаж наркотизации отмечен у пациентов I группы (в среднем

13 лет) по сравнению с пациентами II группы (7 лет) при $p < 0,00001$.

В гистограмме у пациентов I группы по сравнению со II и контрольной установлен статистически значимо более высокий процент клеток с фенотипом CD3+, CD8+, CD3+HLA-DR+ и существенно меньше доля лимфоцитов CD19+, CD4+, CD3-CD16+56+, CD4+25+ (таблица 2), что в целом, согласуется с литературными данными [4–6].

Таблица 2 — Фенотип лейкоцитов у обследованных пациентов I, II и контрольной групп (К)

Показатели	II группа		I группа		Контроль		P_{0-1}	P_{0-2}	P_{1-2}
	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.			
Лейкоциты ($10^9/л$)	9,55	2,88	7,68	—	—	—	$<10^4$	0,03	0,09
Лимфоциты ($10^9/л$)	2,99	1,03	2,53	1,10	2,91	0,85	0,01	—	0,08
CD3+ (%)	77,90	6,78	85,41	5,82	73,47	5,75	$<10^{-5}$	0,01	$<10^{-7}$
CD3+ ($10^9/л$)	2,34	0,85	2,13	0,97	2,14	0,66	—	—	—
CD19+ (%)	11,33	4,79	6,19	3,40	11,42	3,59	$<10^{-6}$	—	$<10^{-5}$
CD19+ ($10^9/л$)	0,34	0,21	0,15	0,11	0,34	0,14	$<10^{-6}$	—	$<10^{-5}$
CD4+ (%)	41,96	5,40	23,11	7,43	43,11	4,83	$<10^{-17}$	—	$<10^{-14}$

Окончание таблицы 2

Показатели	II группа		I группа		Контроль		P ₀₋₁	P ₀₋₂	P ₁₋₂
	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.			
CD4+ (10 ⁹ /л)	1,27	0,50	0,58	0,34	1,25	0,42	<10 ⁻¹¹	—	<10 ⁻⁷
CD8+ (%)	31,53	8,24	58,08	9,53	31,11	5,03	<10 ⁻¹⁷	—	<10 ⁻¹⁴
CD8+ (10 ⁹ /л)	0,93	0,34	1,45	0,69	0,91	0,34	<10 ⁻⁴	—	0,0007
CD3-CD16+56+ (%)	10,18	4,89	7,08	3,41	13,89	3,67	0,001	0,0004	<10 ⁻⁶
CD3-CD16+56+ (10 ⁹ /л)	0,29	0,15	0,17	0,12	0,41	0,16	<10 ⁻⁴	0,01	<10 ⁻⁶
CD3+HLA-DR+ (%)	11,82	4,79	32,92	13,57	8,58	2,67	<10 ⁻¹⁴	—	<10 ⁻⁹
CD3+HLA-DR+ (10 ⁹ /л)	0,35	0,18	0,77	0,42	0,25	0,11	<10 ⁻⁸	0,02	<10 ⁻⁸
CD3+16+56+ (%)	6,96	3,97	5,43	3,25	7,68	2,94	0,07	—	0,01
CD3+16+56+ (10 ⁹ /л)	0,20	0,13	0,14	0,12	0,23	0,12	0,005	—	0,004
CD4+25+ (%)	6,43	3,59	4,65	2,67	5,95	1,75	0,003	—	0,03
CD4+25+ (10 ⁹ /л)	0,35	1,12	0,11	0,08	0,17	0,08	<10 ⁻⁴	—	0,003
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,46	0,60	0,47	0,27	1,43	0,36	<10 ⁻¹⁷	—	<10 ⁻¹¹

Как видно из данных таблицы 2, подобным образом между группами различались абсолютные показатели количества лимфоцитов, экспрессирующих указанные антигены. Исключением составили клетки с фенотипом CD3+, число которых (в пересчете на 1 л) у пациентов всех обследованных групп было практически одинаковое. Вследствие более низкого количества CD4+ клеток и более высокого числа CD8+ лимфоцитов у пациентов I группы иммунореактивный индекс (ИРИ) был более низким, чем у пациентов II и контрольной групп ($p < 0,000$).

По сравнению с показателями иммунограммы здоровых лиц у пациентов II группы существенно выше было общее количество лейкоцитов, CD3+HLA-DR+ клеток и процент CD3+ лимфоцитов, а также ниже абсолютное и относительное количество НК ($p < 0,05$).

Установлено, что стаж приема наркотиков у пациентов I и II групп положительно коррелировал с абсолютным количеством клеток, имеющих фенотипы CD8+, CD3+HLA-DR+ ($R = 0,29$, $p = 0,006$; $R = 0,45$, $p = 0,00002$ соответственно), и отрицательно — с числом CD4+, CD19+ клеток и величиной ИРИ ($R = -0,45$, $p = 0,00001$; $R = -0,36$, $p = 0,0008$; $R = -0,53$; $p = 0,0000001$ соответственно). Подобным образом, но менее выражено была корреляция показателей иммунограммы с числом, демонстрирующим во сколько раз по сравнению с исходной увеличилась необходимая в настоящее время доза наркотика, характеризующая толерантность к наркотическому средству. Показатель повышения толерантности положительно коррелировал с процентом CD8+ и количеством CD3+HLA-DR+ лимфоцитов, $R = 0,39$, $p = 0,005$ и $R = 0,31$, $p = 0,03$, отрицательно — с абсолютным содержанием CD4+, CD4+25+, клеток и величиной ИРИ ($R = -0,44$, $p = 0,001$; $R = -0,32$, $p = 0,02$; $R = -0,44$; $p = 0,001$ соответственно).

Заключение

Изменения, выявленные у ВПН в клеточном составе периферической крови, характеризуются

значительными нарушениями в клеточном звене иммунитета, в частности, снижением Т-хелперов (CD4+ клеток), естественных киллеров и Т-естественных киллеров (CD3-CD16+56+ и CD3+CD16+56+ клеток), В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и регуляторных клеток CD4+25+ в сочетании с повышенным количеством Т-киллеров (CD8+ клеток) и активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+ клеток).

Установление корреляционной зависимости между нарушениями в клеточном звене иммунитета и приемом наркотиков («стажем наркотизации» и возрастом пациентов), свидетельствует о наличии дополнительного, значительного по силе иммуносупрессорного эффекта наркотических веществ на состояние иммунореактивности ВИЧ-инфицированных потребителей наркотиков.

Установление факта нарушений в клеточном звене иммунитета у ВПН патогенетически обосновывает необходимость мониторинга за иммунным статусом ПИН и проведения у них иммунокоррекции, так как потребители инъекционных наркотиков являются наиболее угрожаемой группой риска инфицирования ВИЧ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Рисберг, В. Ю. Особенности иммунного статуса и апоптоз лимфоцитов при опиоидной наркомании: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.18 / В. Ю. Рисберг: УГМУ. — Уфа, 2002. — 24 с.
2. Закономерности эпидемического процесса HIV HCV и коинфекции HIV/HCV в Республике Беларусь / Н. В. Матиевская [и др.] // Инфекционные болезни. — 2010. — Т. 8, № 4. — С. 38–45.
3. Зайратьянц, О. В. Патология иммунной и эндокринной систем при каннабиноидной наркомании и полинаркомании / О. В. Зайратьянц, А. Б. Гасанов // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. — 2009. — № 11. — С. 54–64.
4. 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. M. Orendi [et al.] // J. Infect. Dis. — 1998. — Vol. 178, № 5. — P. 1279–1287.
5. Ji, J. HIV-1 binding to CD4 on CD41CD251 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 / J. Ji, M. W. Cloyd // Int. Immunol. — 2009. — Vol. 21, № 3. — P. 283–294.
6. Состояние Т-системы лимфоцитов и содержание цитокинов у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС / Н. В. Матиевская [и др.] // Здоровье охранение. — 2011. — № 1. — С. 4–9.