**Клинико-иммунологическая характеристика естественного течения ВИЧ-инфекции на ранних сроках инфицирования.**

Инфекция на ранних сроках индуцирует наиболее мощные реакции со стороны иммунной системы. Т-хелперные ответы во время первичной ВИЧ-инфекции представляют особый интерес, поскольку считается, что проявления на ранних сроках инфицирования влияют на исход заболевания. Хотя ВИЧ-специфичные пролиферативные CD4-Т-клеточные ответы довольно ограничены у большинства пациентов во время первичной ВИЧ инфекции [15], продуцирующие цитокин вирусодефицитные CD4-T-клетки были четко идентифицированы в этот период в нескольких исследованиях [4, 13, 14, 16]. Следует отметить, что ВИЧ-специфические CD4 и CD8-Т-клетки возникают с различной кинетикой во время первичной ВИЧ-инфекции, при этом специфические CD4-Т-клетки достигают максимальной частоты в течение нескольких недель после инфицирования, тогда как CD8-клетки постепенно увеличиваются в течение нескольких месяцев [3]. Контроль вирусной инфекции в значительной степени зависит от NK-опосредованной цитотоксичности и реактивности CD8+Т-клеток. Многочисленные исследования описывают популяционное распределение и функциональные возможности NK-клеток при ВИЧ-инфекции и иногда приводят к противоречивым результатам. NK-клетки являются многофункциональными эффекторными клетками с потенциалом для контроля инфекций и формирования адаптивных иммунных реакций, оказывают иммунное давление на ВИЧ, а распознавание NK-клетками общих сигналов стресса и инфекции, индуцированных на ранней стадии ВИЧ-инфекции, является важной областью для исследования. При ВИЧ-инфекции наблюдаются нарушение и В-клеточного гомеостаза, снижение числа В-клеток памяти и нарушение функции IgM и IgG антител [10]. Увеличенное количество продуцируемых цитокинов может быть связано с активацией клеток-продуцентов суперантигенами, которые имеются в структуре вируса. По данным Кетлинского С.А. [1] суперантигены способствуют мощному выбросу цитокинов, среди которых IL-1, IL-4, IL-6, TNF и IL-10, и могут, с одной стороны, стимулировать продукцию антител, а с другой – способствовать гибели ВИЧ-инфицированных В-лимфоцитов. Изучение особенностей клинического течения и иммунологических показателей у ВИЧ-инфицированных и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией с ранних сроков инфицирования ВИЧ-инфекцией в отечественной и зарубежной научной литературе представлена немногочисленными работами и требует дальнейшего изучения данного вопроса.

Цель: провести сравнительную характеристику клинического течения и иммунологических особенностей c ранних сроков инфицирования у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и ВИЧ-моноинфекцией.

Материалы и методы: **сорок пять пациентов,** **в возрасте 36,2±1,8 лет** **(все исседованные больные находились на диспансерном учете в «Республиканском центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан»)** на ранних сроках инфицирования ВИЧ – из них 25 ВГС/ВИЧ-инфицированных, **70% мужчин** (первая группа) и 20 (**44% мужчин)** с ВИЧ моноинфекцией (вторая группа); длительность инфицирования составляла менее 1 года (при ИФА (+), иммуноблот становился положительным в среднем в течение 5,5±0,6 мес.); для сравнительного анализа была обследована группа естественного **течения 92 пациента, в возрасте 35,8±1,2 лет –** 43 с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (третья группа) и 49 с ВИЧ-моноинфекцией (четвертая группа), с длительностью инфицирования ВИЧ в среднем 4,4±0,21 года; в группе здоровых было 52 человека.

Исходные показатели пациентов представлены в табл.1: в группах ВГС/ВИЧ-инфекции преобладали мужчины; для ВИЧ-моноинфекции характерен половой путь инфицирования, связанный с поведенческим риском незащищенных сексуальных контактов, поэтому распределение по полу в данных группах было примерно одинаково, они не являлись потребителями инъекционных наркотиков (ПИН), серологические маркеры ВГС инфекции в крови отсутствовали. У всех ВГС/ВИЧ-инфицированных выявлен инъекционный путь инфицирования ВИЧ, все в анамнезе отмечали употребление психоактивных веществ (ПАВ) - в/в героин. Длительность инфицирования HCV инфекцией составляла<5 лет; **распределение генотипов HCV у ВГС/ВИЧ-инфицированных первой и третьей групп было одинаковым, соответственно «1а/1b» - 33% и 40%, «2а/3а» - 67% и 60%.** У пациентов всех групп маркеры HBV инфекции в ИФА и ПЦР не определялись. Все наблюдаемые были «наивными» - не получали антиретровирусную терапию (АРВТ).

Клинико-эпидемиологическая диагностика ВИЧ-инфекций проводилась на основании санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции» в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 11 января 2011 г.(№1) «Об утверждении СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции», методическими рекомендациями Минздравсоцразвития РФ "О проведении обследования на ВИЧ-инфекцию" от 06.08.2007 г. (№ 5950-РХ). Сопутствующая патология выявлялась на основании анамнестических данных, анализа амбулаторных карт и консультаций специалистов в соответствии с приказомМP РФ от 24.12.2012 г. (№ 1511н) "Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекцией)". **Протокол клинико-лабораторного обследования принят Республиканским Комитетом по этическим вопросам при МЗ РТ.**

Диагноз ВИЧ-инфекция подтверждался при выявлении антител к ВИЧ (суммарные антитела) методом ИФА с использованием наборов реагентов НПО ″Диагностические системы″ г. Н. Новгород. Спектр антител к антигенам ВИЧ: gpl60, gp 110/120, gp 41 (env ВИЧ-1); p55, p 40, p24/25,pl8 (gag ВИЧ-1); p68, p52, p34 (pol ВИЧ-1) устанавливали методом иммунного блота с использованием тест-систем «New LAV Blot I» производства BioRad (Франция).

РНК ВГС (с генотипированием) и РНК ВИЧ в плазме периферической крови определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на анализаторах COBASTaqMan 48 (Hoffman-La-Roche, Швейцария), Abbottm2000rt (AbbottBiosystems, США). Чувствительность качественного метода ПЦР для обнаружения РНК ВГС составляла – 150 МЕ/мл, количественного – от 15 до 200 МЕ/мл; для определения РНК ВИЧ порог составил 50-150 коп/мл.Для выявления маркеров инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) в крови, в мазках из  уретры, шейки матки и  прямой кишки использовались методы: микроскопическое и культуральное исследование, ПЦР, количественная микрореакция преципитации, реакция иммунофлуоресценции, ИФА, реакция пассивной гемагглютинации.

Исследования периферической крови проводились на гематологическом анализаторе ВС – 3000 Plus (MindrayCo., LTD, Китай).

Фенотипирование лимфоцитов осуществлялось методом прямой реакции иммунофлуоресценции с моноклональными антителами (мкАТ) фирмы «Becton Dickinson» (США).). Использовался BD Мультитест 6-цветный TBNK реагент (Becton Dickinson, USA), содержащий мкАТ CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19. Для учета реакции иммунофлуоресценции применяли проточный цитофлуориметр FACScanto II (Becton Dickinson, USA).

Биохимическое исследование проводилось на автоматическом анализаторе FURUNO CA-180 (FURUNO ELECTRIC CO., LTD, Япония) с использованием стандартизованных реагентов (ЗАО «ДИАКОН-ДС», Московская область); внутрилабораторный контроль качества осуществлялся с помощью мультикалибратора TruCal U, контрольных сывороток TruLab N («Норма») и TruLab P («Патология») (DiaSys Diagnostic systems GmbH, Германия).

Математическая обработка статистических данных производилась на компьютере с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007. Использовались параметрические методы оценки результатов: вычисление средней арифметической (М) и её средней ошибки (m). Качественные величины описывались по частоте встречаемости (%).Различия между сопоставляемыми группами по избранным критериям оценивали по t-критерию Стьюдента. Достоверность изменений признавалась при вероятности ошибки (р≤0,05).

**Таблица 1**

**Результаты и обсуждение.** Следует отметить, что в группе с ВГС/ВИЧ-инфекцией, по сравнению с ВИЧ-инфицированными, пациентов с низким (от 200 до 350/мкл) исходным уровнем СD4+клеток было достоверно (40% и 7%, р<0,01) больше, а также у большинства (67%) ВГС/ВИЧ-инфицированных вирусная нагрузка (ВН) РНК ВИЧ в ПЦР превышала 10000 коп/мл.Уже через шесть месяцев у ВГС/ВИЧ-инфицированных наблюдались достоверно (р<0,05–р<0,001) низкие показатели CD3+ (с 6 месяцев наблюдения), CD4+ (абс.ч. и %), **соотношения CD4+/CD8+** по сравнению с данными у ВИЧ-моноинфицированных, с сохранением этой тенденции в динамике наблюдения (табл.2). При этом достоверно высокие показатели при сочетанной инфекции по сравнению с данными моноинфицированных уровни CD8+лимфоцитов (%) отмечались с 6 месяца наблюдения, **а абсолютного числа с 12 месяцев наблюдения.** Низкое CD4+/CD8+ соотношение в настоящее время связывают с иммунной активацией и более высокой заболеваемостью не СПИД-ассоциированными болезнями на фоне АРВТ [11].

**Таблица 2**

 При исследовании в среднем через 5,9±0,1 месяцев от момента инфицирования ВИЧ-инфекцией не отмечалось достоверных различий у моноинфицированных-ВИЧ и у пациентов с сочетанной инфекцией в значениях абсолютных и относительных показателей NK-клеток (0,207±0,03 и 0,206±0,03·10⁹/л, p>0,05) и (13,01±2,49 и 12,51±2,01%, p>0,05), В-Лф. (0,148±0,02 и 0,153±0,06·10⁹/л, p>0,05) и (8,43±0,4 и 9,08±1,08%, p>0,05) соответственно; при достоверно (р<0,01) низких уровнях значений в обеих группах по сравнению с показателем у здоровых (0,265±0,02·10⁹/л и 0,206±0,02·10⁹/л ).

 На момент постановки диагноза ВИЧ-инфекция у пациентов первой и второй групп преобладали ИППП (генитальный герпес, сифилис, гонорея, хламидиоз, кондиломатоз): у 40% ВИЧ-инфицированных и 25% с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией (р<0,05). ИППП относятся к числу наиболее известных факторов риска заражения ВИЧ, способствуя передаче ВИЧ в результате разрушения защитных барьеров слизистой оболочки и рекрутирования восприимчивых иммунных клеток (CD4+ Т-хелперных клеток, макрофагов) к месту заражения [17]. В группе с сочетанной инфекцией у 20% больных выявлен алкоголизм; гнойно-воспалительные заболевания (тромбофлебит, абсцесс, пиодермия) наблюдались соответственно у 10% и 8% в обеих группах. При этом у 52% человек первой группы и у 48% второй не имелось каких-либо клинических проявлений. В течение 2 лет наблюдения ИППП по-прежнему преобладали в клинической картине и составили 44% в группе моноинфицированных и 25% у пациентов первой группы (р<0,05). Присоединение микозов имело место у 20% пациентов первой и 4% второй группы (р<0,01). Стоит отметить, что у 36% ВИЧ-моноинфицированных по-прежнему не было клинических проявлений. У пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией, помимо гнойно-воспалительных заболеваний (4%), тромбоцитопении (8%), развивались вторичные заболевания (саркома Капоши (4%) и ВИЧ-энцефалопатия (4%)).

Результаты исследования иммунного статуса в среднем на сроке 4,4±0,21 года у пациентов в 3 и 4 группах показали, что уровень CD3+лимфоцитов (абс.ч) был достоверно ниже у пациентов с сочетанной инфекцией по сравнению с показателями здоровых и моноинфицированных ВИЧ (р<0,01). Определялось снижение относительных показателей CD4+клеток на 17,8% (р<0,01) и **соотношения CD4+/CD8** на 22,8% (р<0,01), повышение на 11,8% относительных уровней CD8+клеток (р<0,05) у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными. **Отсюда соотношение CD4+/CD8+ было** (р<0,001) ниже у пациентов обеих групп соответственно в 2,8 и 2,4 раза, с достоверными различиями между показателями по группам (р<0,01). Данные NK-клеток (абс.ч. и %) у пациентов обеих групп были ниже значений здоровых лиц с достоверно (р<0,01) более низкими показателями при сочетанной инфекции (0,201±0,03 и 0,100±0,08·10⁹/л, p<0,01) и (12,51±3,09 и 9,11±1,51%, p<0,01). Абсолютное и относительное число В-лимфоцитов сохранялось низким (р<0,01) по сравнению с уровнем здоровых и в третьей и четвертой группах на более позднем сроке инфицирования, без достоверных различий между данными групп (0,136±0,03 и 0,143±0,05·10⁹/л, p>0,05) и (8,74±0,4 и 8,58±1,48%, p>0,05) соответственно.

Наиболее часто у пациентов 3 и 4 группы при естественном течении инфекционного процесса регистрировался астеновегетативный синдром (11,6% и 14,3%). В группе с ВГС/ВИЧ-инфекцией был выражен синдром желудочно-кишечных дисфункций (13,9%). У 2 (4,6%) ВГС/ВИЧ-инфицированных и 5 (10,2%) ВИЧ-моноинфицированных были выявлены кандидозные поражения слизистых оболочек. Клинических проявлений не было у 31% ВГС/ВИЧ-инфицированных и 59% ВИЧ-моноинфицированных пациентов.

Имеются данные о том, что сочетанная инфекция ВГС/ВИЧ сопровождается более высокими уровнями виремии ВГС и активностью воспалительного процесса в печени [8]. В нашем исследовании была выявлена высокая ВН РНК ВГС в ПЦР **(>400000 МЕ/мл)** у пациентов на более поздних сроках инфицирования у (83%), тогда как на ранних лишь у 51% больных. Показатели маркера воспаления-АлАТ и мужчин (2,9N и 2,7N) и у женщин (3,6N и 2,3N) сохранялись повышенными на сроках наблюдения – менее 1 года и в среднем через 4,4±0,21 года соответсттвенно. Достоверно низкие показатели уровня АлАТ у женщин на более поздних сроках наблюдения (64,73±8,8 и 46,86±9,02 Ме/л, р<0,01), вероятно связано с уменьшением потребления алкоголя (по данным анамнеза). Известно,что у больных гепатитом C после заражения ВИЧ уровень РНК ВГС в крови существенно повышается. Усиление репликации ВГС при коинфекции авторы связывают как с развитием иммунодефицита, так и с непосредственным влиянием ВИЧ. Данные исследований показали более высокие уровни Т-клеточной активации у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными [2]. Иммунная активация может стать причиной иммунной дисфункции и продукции цитокинов, вызывая усиление репликации ВИЧ и ВГС и снижение уровней Т-клеток [2]. Вызванная ВИЧ иммунная активация, индуцирует изменения цитокинов (IL-4, IL-10, IL-13, TGF-β), которые повышают воспаление и фиброз печени [12], а также может провоцировать повышение транскрипции ВИЧ в инфицированных клетках и вызывать более быструю деструкцию CD4+-лимфоцитов. Известно, ВИЧ инфекция, даже на фоне АРВТ, оказывает выраженное супрессивное влияние на активность NK-клеток в отношении ВГС. При ВИЧ/ВГС-коинфекции наблюдается не только снижение численности естественных киллеров и их способность отвечать на IL-2, но и существенно нарушается продукция этими клетками IFN-g [5]. Исходом является быстрое формирование фиброза и цирроза печени.

Как и другие вирусы, вызывающие хроническую инфекцию, ВИЧ участвует в постоянной активации иммунной системы [9]. HCV вызывает как иммунную активацию, так и воспаление [6]. В настоящее время известно, что уровень иммунной активации при ВИЧ/ВГС-инфекции превышает таковой при ВИЧ-моноинфекции и ВГС-моноинфекции. Хроническое воспаление, длительное подавление иммунитета и преждевременное иммунологическое старение у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов [3] являются причинами возникновения злокачественных опухолей [7] и сосудистых заболеваний; а также в развитии вторичных заболеваний имеет значение нарушение цитокиновой регуляции с преобладанием провоспалительных цитокинов.

 **Заключение.** Таким образом, у ВГС/ВИЧ-инфицированных с ранних сроков инфицирования на фоне более выраженного угнетения клеточного иммунитета и повышенной вирусной нагрузки по сравнению с данными при ВИЧ-моноинфекции в клинической картине преобладали гнойно-воспалительные, грибковые поражения и вторичные заболевания.Сопоставление частоты и характера клинических проявлений в группах показало, что менее агрессивно заболевание протекало у моноинфицированных ВИЧ пациентов. При естественном течении на более поздних сроках иммунный статус пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными характеризовался достоверным уменьшением числа СD3+, CD4+, **соотношения CD4+/CD8**, NK-клеток на фоне увеличения числа CD8+клеток. **В течение 1 года наблюдения за ВГС/ВИЧ-инфицированными 51% пациентов имели высокую ВН РНК HCV, а на 4 году инфицирования - 83 %.** Взятые вместе, эти данные отражают сложные взаимосвязи между вирусами, иммунной активацией и реакциями CD4 T-клеток. Вследствие этого, пациентам с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией особенно при высокой вирусной нагрузке РНК ВИЧ целесообразно ранее начало АРВТ, назначение ПВТ ВГС, что позволит поддерживать защитные специфичные для ВИЧ ответы CD4 T-клеток.