

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МИКРОБИОЛОГИИ И ПАРАЗИТОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЯ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

На правах рукописи

Матузкова Анна Николаевна

**ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ: СОСТОЯНИЕ МАРКЕРОВ СИСТЕМНОГО
ВОСПАЛЕНИЯ И МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ, ПРОГНОЗ ТЕЧЕНИЯ И
ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ**

14.01.09 – Инфекционные болезни

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Пшеничная Наталья Юрьевна

Научный консультант
доктор медицинских наук,
Алешукина Анна Валентиновна

Ростов-на-Дону – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ХРОНИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) ..	13
1.1. Достижения и проблемы терапии ВИЧ-инфекции на современном этапе.	13
1.2. Иммунопатогенетические особенности ВИЧ-инфекции.....	15
1.3. Поиск новых направлений в лечении ВИЧ-инфекции для повышения эффективности антиретровирусной терапии	38
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1. Дизайн исследования.....	45
2.2. Характеристика клинических групп	47
2.3. Методы исследования.....	56
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И АКТИВАЦИИ ИММУНИТЕТА НА ТЕЧЕНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ.....	60
3.1. Оценка выраженности системного воспалительного ответа в общей когорте больных ВИЧ-инфекцией.....	60
3.2. Взаимосвязь системного воспалительного ответа и показателей клеточного иммунитета	74
3.3. Оценка значимости изменений микробиоценоза ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией.....	81
ГЛАВА 4. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОНИТОРИНГА ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ	91
ГЛАВА 5. ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ	104
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	120
ВЫВОДЫ	139
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	141
Список литературы	143
ПРИЛОЖЕНИЯ	158
Приложение 1. Форма письменного информированного согласия пациента	158
Приложение 2. Заявление пациента о согласии.....	161
Приложение 3. Индивидуальная регистрационная карта участника исследования.....	162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Несмотря на более чем тридцатилетнюю историю развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции и большое количество исследований, посвященных этому заболеванию, включая вопросы лечения, его патогенез до сих пор полностью не изучен, продолжается активный поиск новых терапевтических подходов для элиминации вируса и излечения болезни. Даже на фоне длительного приема эффективной антиретровирусной терапии (АРТ) у значительной части больных выявляют иммунологические нарушения, остаточную вирусную нагрузку ВИЧ, высокие показатели активации иммунной системы и системного воспалительного ответа [37; 134; 150]. У пациентов с ВИЧ-инфекцией продолжительность жизни остается меньше, чем в общей популяции, что указывает на наличие неконтролируемых АРТ процессов, увеличивающих риск прогрессирования заболевания. Согласно ряду проведенных исследований при ВИЧ-инфекции выявлена высокая вероятность развития различных не связанных с ВИЧ заболеваний, главным образом болезней сердечно-сосудистой системы, костей, печени, почек, неврологических расстройств [134; 37; 265].

В последние годы активно изучается патогенетическая роль микробной транслокации в физиологии и патологии человека, в том числе ее влияние на гиперактивацию иммунитета и системное воспаление при ВИЧ-инфекции [140; 35; 108; 265; 125; 70]. Вместе с тем единые подходы для диагностики, лечения и профилактики эндотоксинемии не разработаны. Определение уровней различных маркеров воспаления проводится в большинстве клинических лабораторий и их стоимость невелика. Тем не менее, ни в одном современном руководстве, в том числе в российских клинических протоколах по оказанию медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией нет рекомендаций по практическому применению лабораторного мониторинга маркеров эндотоксинемии, системного воспаления и активации иммунитета.

Было отмечено в ряде исследований, что динамика количества CD4⁺ Т-лимфоцитов зависит от степени активации иммунной системы, которая связана с репликацией ВИЧ. Обсуждалось предположение, что на иммунную активацию оказывают влияние сопутствующие заболевания, а также проникновение в кровь продуктов метаболизма микроорганизмов из просвета кишечника [21; 111]. АРТ, хотя и приводит к восстановлению количества CD4⁺ Т-клеток, она оказывает ограниченное влияние на восстановление компартмента CD8⁺ Т-клеток. Развивающаяся при ВИЧ-инфекции иммуносупрессия сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляции лимфоцитов [178; 140]. Определение малых клеточных популяций позволяет определить более тонкие механизмы иммунологических нарушений. В частности, под действием гиперактивации иммунной системы Т-лимфоциты экспрессируют маркеры CD38⁺ и HLA-DR⁺ [61]. Цитотоксические Т-лимфоциты являются основными эффекторными клетками специфического клеточного иммунного ответа, и значительный интерес представляет изучение влияния функции CD8⁺Т-лимфоцитов на прогрессирование ВИЧ-инфекции. Активированные CD4⁺ Т-лимфоциты и ВИЧ-специфичные CD8⁺Т-клетки играют важнейшую роль в борьбе с репликацией ВИЧ.

Постоянная активация иммунной системы может привести к неспособности организма правильно регулировать микробиом. Это, в свою очередь, может привести к микробному дисбиозу и росту потенциально патогенных бактерий, что создает воспалительный цикл. Нарушения микробиоценоза кишечника типичны для больных ВИЧ-инфекцией на всех стадиях заболевания независимо от наличия оппортунистических инфекций. Низкое содержание CD4-лимфоцитов ассоциировано с большей выраженностью указанных изменений [258]. Принимая во внимание роль кишечной микрофлоры в патогенезе ВИЧ-инфекции, перспективным является изучение микробиома других биотопов, в частности определение влияния нарушения микробного состава ротоглотки на повышенную активацию иммунитета и системное воспаление при ВИЧ-инфекции. Очевидно, что дисбиотические нарушения различных биотопов будут оказывать негативную

роль на течение заболевания, вызывать дополнительную активацию иммунной системы и поддерживать воспалительный цикл.

Хроническое воспаление при ВИЧ-инфекции сопровождается изменениями врожденного и адаптивного иммунитета [101] и характеризуется увеличением воспалительных биомаркеров, таких как IL-6, TNF- α и С-реактивный белок [176; 36; 220]. В патогенезе ВИЧ-инфекции дисбаланс продукции цитокинов Т-лимфоцитами и моноцитами является центральным звеном, так как он влияет на силу иммунного ответа, направленного на специфические антигены вируса [250].

Системное воспаление и хроническая иммунная активация при ВИЧ-инфекции может ускорить пролиферацию и дифференцировку Т-клеток, в конечном счете снизив восстановительный потенциал иммунной системы [35; 38; 78]. АРТ уменьшает системное воспаление и активацию Т-клеток [89], но уровни соответствующих биомаркеров все равно остаются повышенными по сравнению с незараженной контрольной группой [188; 81; 191]. Проведенные исследования доказывают клиническую и диагностическую значимость отдельных маркеров системного воспаления и активации иммунитета в патогенезе ВИЧ-инфекции, но единый подход для использования полученных данных в клинической практике не разработан.

В связи с вышеизложенным перспективным представляется изучение клинико-патогенетической роли синдрома системного воспалительного ответа и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией для оптимизации клинико-лабораторного мониторинга заболевания, а также разработка терапевтических подходов, направленных на регулирование гиперактивационных механизмов иммунной системы и купирование воспалительных процессов. Актуальность проблемы позволило нам определить цель и задачи настоящего исследования.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для проведения данного исследования является значимость роли микробной транслокации в патогенезе ВИЧ-инфекции, о чем убедительно свидетельствуют литературные данные [185; 264; 255]. Однако методы диагностики эндотоксинемии мало используются в клинической практике.

Системная иммунная активация стала предметом исследований иммунопатогенеза ВИЧ отечественных и зарубежных авторов [265; 70; 134; 37; 254; 255]. Вместе с тем нет единого мнения относительно оптимальной комбинации биомаркеров для измерения иммунной активации. Принимая во внимание роль кишечной микрофлоры в патогенезе ВИЧ-инфекции [44; 193; 146; 39; 41; 58; 255], перспективным является изучение микробиома других биотопов, в частности определение влияния нарушений микробного состава ротоглотки на системный воспалительный ответ и гиперактивацию иммунной системы у больных ВИЧ-инфекцией. Разработка терапевтических подходов, направленных на устранение причин гиперактивации иммунной системы и хронического воспаления у больных ВИЧ-инфекцией, позволят предотвратить развитие этих состояний [50].

Цель работы

Определение прогностической роли биомаркеров системного воспаления и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией в фазе клинической ремиссии для оптимизации терапии на основании выявленных нарушений.

Задачи исследования:

1. определить диагностическую значимость комплексной клинической оценки маркеров эндотоксинемии и системного воспаления при проведении мониторинга течения ВИЧ-инфекции;

2. установить взаимосвязь системного воспалительного ответа и показателей активации клеточного иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией в субклинической стадии, а также в стадии вторичных заболеваний в фазе клинической ремиссии;
3. оценить значимость изменений микробиома ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией;
4. изучить прогностическую значимость определения маркеров системного воспаления и функциональной активности клеточного звена иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией с разными стадиями заболевания в зависимости от степени иммунодефицита и уровня репликации ВИЧ;
5. оценить влияние иммуномодулирующей и противовоспалительной терапии с использованием аминодигидрофталазиндиона натрия (АДФНа) на фоне эффективной АРТ у больных ВИЧ-инфекцией с проявлениями хронического поражения слизистой оболочки ротоглотки.

Научная новизна

В работе впервые:

1. определена патогенетическая значимость и прогностическое значение маркера антиэндооксиновой защиты LPS-связывающего белка (LBP) у больных ВИЧ-инфекцией.
2. осуществлен комплексный анализ маркеров системного воспаления, эндоксинемии и активации иммунитета; выявлены наиболее значимые показатели, определяющие прогноз течения заболевания у больных ВИЧ-инфекцией в субклинической стадии и стадии вторичных заболеваний в фазе клинической ремиссии.
3. проведен анализ качественного и количественного состава микробиоты ротоглотки и особенности его нарушений в динамике инфекционного процесса у больных ВИЧ-инфекцией.

4. предложены новые подходы к терапии хронического поражения слизистой оболочки ротоглотки, сопровождающегося изменениями микробиоты у больных ВИЧ-инфекцией.

Практическая значимость

- разработан способ прогнозирования прогрессирования ВИЧ-инфекции на основе изменения концентрации маркера антиэндотоксиновой защиты (LBP), уровня ключевых провоспалительных цитокинов (ИНФ- γ , ИНФ- α , IL-6) и процентного содержания активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR, показана их прогностическая ценность (патент на изобретение RUS № 2697392 «Способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции у больных, получающих антиретровирусную терапию», приоритет от 12.03.19, дата публикации 14.08.2019).

- на основании изучения патогенетических особенностей ВИЧ-инфекции предложено применение противовоспалительного и иммуномодулирующего препарата для терапии очаговой хронической инфекции ротоглотки и снижения бремени системной воспалительной реакции организма.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование спланировано в соответствии с целью исследования и включает последовательное применение методов научного познания для решения поставленных задач. В работе использовались современные клинические, лабораторные, аналитические и статистические методы. Полученные данные статистически обработаны и изложены в главах собственных исследований. Сформулированы выводы, изложены практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы диссертации.

Основные положения, выносимые на защиту

В подавляющем большинстве случаев у больных ВИЧ-инфекцией отмечаются признаки системного воспаления, сопровождающегося активацией системы антиэндотоксиновой защиты и повышением концентрации провоспалительных цитокинов.

Активность системного воспаления при ВИЧ-инфекции находится в обратной связи от степени иммунодефицита: у пациентов с низкими показателями CD4+ Т-лимфоцитов даже на фоне АРТ наблюдается повышенная продукция антиэндотоксиновых белков, сопровождаемая сильной активацией медиаторов воспаления. Уровень LBP можно рассматривать как косвенный критерий выраженности иммуносупрессии при ВИЧ-инфекции.

С целью прогнозирования быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции на основе оценки вероятности развития у пациента системного воспаления, снижающего иммунологическую эффективность антиретровирусной терапии, рекомендуется определение концентрации липополисахарид-связывающего белка (LBP), уровня ключевых провоспалительных цитокинов: INF- γ , INF- α , IL-6 и процентного содержания активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR.

Оптимизация лечения очагового хронического поражения ротоглотки с нарушениями микробиоты у больных ВИЧ-инфекцией путем дополнения к стандартной схеме АРТ сублингвальной формы АДФНа приводит к нормализации микробной экосистемы слизистой ротоглотки и снижению маркеров системного воспаления, таких как LBP.

Внедрение в практику

Материалы диссертационной работы внедрены:

1. в работу Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом Федерального бюджетного научного учреждения «Ростовский научно-

исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

2. в работу Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Адыгея «Адыгейский республиканский центр профилактики и борьбы со СПИДом»;

3. в учебный процесс на кафедре фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России Российской Федерации.

Получен патент № 2697392 «Способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции у больных, получающих антиретровирусную терапию».

Степень достоверности результатов

Дизайн диссертационного исследования соответствует поставленной цели и решаемым задачам. На основании изучения достаточного объема клинического материала сформулированы научные положения и практические рекомендации. Применение современных методик исследования и актуального статистического анализа с использованием компьютерного оборудования обеспечивают обоснованность и достоверность результатов и выводов исследования.

Апробация работы

Основные результаты работы докладывались и обсуждались на V международной конференции по ВИЧ/СПИДу в Восточной Европе и Центральной Азии (23-25.03.2016, г. Москва); VIII, IX, X и XII Ежегодных Всероссийских конгрессах по инфекционным болезням с международным

участием (28-30.03.2016, 27-29.03.2017, 26-28.02.2018, 7-9.09.2020, г. Москва); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на Юге России» (13-14 октября 2016 г., г. Ростов-на-Дону); на Межрегиональном Форуме специалистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (08-10.06.2016, г. Краснодар); ежегодной конференции «Актуальные вопросы противодействия эпидемии ВИЧ/СПИД на Юге России. Современные подходы к повышению эффективности АРТ» (22.11.2016, г. Пятигорск; 07.09.2017, 13.09.2018 и 12.09.2019, г. Кисловодск); на 18th International Congress on Infectious Diseases (ICID) (01-04.03.2018, Буэнос-Айрес, Аргентина); International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (9-12.11.2018, Вена, Австрия); Всероссийском Конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXI Кашкинские чтения) (6-8.06.2018, г. Санкт-Петербург), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 100-летию ФБУН ННИИЭМ имени академика И.Н. Блохиной (11-12.09.2019, г. Нижний Новгород), VI Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием (30.10-2.11.2019, г. Сочи).

Диссертационная работа апробирована на расширенном заседании Ученого совета ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора (протокол №8 от 27.11.2020) и на заседании апробационной комиссии ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (протокол №37 от 22.12.2020).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 27 научных работ, из них – 5 в журналах, рекомендованных ВАК, 4 – в зарубежных научных изданиях, получен 1 патент на изобретение (№ 2697392).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», 3-х глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 266 источников, из них 69 - отечественных и 197 - зарубежных, и приложений. Работа иллюстрирована 36 таблицами, 1 схемой и 17 рисунками, 6 клиническими случаями.

Личный вклад автора

1) на преаналитическом этапе исследования – организация клинического исследования в поликлиническом отделении ЮОЦПБ со СПИДом, подготовка клинического протокола исследования, заполнение первичной документации участников исследования, клиническое обследование пациентов, контроль забора биоматериала и транспортировки его в лабораторию ЮОЦПБ со СПИДом и микробиологические лаборатории ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора;

2) на аналитическом этапе исследования – создание базы данных участников исследования в строгом соответствии с первичной медицинской документацией пациента, внесение всех результатов исследования; выполнение статистического анализа полученных результатов.

3) на постаналитическом этапе исследования – систематизация полученных результатов, подготовка материалов к публикации.

ГЛАВА 1. СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ХРОНИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Достижения и проблемы терапии ВИЧ-инфекции на современном этапе

ВИЧ-инфекция продолжает оставаться неизлечимым заболеванием, но широкое применение АРТ позволяет значительно уменьшить ее негативные медицинские и социально-экономические последствия: добиться контролируемого течения заболевания, остановить его прогрессирование, существенно повысить продолжительность жизни больных ВИЧ-инфекцией и улучшить ее качество, а также дает возможность рождения здоровых детей. Важным условием для достижения максимального эффекта АРТ является незамедлительное начало лечения, сразу после выявления заболевания, вне зависимости от иммунологических и вирусологических показателей [81; 183; 63; 196].

Несмотря на широкомасштабное внедрение АРТ, увеличение арсенала и доступности используемых антиретровирусных препаратов, весомая часть больных ВИЧ-инфекцией не достигает желаемого эффекта лечения. Неэффективность проводимой терапии и очевидное прогрессирование ВИЧ-инфекции, подтвержденное клиническими, иммунологическими и вирусологическими методами может быть следствием низкой приверженности АРТ [209], непереносимости препаратов или формирования резистентности.

Из лабораторных критериев оценки эффективности лечения общепризнанными в настоящее время считаются определение в крови уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов и количественное определение концентрации РНК ВИЧ в плазме крови [229; 235].

Наиболее четко определены критерии оценки вирусологической эффективности АРТ, в меньшей степени – клинической эффективности, а в

отношении иммунологической эффективности до сих пор единое мнение отсутствует.

О вирусологической неэффективности АРТ свидетельствует двукратное выявление определяемого уровня вирусной репликации ВИЧ через 6 месяцев терапии у больных ВИЧ-инфекцией с ранее достигнутой вирусологической супрессией [229].

У большинства пациентов, в настоящее время антиретровирусное лечение может быстро снизить репликацию ВИЧ. Тем не менее, даже на фоне длительной эффективной АРТ, у части больных выявляют остаточную виремию ВИЧ в плазме ниже предела клинического обнаружения [112; 141; 150].

Хотя остаточная репликация ВИЧ может быть связана с увеличением хронической активации иммунной системы, ее происхождение и потенциальная роль в сохранении вирусного резервуара во время эффективной АРТ не до конца понятна [86; 163; 113]. Как показали исследования, сохранение ВИЧ-1 является следствием совокупности скрытых провирусов, которые образуются на ранней стадии первичной инфекции и остаются в состоянии покоя в течение многих лет, в основном в долгоживущих CD4⁺ Т-клетках памяти [6; 9; 194].

В настоящее время нет единого подхода к определению критериев иммунологической неэффективности АРТ. При снижении уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов до исходного уровня и ниже или стойком определении количества CD4⁺ Т-лимфоцитов на уровне менее 100 клеток/мкл можно считать, что иммунологическая эффективность терапии отсутствует [263; 229; 235].

Опубликованы данные, в которых обсуждалось, что динамика количества CD4⁺ Т-лимфоцитов зависит от степени активации иммунной системы, которая, в свою очередь, связана с репликацией ВИЧ. Авторы предполагают, что на иммунную активацию оказывают влияние сопутствующие заболевания, а также проникновение в кровь продуктов метаболизма микроорганизмов из просвета кишечника [21; 111].

При диагностировании новой оппортунистической инфекции или обострении латентной вторичной инфекции на фоне приема ранее эффективной

АРТ более 6 месяцев можно считать терапию клинически неэффективной [229; 235]. Установлено, что при увеличении количества вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией повышается риск иммунологической неудачи лечения [232].

1.2. Иммунопатогенетические особенности ВИЧ-инфекции

Патологические изменения клеточного иммунитета при ВИЧ-инфекции приводят к функциональным нарушениям Т-клеток: активации, истощению, старению, нарушению клеточной памяти. При ВИЧ-инфекции значительно выражены изменения как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоцитов. Тропизм ВИЧ к CD4+ клеткам обуславливает первоначальную гибель эффекторных CD4+ клеток памяти.

Иммунный ответ CD4+ Т-лимфоцитов обуславливает скорость прогрессирования ВИЧ-инфекции. По данным исследований если иммунный ответ позволяет контролировать репликацию ВИЧ, то пациенты продолжают оставаться клинически здоровыми и потеря иммунных клеток у них минимальная. Вместе с тем, при отсутствии способности противостоять активной репликации ВИЧ происходит очень быстрое снижение количества CD4+ Т-лимфоцитов и быстрое прогрессирование ВИЧ-инфекции [237].

Количество CD4+ Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией – важный маркер дисфункции иммунной системы, а также при дальнейшем проведении мониторинга эффективности проводимой АРТ [229; 235]. Успешное антиретровирусное лечение приводит к уменьшению вирусной репликации, увеличению количества CD4+ Т-лимфоцитов, а также снижению риска заболеваемости и смертности. На фоне приема АРТ увеличение клеток CD4+ Т-лимфоцитов проходит в два этапа: сначала наблюдается их интенсивный рост, в основном из-за снижения апоптоза и перераспределения CD4+ Т-клеток памяти из лимфоидной ткани, с последующим более медленным ростом, в том числе в результате производства наивных CD4+клеток [11]. Как долго этот рост будет

продолжаться - спорно, но когортные исследования предполагают восстановление клеток CD4 + до уровня 500 клеток/мкл, по крайней мере, через 5 лет АРТ [128]. Тем не менее, около 20% всех ВИЧ-инфицированных пациентов не достигают оптимального восстановления иммунной системы, несмотря на подавление репликации вируса [88; 10]. У этой группы пациентов сильно изменены иммунологические функции, в том числе снижена продукция клеток в лимфоидной ткани, повышена активность иммунных регуляторов, таких как регуляторных Т-клеток и клеток Th17, а также повышена активация иммунной системы. Важно отметить, что такие пациенты имеют повышенный риск заболеваемости и смертности по сравнению с ВИЧ-инфицированными пациентами с оптимальным восстановлением иммунной системы.

Причины отсутствия положительной динамики количества CD4+ Т-лимфоцитов при формировании устойчивого вирусологического ответа на АРТ до сих пор не ясны [231]. На иммунологическую эффективность АРТ оказывают влияние множество факторов, в том числе исходный уровень CD4+ Т-лимфоцитов, длительность заболевания до начала терапии, возраст пациента, наличие оппортунистических заболеваний и сопутствующей патологии, схема АРТ и пр. Важно, что в долгосрочном восстановлении иммунной системы принимают активное участие в том числе и имеющиеся на начальном этапе наивные Т-клетки [135]. Причем способность к регенерации иммунной системы чрезвычайно индивидуальна, и до сих пор отсутствуют надежные методики, позволяющие прогнозировать эту способность. Нарушение регенерации CD4+ Т-лимфоцитов обусловлены множеством воспалительных факторов, которые в совокупности приводят к значительным патологическим изменениям популяции Т-лимфоцитов. Отсутствие восстановления CD4+ Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией с подавленной репликацией ВИЧ может быть вызвано активацией иммунной системы [80].

ВИЧ инфицирует предпочтительно активированные CD4+ Т-клетки, хотя покоящиеся CD4+ Т-клетки также могут быть инфицированы, но в меньшей степени [165; 47]. В большинстве случаев, активная инфекция приводит к

быстрой гибели инфицированных клеток, но небольшая часть этих клеток может перейти в состояние покоя и формировать постоянные вирусные резервуары [189].

Многие исследователи подтверждают, что наряду с количеством CD4⁺ клеток, весьма информативным предиктором прогрессирования ВИЧ-инфекции является соотношение CD4⁺ и CD8⁺ (иммунорегуляторный индекс - ИРИ) [7; 126; 67; 34; 156]. Низкий ИРИ связан с более высоким риском смертности, в том числе от злокачественных новообразований, среди ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих АРТ, несмотря на долгосрочное подавление вируса [164; 174; 129; 72; 25]. В исследовании Y. Milanés-Guisado и соавторами (2018 г.) на когорте пациентов из 1164 больных ВИЧ-инфекцией, начавших АРТ, показано, что процентное содержание CD4⁺ Т-лимфоцитов и ИРИ являются более стабильными маркерами, чем абсолютное число CD4⁺, и их следует принимать во внимание для контроля восстановления иммунитета после старта АРТ [126].

Прогностическое значение изменений субпопуляций и фенотипа лимфоцитов при ВИЧ-инфекции.

Снижение количества CD4⁺ Т-клеток играет центральную роль в патогенезе ВИЧ-инфекции в тесной связи с прогрессирующим нарушением клеточного иммунитета и повышением восприимчивости к оппортунистическим инфекциям (ОИ) [251; 138].

При длительно текущей инфекции одним из основных предикторов развития заболевания является уровень иммунной гиперактивации, которая сопровождается высоким уровнем апоптоза лимфоцитов [3; 201], изменением регуляции клеточного цикла, ускоренным процессом пролиферации и сокращением продолжительности жизни Т-лимфоцитов, повышением концентрации провоспалительных цитокинов и хемокинов. Важна роль взаимодействия различных субтипов CD4⁺ Т-лимфоцитов в борьбе с инфекцией.

CD4⁺ Т-клетки Th17 являются важными медиаторами защиты против внеклеточных патогенов, таких как бактерии и грибы [43]. Также эти клетки связаны с сохранением целостности эпителиального барьера в слизистой

оболочке кишечника. Th17 клетки способствуют активации и усилению дифференцировки нейтрофилов (гранулопоэза) из клеток-предшественников в костном мозге и индуцируют выработку антибактериальных дефензинов цитокинов IL-17. Они также способствуют восстановлению тканей путем индукции пролиферации и выживаемости эпителиальных клеток [76].

CD4⁺ Т-клетки Th17 безвозвратно истощаются у ВИЧ-инфицированных пациентов, что приводит к изменению доли CD4⁺клеток памяти и нарушению дифференцировки Т-клеток [18]. При прогрессировании ВИЧ-инфекции, CD4⁺Th1 клетки становятся доминирующими в слизистой оболочке кишечника [26]. Помимо повышения восприимчивости к бактериальным и грибковым инфекциям, потеря Th17 может привести к нарушению целостности слизистой оболочки кишечника, увеличению проницаемости для микробных продуктов и усилению хронической активации иммунной системы [21; 20; 94].

Развивающаяся иммуносупрессия при ВИЧ-инфекции сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляции лимфоцитов [178; 140]. Активация наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов экспрессией поверхностных маркеров CD45⁺CD4⁺RA⁻ и Т-клеток памяти (CD45⁺CD4⁺RA⁺) способствует активному формированию на их мембране большого количества CCR5-рецепторов, что расширяет возможности для фиксации ВИЧ на поверхности этих клеток. Известно, что активированные лимфоциты являются основной мишенью ВИЧ и резервом его активной репликации [152]. В результате усиленного выброса в кровотоки эффекторных «молодых» Т-лимфоцитов развивается динамическое уменьшение пула наивных Т-лимфоцитов и клеток памяти, обеспечивая тем самым снижение эффективности адаптивного иммунитета и приводя к так называемому преждевременному старению иммунной системы.

Важно отметить, что выраженность иммунной активации рассматривается как дополнительный прогностический маркер прогрессирования ВИЧ-инфекции [35; 107; 61]. Под действием иммунной гиперактивации Т-лимфоциты на своей поверхности экспрессируют иммунные маркеры CD38⁺ и HLA-DR⁺ [107]. Влияние функции CD8⁺ Т-лимфоцитов на прогрессирование ВИЧ-инфекции

представляет значительный интерес, так как цитотоксические лимфоциты являются основными эффекторными клетками специфического клеточного иммунного ответа. В борьбе с репликацией ВИЧ ведущую роль играют активированные CD4+ Т-лимфоциты, а также ВИЧ-специфичные CD8+ Т-клетки.

Экспансия CD8+HLA-DR+Т-клеток также может наблюдаться в условиях, не связанных с ВИЧ, включая некоторые аутоиммунные заболевания и старение. Хотя считается, что эти клетки являются маркерами «иммунного истощения», их точная роль в иммунологической защите остается неясной.

Растворимый компонент рецептора белок CD14 (sCD14) является важнейшим маркером активации моноцитов. В исследовании Хасановой Г.Р. и соавторов установлена статистически значимая связь уровня sCD14 с концентрацией TNF- α , количеством лейкоцитов в крови и СОЭ [253]. Установленное диагностическое значение определения sCD14 для прогнозирования прогрессирования ВИЧ-инфекции подтверждает роль эндотоксина грамотрицательных бактерий и микробной транслокации в патогенезе заболевания.

Таким образом, несмотря на значительные успехи АРТ, благодаря которой удается осуществлять контроль над репликацией вируса, у больных ВИЧ-инфекцией не происходит полного восстановления иммунитета [188]. На фоне приема АРТ отмечается положительная динамика количества CD4 + Т-клеток, тем не менее, количество CD8 + Т-клеток остается высоким, за счет чего наблюдается реверсия ИРИ [67; 34; 156]. Повышение эффективности АРТ может потребовать комбинации стратегий, таких как раннее начало терапии, строгий клинический и лабораторный мониторинг с использованием надежных биомаркеров и, возможно, применение иммуномодулирующей и противовоспалительной терапии.

Характеристика изменений микробиома кишечника при ВИЧ-инфекции.

Кишечный микробиом в значительной степени регулируется врожденными и адаптивными звеньями иммунной системы, и микробиота способствует его поддержанию [184]. Постоянная активация иммунной системы может привести к

неспособности организма правильно регулировать микробиом. Это, в свою очередь, может привести к микробному дисбиозу и росту потенциально патогенных бактерий, что создает воспалительный цикл. Согласно современным определениям микрофлора кишечника является метаболическим органом [50]. Очевидно, что это огромное сообщество, продуцирующее метаболиты, оказывает разностороннее влияние на биохимические и метаболические функции организма человека [15].

На начальных стадиях ВИЧ-инфекции вирус активно реплицируется в лимфоидной ткани кишечника, потенцируя масштабное истощение эффекторных CD4⁺ Т-клеток слизистой оболочки, преимущественно клеток Th17 и Th22, которые обеспечивают поддержание целостности эпителиального барьера кишечника. Сохраняющаяся репликация ВИЧ приводит к массовой гибели кишечных CD4-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, способствует нарушению проницаемости стенки кишки, активному снижению экспрессии белков, поддерживающих межэпителиальные связи, на фоне чего развивается хроническое воспаление стенки кишки, ассоциированное с дисбиотическими нарушениями [39; 93].

Получены данные о том, что степень кишечной микробной транслокации изменяется в зависимости от состава кишечного микробиома, в частности, количества *Lactobacillales*, которые уменьшают повреждения слизистой [74]. Дальнейшие исследования на ВИЧ-инфицированных пациентах продемонстрировали увеличение *Proteobacteria*, связанное с уменьшением *Firmicutes* (*Lactobacilli*, *Clostridia*, *Staphylococci*, *Streptococci*) в образцах фекалий и слизистых оболочек у пациентов, получавших и не получавших АРТ, что приводит к потере иммунорегуляторной и пробиотической активности [44; 193; 146; 39; 41; 58].

Нарушения микробиоценоза кишечника типичны для больных ВИЧ-инфекцией на всех стадиях заболевания независимо от наличия оппортунистических инфекций. Низкое содержание CD4-лимфоцитов ассоциировано с большей выраженностью указанных изменений [258]. Согласно

опубликованным данным, у подавляющего большинства обследованных больных ВИЧ-инфекцией зарегистрировано снижение количества представителей облигатной кишечной микрофлоры, в первую очередь бифидобактерий. Более чем у половины пациентов отмечался избыточный рост УПМ с преобладанием *S. aureus* и грибов рода *Candida*. Предполагается, что неблагоприятным фактором течения ВИЧ-инфекции является избытие патобионтов, то есть комменсальных бактерий с патогенетическим потенциалом, принадлежащих к *Proteobacteria* и *Bacteroidetes phylum* [29].

Lozupone С.А. и соавторами [110] показали, что воздействие на периферические моноклеарные клетки, полученные от ВИЧ-инфицированных пациентов, бактериальными продуктами видов *Prevotella*, *Bacteroides* и *Erysipelotrichaceae* вызывает более активную выработку фактора некроза опухоли и IL-10, чем стимуляция клеток от неинфицированных ВИЧ лиц. Состав кишечного микробиома связан с иммунологическим восстановлением после начала АРТ и оказывает влияние на иммунную активацию и маркеры воспаления в плазме. Исследования показали, что избытие *Bacteroides spp.* в образцах кала и биоптатах кишечника связано с медленным ростом CD4⁺ клеток; напротив, высокий процент лактобацилл связан с быстрым восстановлением CD4⁺ Т-лимфоцитов [146; 41].

Vujkovic-Cvijin et al. [193] выявили связи между растворимыми маркерами IL-6, интерфероном (IFN) и ростом *Proteobacteria* у ВИЧ-инфицированных пациентов, а также между ростом энтеробактерий и повышенными уровнями IFN- γ , IL-1 β и sCD14 [41].

Данные исследований свидетельствуют о том, что нарушение иммунитета кишечника при ВИЧ-инфекции сопровождается дисбактериозом, что негативно сказывается на иммунном гомеостазе. ВИЧ-инфекция вызывает композиционный сдвиг в кишечной микрофлоре, с обогащением популяций бактерий, гены и функциональные возможности которых являются либо провоспалительными или потенциально патогенными, и их обилие коррелирует с иммунным статусом [121; 193; 131]. В частности, степень дисбактериоза коррелирует с повышением

катаболизма триптофана по кинурениновому пути и с плазменной концентрацией воспалительного цитокина интерлейкина-6 (IL-6), которые являются маркерами прогрессирования ВИЧ-инфекции [28].

Принимая во внимание роль кишечной микрофлоры в патогенезе ВИЧ-инфекции, перспективным является изучение микробиома других биотопов, в частности, определение влияния измененного микробиоценоза ротоглотки на гиперактивацию иммунитета и системный воспалительный ответ при ВИЧ-инфекции. Очевидно, что дисбиотические нарушения различных биотопов будут оказывать негативную роль на течение заболевания, вызывать дополнительную активацию иммунологической защиты организма и поддерживать воспалительный цикл.

Клиническое значение эндотоксинемии при ВИЧ-инфекции.

Патологические изменения, приводящие к повышению проницаемости кишечного эпителиального барьера при ВИЧ-инфекции, являются пусковым механизмом для начала иммунной активации с последующим прогрессированием заболевания [21; 39; 93; 257; 255]. Снижение пула клеток CD4⁺ в кишечнике и нарушение их функции приводит к повышению проницаемости кишечника для микробных продуктов. В крови может определяться повышенный уровень LPS [17; 104; 21]. Микробная транслокация (МТ) определяется как движение микробных продуктов из слизистой оболочки кишечника в кровообращение. Несмотря на признание в других областях, МТ в контексте ВИЧ впервые была охарактеризована только в 2006 году [21], но с тех пор этот факт был доказан на многих когортах. Микробная транслокация не контролируется АРТ, возможно с этим, по мнению исследователей, может быть связано неэффективное восстановление CD4⁺ Т-лимфоцитов при проведении АРТ [117].

Ключевая роль в патогенезе синдрома системного воспалительного ответа отводится эндотоксину или липополисахариду (LPS), источником которого служит сапрофитная грамотрицательная флора кишечника. LPS, являющийся поверхностной структурой внешней мембраны грамотрицательных бактерий, оказывает широкий спектр биологического воздействия на организм человека.

В исследованиях показано, что мощное биологически активное вещество эндотоксин при сопряжении с комплексом CD14-TLR4-MD2, который находится на поверхности макрофагов и других клеток миелоидного ряда, потенцирует секрецию растворимого белка CD14 (sCD14), а также таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли (TNF α), IL-6, IL-1 β [157].

Varzquez-Castellanos с соавторами обнаружили сильную корреляцию между изменением микробиоты и концентрацией LPS, предполагая, что обилие грамотрицательных бактерий при дисбиотических нарушениях у больных ВИЧ-инфекцией обуславливает транслокацию бактериальных антигенов и, как следствие, приводит к хронической активации иммунной системы. Эта гипотеза подтверждается также значимой связью между биосинтезом LPS, бактерицидным белком BPI и активацией Т-клеток (% CD4+HLA-DR+CD38+) [51]. Dillon S.M. и соавторы доказали взаимосвязь между микробным дисбактериозом в кишечнике, системным воспалением и активацией иммунитета при ВИЧ-инфекции [39].

Слизистая оболочка кишечника содержит большое количество CD4+ Т-клеток, экспрессирующих CCR5. Совокупность факторов, таких как масштабная гибель большого количества кишечных CD4-лимфоцитов, нарушение функций макрофагов, изменение микробиоты кишечника, характеризующейся снижением колонизационной резистентности, повреждение межэпителиальных связей в кишечнике при ВИЧ-инфекции обуславливают постоянную микробную транслокацию через поврежденный кишечный барьер [168; 57; 30; 45].

В исследовании, представленном группой российских ученых, было подтверждено, что эндотоксинемия обусловлена микробной транслокацией и сопряжена с развитием системного воспалительного ответа [255]. Исследования на животных, инфицированных обезьяним вирусом иммунодефицита (SIV), доказали, что структурный распад плотного эпителиального барьера кишечника приводит к микробной транслокации из просвета желудочно-кишечного тракта в кровь [133; 46; 197; 40]. При прогрессировании ВИЧ-инфекции функция кишечных макрофагов постепенно ухудшается, в результате чего, ослабляется фагоцитоз и усиливается транслокация бактериальных компонентов [30; 266].

Широкое развитие молекулярной генетики позволило методом метагеномного секвенирования выявить у больных ВИЧ-инфекцией измененный функциональный профиль с увеличением генов, вовлеченных в различные патогенные процессы, биосинтез липополисахарида бактериальной транслокации и другие воспалительные процессы [190].

Данные J.M. Brenchley с соавторами доказывают, что начало АРТ приводило к снижению концентрации LPS в крови больных ВИЧ-инфекцией, но все же она оставалась повышенной по сравнению с неинфицированными лицами контрольной группы [21]. После того, как микробные продукты попадают в кровоток, они могут быть распознаны иммунной системой, что приводит к ее активации. Авторы показали взаимосвязь концентраций в плазме LPS и бактериальной 16S рибосомной ДНК с показателями системного воспаления, активации моноцитов и активации Т-клеток [21; 85; 24].

В двух исследованиях доказано, что при прямом введении липополисахарида естественному хозяину SIV-инфекции с отсутствием признаков микробной транслокации и хронической активации иммунной системы увеличивается активация иммунной системы и вирусная репликация [144; 143]. При парентеральном введении липополисахарида наблюдаются следующие эффекты: активация лейкоцитов, клеток гладкой мускулатуры, макрофагов, эндотелиальных клеток, тромбоцитов, факторов свертывания крови, запуск синтеза белков острой фазы, миелопоеза, поликлональная активация В-клеток и системы комплемента; индукция апоптоза; синтез провоспалительных цитокинов, стимуляция продукции INF, антагониста глюкокортикоидов; митогенный эффект; подавление тканевого дыхания; развитие гиперлипидемии [204]. Эти эффекты были связаны с активацией NF- κ B и сформированы при взаимодействии липополисахарида с рецептором TLR4, распознающим эндотоксин вместе с CD14, LPS – связывающим белком, MD2.

В ряде исследований была изучена роль микробной транслокации в прогнозировании прогрессирования ВИЧ-инфекции [185; 186]. В группе ВИЧ-инфицированных пациентов из Уганды, наблюдающихся в течение всего периода

инфекции (до гибели больного), сначала значимая взаимосвязь между ухудшением течения ВИЧ-инфекции и такими показателями, как концентрация LPS, sCD14 и уровень антител к эндотоксину при предварительном анализе не выявлялись [154]. Несмотря на прогрессирование заболевания уровни цитокинов снижались или оставались без значимых изменений. Вместе с тем, при последующих исследованиях авторы этой же группы исследователей показали, что уровни С-реактивного белка в плазме крови увеличилось и коррелировало с уровнями sCD14 [153].

Выраженность действия эндотоксина напрямую зависит от его концентрации. При небольших дозах эндотоксина отмечалась умеренная активация, однако при увеличении его концентрации регистрировался переход в гиперактивацию с усилением синтеза различных медиаторов, выраженной активацией системы комплемента, а также плазменных факторов свертывания крови.

Выраженность микробной транслокации может быть оценена либо непосредственно при лабораторном определении концентрации бактериальных продуктов в плазме, таких как LPS и фрагментов бактериального генетического материала, или опосредовано по уровню sCD14, LPS-связывающего белка, антифлагеллиновых антител и эндогенных антител к ядру эндотоксина (EndoCAb). В последние годы была обоснована возможность определения маркера повреждения энтероцитов - плазменного уровня белка, связывающего кишечные жирные кислоты (I-FABP) [147; 166].

Простая стандартизация лабораторного определения sCD14 позволяет широко его использовать в качестве показателя микробной транслокации. Вместе с тем, sCD14 не относится к прямым специфическим маркерам микробной транслокации, несмотря на выявленную корреляционную связь уровня sCD14 с концентрацией LPS.

LAL-тест позволяет количественно определять концентрацию эндотоксина (LPS). При проведении LAL-теста возможны технические трудности. LAL-тест основан на способности LPS вызывать коагуляцию некоторых белков,

содержащихся в лизате амебоцитов. Он широко применяется для обнаружения LPS в фармацевтической практике. Поступая в кровоток, LPS может взаимодействовать со многими клетками крови и компонентами плазмы крови, включая лейкоциты, тромбоциты, соли желчных кислот, различными протеины и липопротеины. Эти взаимодействия могут давать прямо противоположные результаты. Связывание LPS с лейкоцитами и тромбоцитами, с антителами и липопротеинами высокой удельной плотности, с белком LBP, связывающим LPS, или с бактерицидным белком BPI, увеличивающим проницаемость бактериальной клетки, может приводить к уменьшению показателей реакции в LAL-тесте. Такой же эффект дает взаимодействие LBP с гепарином. Наоборот, взаимодействие с солями жирных кислот может способствовать агрегации частиц LPS и, в конечном итоге, увеличению показателей LAL-теста. На показатели LAL-теста оказывает серьезное влияние контаминация лабораторной посуды и реактивов экзогенными продуктами бактерий и грибов (LPS и глюканами), которые приведут к завышению показателей LAL-теста. Некоторые антибактериальные препараты, например, аминогликозиды и пенициллин также интерферируют с LAL-тестом. При интерпретации результатов LAL-теста следует иметь в виду возможную индивидуальную вариабельность в количественном содержании ингибирующих и активирующих факторов у различных пациентов и в различных лабораторных условиях. Коэффициент вариабельности результатов теста достаточно высок (около 50%). Перечисленные факторы ограничивают применение с LAL-теста в клинической практике [203].

LPS-связывающий белок играет важную роль в формировании ответа на эндотоксинемию. LBP образует прочные связи с липополисахаридом, катализирует LPS-мономеризацию и перемещение его на CD14-рецептор моноклеарных фагоцитов, что способствует мощнейшему увеличению чувствительности фагоцитов к этому фактору патогенности (в 100-1000 раз). Необходимо отметить, что LBP потенцирует силу ответа CD14-негативных клеток путем ускорения связи LPS с sCD14. В свою очередь, образованный при этом комплекс, оказывает стимулирующее влияние на клетки. Также, LBP потенцирует

взаимодействие LPS и липопротеинов, обеспечивает эффективную нейтрализацию их биологической активности. Концентрация LBP в сыворотке крови значительно повышается при травмах, сепсисе, системном воспалительном синдроме и инфекционных заболеваниях. В исследованиях представлены данные о диагностической ценности лабораторного мониторинга уровня LBP как биомаркера и индикатора системного ответа на эндотоксинемию при различных инфекционных процессах [219; 244; 96]. В то же время методы диагностики, лечения и профилактики эндотоксинемии мало используются в медицинской практике, что связано с рядом причин, в том числе с недостаточным распространением знаний о роли эндотоксина в физиологии и патологии человека.

Патофизиологические и диагностические аспекты синдрома системного воспалительного ответа при ВИЧ-инфекции.

Темпы прогрессирования ВИЧ-инфекции различны у отдельных больных. На прогноз течения заболевания влияют различные факторы, которые условно можно разделить на 3 большие группы: иммунологические, генетические, и вирусные [252].

Высокая репликация ВИЧ ассоциирована с более быстрыми темпами прогрессирования ВИЧ-инфекции. Вместе с тем, выраженность активации иммунитета является хорошим прогностическим маркером прогрессирования заболевания, вне зависимости от показателей репликации ВИЧ [125; 151; 106]. Показано, что при ВИЧ-инфекции развивается усиленная продукция провоспалительных цитокинов (INF- α , IL-8, IL-6, IL-1 α , IL-1 β , TGF- β) и маркеров воспаления – sCD14, цистатина, С и D-димера, СРБ [36; 220; 119]. Причем уровень этих индикаторов повышается как в крови, так и в кишечнике [108].

Важным фактором, объединяющим систему врожденного и приобретенного иммунного ответа, являются пДК, активно синтезирующие INF I типа. Lehmann С. с соавторами показали, что плазмцитойдные ДК (пДК) в кишечнике ВИЧ-инфицированных больных увеличивают продукцию INF- α и усиливают иммунную активацию в кишечнике [101]. ВИЧ также является одной из причин

активации иммунитета. РНК ВИЧ может напрямую влиять на TLR 7 и 8 типа ДК, стимулируя выработку INF- α [123; 49; 13]. Кроме того, РНК ВИЧ способствует активации NK-клеток [4]. С течением времени пДК приобретают устойчивость к стимуляции TLR и продукция INF- α останавливается. При ВИЧ-инфекции вирус оказывает стимулирующее влияние на не полностью созревшие пДК, обеспечивая тем самым постоянный синтез INF- α [137].

Следствием иммунной активации становится нарастающая потеря лимфоцитов CD4⁺ и нарушение ВИЧ-специфического иммунного ответа. Стойкая иммунная активация способствует увеличению риска развития у больных ВИЧ-инфекцией заболеваний сердечно-сосудистой системы, остеопороза, нарушений функции печени и почек, эндокринных расстройств, нейрокогнитивных нарушений и метаболического синдрома [265; 75; 106]. В исследовании Miedema F. (2013) показана прогностическая значимость медиаторов иммунной активации [125]. Эти данные имеют большое значение для разработки новых терапевтических стратегий, основанных на иммуномодулирующей терапии [107].

Стойкая иммунная активация рассматривается многими авторами как один из основных факторов патогенеза ВИЧ-инфекции. В исследованиях показано, что маркеры воспаления являются хорошими предикторами клинического исхода ВИЧ-инфекции [21; 79]. Усиленная активация иммунной системы и системное воспаление формируют у больных ВИЧ-инфекцией повышенный риск не связанных с ВИЧ сопутствующих заболеваний [62; 114; 230]. Маркеры активации иммунной системы и системного воспаления уменьшаются при подавлении репликации ВИЧ на фоне приема АРТ, но все же их уровень остается на более высоком уровне по сравнению со здоровыми людьми [70; 134; 37].

Потенциальными активатами иммунной системы также являются оппортунистические патогены и компоненты кишечной микрофлоры, главным образом липополисахарид. Высокая концентрация LPS и маркеров активации иммунной системы в крови связаны с более быстрыми темпами прогрессирования ВИЧ-инфекции [254].

Хроническое воспаление при ВИЧ-инфекции сопровождается изменениями врожденного и адаптивного иммунитета [36] и характеризуется повышением воспалительных биомаркеров, таких как IL-6, TNF- α и С-реактивный белок [176]. Хронические вирусные инфекции, такие как ВИЧ и ЦМВ рассматриваются, как основные факторы индукции иммунного старения [132; 42].

Стойкие иммунные дисфункции в результате истощения CD4⁺ Т-лимфоцитов и неполного иммунного восстановления на фоне АРТ, могут стать причиной ухудшения течения других вирусных инфекций (например, гепатита С) или реактивации вирусов (например, ЦМВ), обеспечивая дополнительную антигенную стимуляцию иммунной системы. Поэтому системное воспаление при ВИЧ-инфекции и хроническая иммунная активация может ускорить пролиферацию и дифференцировку Т-клеток, в конечном счете, снизив восстановительный потенциал иммунной системы [107; 37; 77]. Так, даже на фоне АРТ, у больных ВИЧ-инфекцией определяется повышенное количество стареющих CD8⁺ Т-клеток [42; 19].

Стимуляция Т-клеток при ВИЧ-инфекции происходит через несколько различных механизмов, один из которых включает в себя активацию врожденного иммунитета. Исследования показали, что sCD163 и воспалительные (CD14⁺, CD16⁺) моноциты коррелируют с более высокими уровнями активации CD8⁺ Т-клеток [22].

АРТ уменьшает активацию Т-клеток [89], но уровни остаются повышенными по сравнению с незараженной контрольной группой [188; 81]. Такая же тенденция наблюдается при исследовании других маркеров воспаления и активации моноцитов, в том числе IL-6, С-реактивного белка (HS-CRP), D-димера, sCD163 и sCD14. Эти показатели аналогично снижаются на фоне приема АРТ [89; 191], но не достигают пороговых значений, полученных у здоровых лиц контрольной группы [22; 122; 134; 159; 68].

В группе из 232 больных ВИЧ-инфекцией изучалась роль гиперактивации иммунной системы в прогрессировании иммунодефицита. Авторами было обнаружено статистически значимое увеличение уровня эндотоксина, sCD14, IL-

1 β , TNF- α , С-реактивного белка. Обнаружена прямая корреляционная связь с sCD14 и большинством показателей системного воспалительного ответа. Важно отметить, что повышение уровня sCD14 было ассоциировано с нарастанием клинических и лабораторных признаков иммуносупрессии [259; 256].

Основным фактором, влияющим на течение заболевания, является время начала АРТ. В некоторых исследованиях показано, что ранее начало АРТ обуславливает высокую степень улучшения маркеров активации иммунной системы, такого как sCD163 активированных Т-клеток [84], IL-6, и HS-CRP (High-sensitivity C-reactive Protein - С-реактивный белок, ультрачувствительный) [55]. Таким образом, ранее начало АРТ при более высоких показателях уровня CD4+Т-клеток может дополнительно снизить иммунную активацию.

Проведенные исследования доказывают клиническую и диагностическую значимость отдельных маркеров системного воспаления и активации иммунитета в патогенезе ВИЧ-инфекции [220], но единый подход для использования полученных данных в клинической практике не разработан.

Роль провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в патогенезе инфекционных заболеваний.

Изучение цитокинов у пациентов с ВИЧ-инфекцией в клинической практике позволяет прогнозировать течение заболевания и оценивать вероятность быстрого прогрессирования [238; 245].

При ВИЧ-инфекции иммунная система становится дисфункциональной во многих отношениях [250]. Существует как иммунодефицит из-за потери CD4+ Т-хелперных клеток, так и гиперактивность в результате активации Т- и В-клеток. Аналогичным образом наблюдается как снижение, так и увеличение продукции и активности цитокинов. Изменения цитокинов при ВИЧ-инфекции оценивали различными методами, от определения экспрессии генов цитокинов на уровне мРНК до секреции белков цитокинов *in vivo* и *in vitro*. Изменения уровня цитокинов у ВИЧ-инфицированных людей могут влиять на функцию иммунной системы и оказывать непосредственное влияние на течение ВИЧ-инфекции путем усиления или подавления репликации ВИЧ. Особенно нарушение баланса между

провоспалительными цитокинами IL-1, IL-6 и TNF- α , усиливающими экспрессию ВИЧ, и IL-10, действующего как противовоспалительный цитокин и В-клеточный стимулирующий фактор, может играть важную роль в прогрессировании ВИЧ-инфекции.

Потенциальные функциональные эффекты цитокинов на иммунную систему и репликацию ВИЧ являются сложными. Многие цитокины имеют противоположные эффекты, одновременно содействуя подавлению репликации вируса и стимулируя репликацию вируса путем активации иммунной системы (например, IL-15 или TNF- α). Лишь очень немногие цитокины, как полагают, имеют общий положительный эффект для больных ВИЧ-инфекцией [87]. Сообщалось, что ряд цитокинов модулирует репликацию ВИЧ *in vitro*, причем их действие является ингибирующим (IFN α , IL-10, IL-13), стимулирующим (TNF- α , IL-1, IL-6) или бифункциональным (IL-4, IFN γ) [100].

Известно, что величина пролиферации Т-лимфоцитов и активность продукции цитокинов коррелируют с клиническим статусом. Течение ВИЧ-инфекции, как и при других заболеваниях, зависит от цитокинов, синтезируемых Т-лимфоцитами [238].

В патогенезе ВИЧ-инфекции дисбаланс в выработке цитокинов Т-лимфоцитами и моноцитами, занимает центральное место, поскольку оказывает влияние на силу иммунного ответа, направленного на специфические антигены вируса [250].

Для мониторинга и диагностики воспалительных заболеваний используется определение концентрации в крови интерлейкина-1 (IL-1). Он относится к провоспалительным цитокинам, синтезируется активированными макрофагами и нейтрофилами, гладкомышечными клетками, астроцитами, фибробластами, кератиноцитами, NK-, Т- и В-клетками [247]. Он опосредует различные биологические эффекты, в том числе потенцирует выработку IL-2, а также экспрессию рецепторов IL-2 CD4+Т-лимфоцитами, принимает участие в активации и дифференцировке В-клеток, NK-клеток, фибробластов и тимоцитов, оказывает антипролиферативное воздействие на опухолевые клетки, стимулирует

цитотоксическое воздействие макрофагов на опухоль и способствует регрессии опухоли.

Главную задачу по обеспечению хемотаксиса в очаг воспаления различных типов клеток (нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток) выполняет хемокин IL-8 [225]. Он синтезируется клетками эпидермиса, макрофагами, эпителиальными клетками, лимфоцитами и фибробластами. Продукция IL-8 обусловлена воздействием на клетки митогенов или эндогенных регуляторов: IL-1, 3, ГМ-КСФ, TNF- α и др. IL-8 хемоаттрактант для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов. Также IL-8, изменяя экспрессию интегринов и других соединений с адгезивными свойствами, усиливает адгезивные свойства нейтрофилов.

Интерферон II типа гамма-интерферон (ИФН γ , IFN γ) обладает противовирусной и опухолецидной активностью, способствует активации моноцитов и макрофагов, NK-клеток, пролиферации и дифференцировке цитотоксических Т-лимфоцитов. Он стимулирует созревание костномозговых клеток, снижает опухолевый рост, препятствует размножению вирусов в клетках, костномозговых клеток, потенцирует противовирусную активность INF α , опухолецидную активность TNF- α [48].

На ранних этапах инфекции лейкоцитами синтезируется INF α , который относится к первой линии защиты организма. INF α играет ключевую роль в местной и системной противовирусной защите. В период острой фазы вирусных инфекций уровень концентрации INF α значительно возрастает, причем у большинства пациентов коррелирует с нарастанием титра вируса. В период реконвалесценции содержание INF- α падает до нормального уровня. Однако, при дисбалансе между Th1 и Th2 ответом ингибиторы INF- α (преимущественно IL-10) блокируют эффекты интерферонов, что приводит к прогрессивному течению заболевания, к хронизации или рецидивирующему течению патологического процесса [14].

Цитокином с широким диапазоном биологической активности является Интерлейкин-6 (IL-6). Он продуцируется как лимфоидными, так и не

лимфоидными клетками [16]. IL-6 регулирует иммунный ответ, онкогенез, гемопоэз, острофазный ответ и воспаление. Наряду с TNF- α и IL-1 β , IL-6 без сомнений, играет ведущую роль в неспецифическом противовирусном иммунитете, в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекцию или повреждение тканей, является провоспалительным цитокином широкого действия, который высвобождается из различных клеток, особенно моноцитов и макрофагов. Больные ВИЧ-инфекцией, получающие антиретровирусное лечение, имеют в среднем примерно на 40-60% более высокие концентрации IL-6, чем пациенты без ВИЧ-инфекции [134]. В исследовании INSIGHT Strategies для контроля антиретровирусной терапии (SMART) концентрация IL-6 была тесно связана со смертностью от всех причин (отношение четвертого квартиля по сравнению с первым 8,3, $p < 0,0001$) [98]. Эти результаты были подтверждены во многих других исследованиях, включая большие когорты ESPIRIT и SILCAAT (отношение четвертый / первый квартиль 5,6).

Ключевым регулятором иммунного ответа является Интерлейкин-10 (IL-10) [246]. Он обладает мощнейшим противовоспалительным, иммуномодулирующим, иммуносупрессивным эффектом, ауторегуляторной активностью. Главная роль IL-10 состоит в ингибировании избыточного синтеза провоспалительных цитокинов. На ранних стадиях воспаления IL-10 может ингибировать антимикробный ответ, вместе с тем защищает организм от гипервоспаления и повреждения тканей, вызванных механизмами защиты от инфекции.

Многофункциональным провоспалительным цитокином, синтезирующимся в основном моноцитами и макрофагами, является внеклеточный белок TNF- α . Он оказывает влияние на устойчивость к инсулину, коагуляцию, липидный обмен, функцию эндотелия, потенцирует продукцию IL-1, IL-6, IL-8, INF- γ , стимулирует лейкоциты, является одним из важных факторов защиты от внутриклеточных паразитов и вирусов [260]. Основным индуктором его выработки являются грамотрицательные бактерии, компонент их клеточной стенки LPS. LPS в низких концентрациях стимулирует функцию фагоцитов, является митогеном В-лимфоцитов. Секреция TNF- α усиливается под влиянием INF- γ , продуцируемого

Th-клетками. При высоких концентрациях TNF- α в крови он оказывает действие на гипоталамус как эндогенный пироген, вызывая лихорадку.

Показано, что цитокины могут играть определенную роль в регуляции экспрессии многих вирусов в системе *in vitro*. Так IL-4 и IL-10, а также IFN- γ способны либо усиливать, либо подавлять экспрессию вируса [226]. Биологический эффект IL-4 обусловлен иммунологическим отклонением дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов в сторону Th-2, регуляцией активации В-клеточного звена иммунитета. В исследованиях показано, что IL-4 способствует ингибированию экспрессии корцепторов для ВИЧ на поверхности Т-лимфоцитов, снижению возможности внедрения вируса, но в то же время усилению репликации ВИЧ в уже пораженных клетках.

Исследования *in vitro*, а также наблюдения *in vivo* определили цитокины как важные факторы, регулирующие иммунологические и вирусологические механизмы, участвующие в персистенции ВИЧ. Иммуносупрессивные цитокины могут способствовать установлению вирусной латентности путем ослабления активации Т-клеток и продукции ВИЧ, создавая тем самым необходимые иммунологические и вирусологические условия для создания пула латентно инфицированных клеток. Другие цитокины, которые участвуют в поддержании CD4⁺ Т-клеток памяти, способствуют персистенции этих клеток при АРТ. И наоборот, провоспалительные цитокины могут способствовать прогрессированию заболевания, поддерживая низкие уровни продолжающейся вирусной репликации в лимфоидных тканях даже после длительной терапии. Дальнейшее понимание роли изменения цитокинов при ВИЧ-инфекции, в том числе на фоне АРТ, позволит расширить наши знания о патогенезе заболевания и будет способствовать улучшению качества лечения больных.

Микробиота ротоглотки при ВИЧ-инфекции: тенденции и проблемы в эпоху ВААРТ.

Поскольку ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань по структуре и резидентным иммунным клеткам похожа на лимфоидную ткань слизистой оболочки полости рта, можно предположить, что ВИЧ-инфекция может

приводить к индукции сходных паттернов разрушения в тканях слизистой оболочки полости рта. Иммунные клетки слизистой оболочки полости рта экспрессируют широкий спектр рецепторов распознавания патогенов и метаболических сенсоров, которые действуют как супрессоры или активаторы.

Установлено, что больные ВИЧ-инфекцией (даже на фоне АРТ) по сравнению с неинфицированными ВИЧ лицами, чаще имеют серьезные заболевания полости рта, такие как кандидоз полости рта, лейкоплакия боковых поверхностей языка, папилломатозные разрастания, афтозные язвы, герпетические поражения и др. [111].

Воспалительные процессы полости рта включают микробные этиологические факторы, вызывающие серию реакций в организме, опосредующих воспалительный каскад [77]. Дисбиотические нарушения различных биотопов могут оказывать негативную роль на течение заболевания, вызывать дополнительную активацию иммунологической защиты организма.

Известно, что ротоглотка по плотности микробного обсеменения находится на втором месте после толстой кишки. Микрофлора ротоглотки включает в себя многочисленные виды аэробных и анаэробных микроорганизмов. В норме микробиота ротоглотки представлена лактобациллами, стрептококками, бифидобактериями, пропионовокислыми бактериями, бактероидами, дрожжеподобными грибами, актиномицетами и др.

Среди всей микрофлоры полости рта доминирующими являются факультативно и облигатно анаэробные стрептококки. Наиболее типичные виды стрептококков ротовой полости: *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis* и др. Другая половина резидентной флоры ротовой полости представлена вейллонеллами и дифтероидами (по 25% в каждой группе) [211].

В последние годы роль микробиоты в патогенезе ВИЧ-инфекции стала предметом интенсивных исследований [195; 2]. Микрофлора полости рта является потенциальным источником эндогенного инфицирования. Состояние сложившейся экосистемы ротовой полости зависит от множества экзогенных и эндогенных факторов, важнейшими из которых являются иммунологические

нарушения. При прогрессировании иммунодефицита микрофлора становится вирулентной, изменяется реактивность организма и нарушается его симбиоз с микроагентами. Орофарингеальный кандидоз считается оппортунистической инфекцией, вызванной микроорганизмом *Candida*, который обычно рассматривается как нормальная оральная флора. Переход от комменсальной к инвазивной инфекции слизистой оболочки полости рта вызван местными изменениями в микрофлоре или неэффективной системой ответа организма, что приводит к чрезмерному росту и инвазии *Candida*. Наиболее распространенной причиной кандидоза слизистой оболочки (до 80%) является *Candida Albicans* [216; 200; 208].

Основными условиями, связанными с большей распространенностью нарушения микробиоценоза ротоглотки являются частое использование антимикробных препаратов при ВИЧ-инфекции. Длительное течение и прогрессирование ВИЧ-инфекции предрасполагает к повторяющимся эпизодам оральных инфекций у больных ВИЧ-инфекцией [175].

Известно, что больные ВИЧ-инфекцией подвергаются непропорциональному риску развития заболеваний полости рта и пародонта, однако связанные с ними микробные изменения недостаточно изучены при ВИЧ-инфекции. У ВИЧ-инфицированных лиц снижается биоразнообразие полости рта по сравнению с неинфицированными контролями, вероятно, из-за чрезмерного роста отдельных оппортунистических микроорганизмов [105].

Некоторые виды бактерий были обнаружены только у ВИЧ-инфицированных (в отличие от контрольной группы здоровых лиц), что указывает на ВИЧ-опосредованный дисбиоз микробиоты полости рта. АРТ частично восстанавливает микрофлору. Тем не менее, ни ВИЧ-статус, ни АРТ не влияют на преобладание стрептококков и вейлонелл у больных ВИЧ-инфекцией. Эти данные согласуются с сообщениями об увеличении колонизации стрептококка в ротоглотке через шесть месяцев после АРТ у ВИЧ-инфицированных лиц [12].

ВИЧ-инфекция изменяет микробные сообщества в различных слизистых компартментах, что может способствовать микробной транслокации и иммунной активации во время прогрессирования заболевания ВИЧ. Поражения ротоглотки, часто наблюдаемые у ВИЧ-положительных пациентов, рассматриваются как индикаторы прогрессирования заболевания. Было обнаружено, что микробное разнообразие ротоглотки с повышенными уровнями общего количества видов *Lactobacillus* и видов *Candida* выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, чем у неинфицированных контролей [169]. Некоторые виды микроорганизмов чаще встречаются у ВИЧ-инфицированных пациентов, по сравнению со здоровыми людьми [118].

Schmidt-Westhausen с соавторами обнаружили, что 5% ВИЧ-инфицированных пациентов и 4,8% контролей имели различные виды *Enterobacteriaceae* полости рта [170]. Развитие кандидоза ассоциируется с избыточным ростом *Enterobacteriaceae* у ВИЧ-инфицированных пациентов. При ВИЧ-инфекции также отмечается сдвиг в микрофлоре полости рта с уменьшением изоляции *S. viridans* и *S. pneumoniae* и увеличением частоты колонизации *Micrococcus spp.* [71].

В исследовании К.Д. Грей (2004 г.) показано, что больные ВИЧ-инфекцией предрасположены к инфекциям, вызванных *S. pneumoniae*, *non-typhi Salmonella*, *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*, *Rhodococcus spp.*, *Nocardia spp.* [59]. В другом исследовании обнаружена высокая частота внутрибольничных бактериальных инфекций у пациентов со СПИДом, что было связано с высоким уровнем смертности [116]. Наиболее распространенными выделенными микроорганизмами были грамотрицательные бактерии, такие как *Streptococcus viridans*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Klebsiella spp.*, *Pneumococcus*, *Bacillus* и *Moraxella catarrhalis*, являющиеся потенциально патогенными организмами, особенно у пациентов с ВИЧ.

У ВИЧ-инфицированных пациентов в пародонтальных карманах определяются повышенные концентрации воспалительных цитокинов, таких как IL-8, IL-6 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора

(GM-CSF), которые вырабатываются в ответ на колонизацию условно-патогенных бактерий [160].

Снижение вирусной нагрузки может оказывать непосредственное влияние на состав микробиоты и эпителиальные клетки полости рта. АРТ уменьшает поражения полости рта, такие как кандидоз, у ВИЧ-инфицированных пациентов [60], хотя этот механизм недостаточно четко определен. Авторами изучается вопрос о наличии взаимосвязи между состоянием микрофлоры ротовой полости и рисками развития патологических состояний с системным воспалительным компонентом [5; 113].

1.3. Поиск новых направлений в лечении ВИЧ-инфекции для повышения эффективности антиретровирусной терапии

Модификация кишечного микробиома.

Стратегии, направленные на восстановление нормального состава кишечного микробиома, включают антибиотики, пробиотики и пребиотики. Pandrea I. и соавторы изучали эффективность 3-х месячного применения рифаксимины в острой стадии SIV-инфекции у макаков [142]. В этом исследовании были получены данные о значительном снижении уровня растворимого CD14, D-димера, активированных Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+, провоспалительных цитокинов и хемокинов у макаков с SIV-инфекцией по сравнению с контрольной группой при применении комбинации препаратов Рифаксимины и Сульфасалазина. У больных ВИЧ-инфекцией антибиотикотерапия имеет ограниченное применение в качестве лечения транслокации, так как может привести к распространению устойчивых микроорганизмов, метаболическим нарушениям, а также к дальнейшему повреждению желудочно-кишечного барьера.

Также изучались терапевтические подходы, основанные на использовании пробиотиков для восстановления микробиоты кишечника, ингибирования провоспалительных цитокинов, восстановления кишечного барьера и стимуляции

местного иммунитета слизистых оболочек. В исследованиях показано, что пробиотики и пребиотики могут изменять кишечную микробиоту, снижать маркеры микробной транслокации, воспаления, коагуляции и активации Т-клеток [91; 32; 180; 192; 31; 58].

Усиление барьера энтероцитов.

Учитывая кардинальные структурные и функциональные изменения в эпителиальном барьере кишечника при ВИЧ-инфекции, возможность поддерживать гомеостаз энтероцитов с помощью иммуномодулирующих молекул весьма перспективна. Принимая во внимание доказанную роль IL-22 и IL-17 в иммунной дисфункции слизистой оболочки кишечника при SIV-инфекции, возможно их применение с целью восстановления эпителиального барьера [92; 181]. Были опубликованы данные о возможной роли рекомбинантного человеческого IL-7 в восстановлении Т-клеточного гомеостаза слизистой кишечника у больных ВИЧ-инфекцией [172].

Еще одно исследование было сконцентрировано на назначении IL-21 макакам с SIV-инфекцией в дополнение к АРТ и пробиотикам, предполагая, что эффект лечения приведет к уменьшению микробной транслокации и восстановлению Th17-клеток [139].

Нейтрализация микробных биопродуктов, транслоцирующихся из просвета кишечника.

Возможной терапевтической стратегией станет разработка подходов для нейтрализации микробных биопродуктов, транслоцирующихся в периферическую кровь. С целью уменьшения эндотоксемии у ВИЧ-инфицированных лиц изучали возможность орального применения севеламера карбоната [69]. Kristoff J. с соавторами [97] показали, что лечение SIV-инфицированных макак севеламером вызывало резкое снижение иммунной активации и воспаления. В своем исследовании они обратили внимание на влияние иммунной активации и воспаления при SIV-инфекции приматов на биомаркеры коагуляции, предположив роль микробной транслокации в развитии сердечно-сосудистых сопутствующих заболеваний. Однако было показано, что севеламер не оказывает

значительного влияния на маркеры воспаления и иммунной активации у людей [265; 167], а его потенциальное отрицательное влияние на сердечно-сосудистую систему было подтверждено.

В исследовании Аниховской И.А. с соавторами было установлено, что использование антиэндотоксиновой составляющей в схеме терапии персистирующих вирусных инфекций может служить элементом успешной профилактики их осложнений. Авторами в дополнение к стандартной терапии было предложено применять препараты и процедуры, способные снижать концентрацию LPS в общем кровотоке (базисная антиэндотоксиновая составляющая: энтеросорбенты, эубиотики, желчегонные, мочегонные) [198].

Применение противовоспалительных препаратов.

Полученные данные, доказывающие повышенный риск прогрессирования ВИЧ-инфекции при гиперактивации иммунитета, обуславливают возможность применения противовоспалительных препаратов в дополнение к АРТ. Хотя некоторые лекарства, такие как пентоксифиллин [65] и салсалат [64; 73] имели разочаровывающие результаты их применения для снижения маркеров активации иммунной системы, другие виды лечения в настоящее время исследуются. Кроме того, биологические агенты, такие как IL-6 антагонист рецепторов Тоцилизумаб (NCT02049437) и IL-1 антагонист Канакинумаб (NCT02272946) также изучаются.

Mesalamine, препарат, используемый для лечения при язвенном колите, не снижал концентрацию циркулирующих маркеров воспаления, а также активацию Т-клеток [179]. В противоположность этому, исследуемые IL-7 у человека [171] и IL-21 у SIV-инфицированных макак [124], применяемые в дополнение к АРТ, показали улучшение кишечного иммунитета и периферических маркеров активации иммунной системы. Хинолины, такие как хлорохин и гидроксихлорохин также были протестированы у пациентов с ВИЧ, но убедительных результатов в отношении воздействия на микробную транслокацию и воспаление не удалось получить [158; 149].

Также в настоящее время в рандомизированном контролируемом исследовании изучается воздействие препарата Teduglutide (глюкагон-подобный-

пептид-2) на микробную транслокацию, гиперактивацию иммунитета и системный воспалительный ответ (NCT02431325).

Статины обладают общепризнанным противовоспалительным действием, хотя механизм этого эффекта неизвестен. Использование статинов было связано со снижением уровней активации Т-клеток у больных ВИЧ-инфекцией, не принимающих АРТ [53] и снижением уровней активированных моноцитов и sCD14 у пациентов на АРТ. В исследовании показано, что аспирин снижает активацию Т-клеток и sCD14 у взрослых, получавших АРТ [136]. Ингибиторы циклооксигеназы-2 также могут уменьшать воспаление у больных ВИЧ-инфекцией [148].

Хотя патогенетически многие из причин и последствий воспаления, которые существуют при ВИЧ-инфекции, одинаковы для пациентов без АРТ и на фоне АРТ, исследования показали, что терапевтические вмешательства с применением противовоспалительных лекарственных средств в этих двух клинических состояниях может быть глубоко различным. Например, хлорохин и гидроксихлорохин являются противовоспалительными лекарственными средствами, которые обладают рядом потенциальных полезных эффектов, включая предотвращение передачи сигналов TLR в дендритных клетках. Хотя эти препараты продемонстрировали потенциальную пользу у больных ВИЧ-инфекцией, получавших АРТ [149], большое рандомизированное клиническое исследование ВИЧ-инфицированных пациентов без АРТ показало, что они действительно могут увеличить репликацию ВИЧ и ускорить потерю периферических CD4 + Т-клеток [145], возможно, потому, что препарат снижает способность иммунной системы контролировать репликацию ВИЧ. Эти исследования показывают, что применение противовоспалительных препаратов возможно только на фоне приема АРТ.

Иммуномодулирующие стратегии.

В последние годы снова обсуждается возможность применения иммуномоделирующих препаратов в дополнение к АРТ, но четкие клинические преимущества такого лечения не доказаны.

Идея метода лечения препаратом циклоспорин А была основана на принципе снижения активности иммунной системы для уменьшения субстрата и блокирования возможности для репликации ВИЧ. Однако результаты клинических исследований показали, что циклоспорин А не влияет на количество Т-лимфоцитов и экспрессию маркеров активации [155; 23; 177; 127; 115].

Гранулоцит-колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) применялся с целью профилактики бактериальных инфекций при длительной нейтропении, наблюдаемой при прогрессирующей ВИЧ-инфекции [99; 33].

В исследованиях ESPRIT, SILCAAT и STALWART изучалась возможность применения интерлейкина-2 (IL-2). Но результаты исследования показали отсутствие клинической пользы при его назначении [182]. Перспективным препаратом считают Интерлейкин-7, поскольку он выполняет важнейшую роль в системе Т-клеточного гомеостаза и способствует связыванию и созреванию CD4+ Т-лимфоцитов [27; 103; 173; 102]. Изучаются возможности применения интерлейкина-12 [83], интерлейкина-10 [8], интерлейкина-15 [1].

Аминодигидрофталазиндион натрия (АДФНа) является производным аминофтальгидрозида (5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевая соль), обладает иммуномодулирующим и противовоспалительным свойствами (регистрационный номер 97.91.3) [202]. Фармакологические эффекты АДФНа связаны со способностью оказывать влияние на функционально-метаболическую активность макрофагов, повышенный синтез противовоспалительных цитокинов и активных форм кислорода, обуславливающих выраженность интоксикации. Одновременно АДФНа стимулирует микробицидную функцию нейтрофильных гранулоцитов и усиливает фагоцитоз [261; 217]. АДФНа регулирует синтез цитокинов путем влияния на моноцитарно-макрофагальное звено иммунитета, повышает пролиферативную функцию Т-лимфоцитов и NK-клеток. Также данный препарат способен влиять на синтез антител, стимулирует синтез INF и способствует улучшению тканевых репаративных процессов, обладает антиоксидантным действием, улучшает процессы заживления путем снижения образования фиброзной ткани. Важным является способность препарата

повышать неспецифическую резистентность организма к инфекционным заболеваниям [199; 205; 249; 212; 213; 243]. Следует отметить, что при воспалительных процессах АДФНа на 6–8 часов исключает избыточный синтез гиперактивированными макрофагами $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 , IL-6 и других провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, концентрация которых определяет выраженность воспалительных реакций, их цикличность, а также степень интоксикации и оксидантного стресса. Положительный эффект АДФНа на нормализацию показателей иммунного статуса и цитокинового профиля при неинфекционных и инфекционных заболеваниях, в том числе вирусной этиологии, был показан в ряде клинических исследований [205; 214; 234; 248; 218; 227; 206; 207]. По данным авторов имеются определенные перспективы применения АДФНа в наркологии [233]. Значимым является то, что при приеме АДФНа практически отсутствуют побочные эффекты, в редких случаях отмечались аллергические реакции и индивидуальная непереносимость препарата [240].

Согласно патенту РФ №2383342 (БИПМ №7, 2010 г.) авторами разработан «Способ лечения туберкулеза легких у больных ВИЧ-инфекцией» [241]. В данной методике предложено в дополнение к стандартным режимам терапии с первого дня назначать 15 инъекций АДФНа (по 100 мг внутримышечно один раз в три дня). Возможность применения данного препарата в патогенетической терапии туберкулеза легких у больных ВИЧ-инфекцией обусловлена способностью АДФНа влиять на моноцитарно-макрофагальное звено иммунитета, благодаря чему при деструктивных формах туберкулеза в легочной ткани происходит ускорение репаративных процессов. Авторами предложено использовать АДФНа для повышения иммунологической реактивности организма, поскольку распространенные туберкулезные поражения на фоне ВИЧ-инфекции приводят к прогрессированию иммунодефицитного состояния [240].

Романцов М.Г. с соавторами (2011 г.) исследовали возможность применения АДФНа для оптимизации противовирусной терапии хронического гепатита С. Авторы показали, что с целью повышения общей эффективности лечения

необходимо ориентироваться не только на влияние лекарственных препаратов на процессы персистенции вируса (наличие вируса в крови и интенсивность его репликации), но и на возможность изменения метаболических процессов с помощью адекватных средств коррекции [242].

В последние годы был сделан большой прорыв в изучении патогенетических механизмов ВИЧ-инфекции. Знания о функциональных изменениях иммунной системы при ВИЧ-инфекции, собранные в течение последних 30 лет исследований, порождают различные гипотезы для объяснения этих патогенных изменений. В отсутствие методов лечения, позволивших элиминировать вирус, в последние годы ведется поиск новых методов лечения, направленных на снижение системного воспалительного ответа, а также на уменьшение риска развития сопутствующих заболеваний. Полученные доказательства о наличии высокого риска прогрессирования ВИЧ-инфекции при гиперактивации иммунитета, задают вектор для поиска новых терапевтических подходов в дополнение к АРТ. На основании основных фармакологических эффектов противовоспалительного препарата АДФНа, представляется перспективным изучение вопроса о возможности и целесообразности применения его сублингвальной формы у больных ВИЧ-инфекцией с целью коррекции местных воспалительных заболеваний и снижения системного воспалительного ответа.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование выполнено в период с 2016 г. по 2019 г. на базе Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора.

Все пациенты были информированы о целях и задачах работы, дали письменное согласие на участие в исследовании (Приложение 1, 2). Согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 1964, 2013 ред.) при работе с пациентами соблюдались этические принципы [54]. Для анализа клинических данных были обработаны медицинские карты пациентов, получивших в ЮОЦПБ со СПИДом амбулаторную медицинскую помощь (форма № 025/у).

Основные клинические, иммунологические и вирусологические исследования выполнены на базе клинико-диагностических лабораторий ФБУН "Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии" Роспотребнадзора: лаборатории диагностики инфекционных заболеваний Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом (заведующий Д. С. Колпаков) и лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования (заведующая д.м.н. А.В. Алешукина).

2.1. Дизайн исследования

Исследование состояло из 2-х основных частей. Дизайн исследования приводится в Таблице 2.1, а также на Рисунках 2.1 и 2.2.

Таблица 2.1 - Дизайн исследования

Первый этап исследования			
1А этап, группы больных			Методы исследования Однократно при обращении определяли: 1. Методом ИФА концентрацию LBP и маркеров системного воспаления (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ); 2. Методом ПЦР концентрацию РНК ВИЧ в крови (ВН ВИЧ, копий/мл); 3. Методом проточной цитометрии ключевые параметры клеточного звена иммунитета с фенотипированием (CD45, CD38, CD62, RO, RA, HLA-DR); 4. Микробиологическое исследование мазков слизистой ротоглотки с качественно-количественным определением состава выделенных микроорганизмов.
По приему АРТ	n=201	1. АРТ	
	n= 75	2. АРТ не проводилось	
По абсолютному числу CD4, кл. в мкл	n=84	1. До 350 кл. в мкл	
	n=192	2. Больше или равно 350 кл. в мкл	
По уровню концентрации РНК ВИЧ в крови, копий/мл	n=173	1. РНК ВИЧ в крови до 50 копий в мл	
	n=47	2. Уровень репликации РНК ВИЧ в крови 50-100 тысяч копий в мл	
	n=56	3. Уровень репликации РНК ВИЧ в крови более 100 тысяч копий в мл	
1Б этап, группы больных			1. Методом ИФА концентрацию LBP и маркеров системного воспаления (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ) 2. % активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR+
У больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с различной иммунологической эффективностью	n=66	CD4 до 350 кл. в мкл	
	n=96	CD4 350 и более кл. в мкл	
Второй этап исследования			
Группа АДФNa	n=50	АРТ+АДФNa	Двукратно в динамике заболевания: 1. Методом ИФА концентрацию LBP и маркеров системного воспаления (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ); 2. Микробиологическое исследование мазков слизистой ротоглотки с качественно-количественным определением состава выделенных микроорганизмов
Группа сравнения	n=58	АРТ	

На 1А этапе работ проводилось изучение прогностической значимости маркеров эндотоксинемии, системного воспаления и микробиоценоза ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от приема АРТ, показателей иммунного статуса и репликации ВИЧ.

На 1Б этапе работ проводилось изучение диагностической значимости исследуемых маркеров системного воспаления и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с различной иммунологической эффективностью.

На втором этапе работ было проведено сравнительное открытое проспективное клиническое исследование групп пациентов (с оценкой маркеров системного воспаления и микробного пейзажа ротоглотки), одна из которых получала антиретровирусную терапию, а другая, АРТ, дополненную АДФНа.



Рисунок 2.1 – Дизайн исследования, I этап



Рисунок 2.2 – Дизайн исследования, II этап

2.2. Характеристика клинических групп

Исследование было проведено в соответствии с международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований [224].

Материалом для исследования явились аналитические данные результатов обследования и лечения пациентов, полученные из медицинской документации (медицинские карты амбулаторных больных, форма № 025/у).

Критерии включения пациентов.

Для включения в настоящее исследование пациенты соответствовали всем перечисленным ниже критериям:

1. Пациенты с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекция в субклинической стадии или стадии вторичных заболеваний в фазе клинической ремиссии (в соответствии с российской клинической классификацией ВИЧ-инфекции).
2. Согласие пациента на участие в исследовании и подтверждение своего информированного согласия на это в письменной форме.
3. Лица мужского и женского пола старше 18 лет и младше 50 лет на момент подписания информированного согласия.
4. Отсутствие беременности на момент взятия биоматериала у женщин.
5. Наличие амбулаторной карты пациента, содержащей данные:
 - Дата 1-го положительного результата иммуноблота
 - Дата постановки и формулировка клинического диагноза

Критерии невключения пациентов.

Пациенты, соответствующие любому из приведенных ниже критериев, не были включены в настоящее исследование:

- возраст моложе 18 и старше 50 лет;
- стадии ВИЧ-инфекции: инкубации, первичных проявлений, вторичных проявлений в фазе прогрессирования, терминальная стадия;
- беременность или лактация на момент взятия биологического материала у женщин;
- наличие клинических проявлений оппортунистических заболеваний и сопутствующих хронических заболеваний;
- прием антибактериальных и противогрибковых препаратов;
- наличие признаков туберкулеза.

Критерии исключения в период проведения исследования: обострение хронических заболеваний, употребление наркотических веществ и алкоголя; отсутствие явки на контрольный осмотр.

1А этап исследования. Для реализации задач, стоящих в нашей работе под наблюдением находилось 276 взрослых больных ВИЧ-инфекцией, получавших амбулаторную медицинскую помощь в ЮОЦПБ со СПИДом ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора. Данные о пациенте заносятся в разработанную нами индивидуальную регистрационную карту участника исследования (Приложение 3), в которой указывались сведения об основном диагнозе пациента, оппортунистических и сопутствующих заболеваниях, подробная информация о проведении АРТ с момента ее назначения с указанием принимаемых препаратов, причин замены схемы АРТ. Также учитывались данные лабораторного иммунологического и вирусологического мониторинга АРТ. Для детального изучения факторов, влияющих на эндотоксиновый ответ, выраженность системного воспаления и состав микробиома ротоглотки, пациенты были распределены по группам в зависимости от приема АРТ, по абсолютному числу CD4+Т-лимфоцитов, по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови.

Принимая во внимание, что на момент формирования групп пациентов, согласно действующим клиническим рекомендациям по лечению больных ВИЧ-инфекции, назначение АРТ проводилось по показаниям с учетом иммунологических и вирусологических данных, пациенты были распределены по группам в зависимости от приема АРТ: 1-я группа - принимали АРТ, n=201; 2-я группа – не принимали АРТ, n=75. При формировании групп по иммунологическим показателям распределение пациентов проводилось в соответствии с пороговыми значениями для назначения АРТ (абсолютное число CD4+Т-лимфоцитов менее 350 клеток/мкл) и с классификацией иммунных нарушений ВОЗ: 1-я группа с выраженным и умеренным иммунодефицитом – до 350 кл. в мкл, n=84; 2-я группа с незначительным иммунодефицитом или его отсутствием – больше или равно 350 кл. в мкл, n=192. При распределении пациентов по уровню репликации ВИЧ учитывалось пороговое значение для назначения АРТ – концентрация РНК ВИЧ в крови более 100000 копий/мл, а также минимальный уровень детекции тест-системы 50 копий/мл: 1-я группа - до

50 копий/мл, n=173; 2-я группа 50-100 тыс. копий/мл, n=47; 3-я группа – более 100 тыс. копий/мл, n=56.

В задачи исследования на этом этапе входило определение методом ИФА концентрации LBP и маркеров системного воспаления (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ); методом ПЦР - концентрации РНК ВИЧ в крови (ВН ВИЧ, копий/мл); методом проточной цитометрии ключевых параметров клеточного звена иммунитета с фенотипированием (CD45, CD38, CD62, RO, RA, HLA-DR); качественно-количественного определения состава микробиома ротоглотки. У пациентов имелись сопутствующие заболевания в стадии ремиссии, что не противоречило критериям включения. (Таблицы 2.2, 2.3, 2.4).

Характеристика клинических групп представлена в Таблицах 2.2, 2.3, 2.4.

Таблица 2.2 - Характеристика клинических групп в зависимости от приема АРТ

Характеристики		1-я группа n=201	2-я группа n=75	P ₁₋₂
АРТ		Получали	Не получали	
Средний возраст, лет, M $\pm$ m		38,3 $\pm$ 0,9	36,0 $\pm$ 1,3	> 0,05
Пол, абс./ M $\pm$ m %,	Женщины	109/54,2 $\pm$ 3,5	47/62,7 $\pm$ 5,6	> 0,05
	Мужчины	92/45,8 $\pm$ 3,5	28/37,3 $\pm$ 5,6	> 0,05
Путь передачи инфекции абс./ M $\pm$ m %	Половой	97/48,3 $\pm$ 3,5	40/53,3 $\pm$ 5,8	> ^o 0,05
	Парентеральный	74/36,8 $\pm$ 3,4	24/32,0 $\pm$ 5,4	> ^o 0,05
	Не установлен	12/6,0 $\pm$ 1,7	9/12 $\pm$ 3,8	> ^o 0,05
Среднее значение CD4+, кл. в мкл, M $\pm$ m		483,8 $\pm$ 17,1	479,1 $\pm$ 29	> ^o 0,05
CD4+ (кл. в мкл) абс./ M $\pm$ m %	менее 200	17/8,5 $\pm$ 2	7/9,3 $\pm$ 3,4	> ^o 0,05
	201-350	44/21,9 $\pm$ 2,9	18/24,0 $\pm$ 4,9	> ^o 0,05
	351-500	62/30,8 $\pm$ 3,3	17/22,7 $\pm$ 4,8	> ^o 0,05
	501 и более	78/38,8 $\pm$ 3,4	33/44,0 $\pm$ 5,7	> ^o 0,05
Хронические заболевания в стадии ремиссии абс./ M $\pm$ m %	Сердечно-сосудистые заболевания	20/10,0 $\pm$ 2,1	10/13,3 $\pm$ 3,9	> ^o 0,05
	Болезни мочеполовой системы	44/21,9 $\pm$ 2,9	13/17,3 $\pm$ 4,4	> ^o 0,05
	Болезни нервно- психической деятельности	55/27,4 $\pm$ 3,1	18/24,0 $\pm$ 4,9	> ^o 0,05
	Желудочно-кишечные нарушения и болезни	87/43,3 $\pm$ 3,5	28/37,3 $\pm$ 5,6	> ^o 0,05

Таблица 2.3 - Характеристика клинических групп по уровню CD4+Т-лимфоцитов

Характеристики		1-я группа n=84	2-я группа n=192	p
Уровень CD4+ Т-лимфоцитов, кл. в мкл		до 350	Более 350	
Средний возраст (лет, M±m)		39,3±1,0	39,2±0,8	>°0,05
Пол, абс./ % M±m,	Женщины	32/38,1±5,1	85/44,3±3,6	>°0,05
	Мужчины	52/61,3±5,3	105/54,7±3,6	>°0,05
Путь передачи ВИЧ- инфекции абс./% M±m	Половой	45/53,6±5,4	93/48,4±3,6	>°0,05
	Парентеральный	29/34,5±5,0	70/36,5±3,5	>°0,05
	Не установлен	6/7,1±2,6	15/7,8±1,9	>°0,05
Не имели клинических проявлений		21/25,0±4,4	56/29,2±3,3	>°0,05
Хронические заболевания в стадии ремиссии абс./% M±m	Сердечно-сосудистые заболевания	12/14,3±3,5	20/10,4±2,0	>°0,05
	Болезни мочеполовой системы	15/17,9±3,9	45/23,4±3,1	>°0,05
	Болезни нервно- психической деятельности	34/40,5±5,2	68/35,4±3,5	>°0,05
	Желудочно-кишечные нарушения и болезни	37/44,0±5,3	97/50,5±3,6	>°0,05
Хронический гепатит	НСV этиологии	38/45,2±5,3	88/45,8±3,6	>°0,05
	HBV этиологии	3/3,6±1,9	2/1,0±0,7	>°0,05
	НСV+HBV этиологии	1/1,2±1,1	2/1,0±0,7	>°0,05

Таблица 2.4 - Характеристика клинических групп по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови

Характеристики		1-я группа	2-я группа	3-я группа	p ₁₋₂ p ₁₋₃ p ₂₋₃
Концентрация РНК ВИЧ в крови, копий/мл		До 50	50-100 тыс.	Более 100 тыс.	
Количество пациентов, чел.		173	47	56	
Средний возраст (лет, M±m)		38,2±0,8	36,7±1,4	35,5±1,4	>°0,05
Пол, абс./% M±m	Женщины	84/48,6±3,8	18/38,3±7,1	21/37,5±6,5	>°0,05
	Мужчины	89/51,4±3,8	29/61,7±7,1	35/62,5±6,5	>°0,05
Путь передачи ВИЧ-инфекции абс./ % M±m	Половой	85/49,1±3,8	17/36,2±7,0	20/35,7±6,4	>°0,05
	Парентеральный	67/38,7±3,7	15/31,9±6,8	15/26,8±5,9	>°0,05
	Не установлен	8/4,6±1,6	6/12,8±4,9	4/7,1±3,4	>°0,05
Среднее значение CD4, кл. в мкл, M±m		483,8±17,1	454,4±32	442,7±35,8	>°0,05
CD4 (кл. в мкл) абс./ M±m %	Менее 200	11/6,4±1,9	5/10,6±4,5	8/14,3±4,7	>°0,05
	201-350	41/23,7±3,2	8/17,0±5,5	14/25,0±5,8	>°0,05
	351-500	49/28,3±3,4	16/34,0±6,9	12/21,4±5,5	>°0,05
	501 и более	72/41,6±3,7	18/38,3±7,1	22/39,3±6,5	>°0,05
Хронические заболевания в стадии ремиссии абс./ M±m %	Сердечно-сосудистые заболевания	15/8,7±2,1	3/6,4±3,6	6/10,7±4,1	>°0,05
	Заболевания нервно-психической деятельности	69/39,9±3,7	15/31,9±6,8	18/32,1±6,2	>°0,05
	Заболевания мочеполовой системы	25/14,5±2,7	6/12,8±4,9	9/16,1±4,9	>°0,05
	Желудочно-кишечные нарушения и заболевания	88/50,9±3,8	22/46,8±7,3	24/42,9±6,6	>°0,05
Хронический гепатит, абс./%, M±m	HCV этиологии	83/48,0±3,8	20/42,6±7,2	32/57,1±6,6	>°0,05
	HBV этиологии	4/2,3±1,1	2/4,3±2,9	3/5,4±3,0	>°0,05
	HCV+HBV этиологии	1/0,6±0,6	0	3/5,4±3,0	>°0,05

За норму были взяты показатели LBP, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, INF-γ, INF-α, ПКТ, CD45, CD38, CD62, RO, RA, HLA-DR, а также микробиоты ротоглотки у 25 условно здоровых людей, по возрасту и полу сопоставимых с клиническими группами.

1Б этап исследования. Для изучения диагностической значимости исследуемых маркеров системного воспаления и активации иммунитета у

больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с различной иммунологической эффективностью, пациенты были сформированы в 2 группы: 1-я группа – получающие АРТ более 6 мес., CD4 менее 350 кл. в мкл, n=66; 2-я группа получающие АРТ более 6 мес., CD4 более 350 кл. в мкл, n=96 (Таблица 2.5).

Таблица 2.5 - Характеристика клинических групп пациентов с различным уровнем эффективности АРТ

Характеристики		Больные ВИЧ-инфекцией, получающие АРТ более 6 месяцев		p ₁₋₂
		Группа 1 n=66	Группа 2 n=96	
Уровень CD4+ Т-лимфоцитов, абс., кл./мкл		менее 350	более 350	
Средний возраст, лет, M±m		41,1±0,9	36,0±1,3	>°0,05
Пол, абс./ % M±m	Женщины	29/43,9±6,1	45/46,9±5,1	>°0,05
	Мужчины	37/56,1±6,1	51/53,1±5,1	>°0,05
Путь передачи инфекции абс./% M±m	Половой	30/45,5±6,1	49/51,0±5,1	>°0,05
	Парентеральный	29/43,9±6,1	35/36,5±4,9	>°0,05
	Не установлен	2/3,0±2,1	5/5,2±2,3	>°0,05
Клинические проявления	Сердечно-сосудистые заболевания	12/18,2±4,7	14/14,6±3,6	>°0,05
	Желудочно-кишечные нарушения и болезни	27/40,9±6,1	30/31,3±4,7	>°0,05
	Болезни мочеполовой системы	16/24,2±5,3	27/28,1±4,6	>°0,05
	Болезни нервно-психической деятельности	34/51,5±6,2	42/43,8±5,1	>°0,05
Хронический гепатит	НСV этиологии	30/45,5±6,1	44/45,8±5,1	>°0,05
	HBV этиологии	3/ 4,5±2,6	4/4,2±2,0	>°0,05
	НСV+HBV этиологии	1/1,5±1,5	1/1,0±1,0	>°0,05

2 этап исследования

На втором этапе работ было проведено сравнительное открытое проспективное клиническое исследование групп пациентов с оценкой маркера антиэндотоксиновой защиты LBP и микробного пейзажа ротоглотки для изучения возможности применения препарата Аминодигидрофталазиндиона натрия (АДФНа, Галавит®) у больных ВИЧ-инфекцией, получающих различные схемы АРТ. Пациенты были распределены на две группы методом независимой последовательной рандомизации: 1-я группа основная - 50 чел., 2-я группа сравнения - 58 чел. Процедура рандомизации была проведена с применением таблицы случайных чисел, сгенерированной в программе SPSS. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и основным клиническим параметрам, что явилось основанием для дальнейшего сравнительного исследования (Таблица 2.6). У больных ВИЧ-инфекцией имелись сопутствующие заболевания в стадии ремиссии, что не противоречило критериям включения.

Препарат АДФНа назначался пациентам в соответствии с показанием к применению «у взрослых и подростков старше 12 летнего возраста, в том числе у лиц с вторичной иммунной недостаточностью, в качестве иммуномодулирующего и противовоспалительного средства в составе комплексной терапии воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта и горла». Для участия в исследовании были отобраны 116 больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с отсутствием вирусологического рецидива в течение последних 12 мес. (концентрация РНК ВИЧ менее 500 копий/мл), с хронической патологией слизистой оболочки полости рта и ротоглотки (хронический фарингит, хронический стоматит, хронический гингивит), и высокой степенью обсемененности ротоглотки УПМ (не менее 10^5 КОЕ/мл). У подавляющего большинства пациентов (72,2%) были жалобы на сухость, дискомфорт, першение в горле; 36,4% больных отмечали периодически возникающую кровоточивость десен во время чистки зубов, неприятные ощущения в деснах. При клиническом обследовании у больных не отмечено ухудшения общего состояния, повышения

температуры тела. При осмотре ротоглотки у 70,7% больных выявлены истончение и наличие инъецированных сосудов на поверхности слизистой оболочки, очаги гиперплазированной лимфоидной ткани на задней стенке глотки. В ротовой полости у 30,6% пациентов выявлены деформации десневого края.

При включении в исследование интенсивность клинических проявлений и субъективных ощущений пациентов в среднем между группами была одинакова. Ко второму визиту из основной группы выбыли из исследования 5 человек в связи с переездом в другой регион, 3 пациента были исключены в связи с употреблением алкоголя и/или наркотических веществ. Полностью завершили исследование 108 человек: 1-я группа основная - 50 чел., 2-я группа сравнения – 58 чел. Больным из основной группы был назначен курс сублингвальной формы АДФНа по схеме: по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

Эффективность применения препарата АДФНа оценивалась в процессе лечебных мероприятий больных ВИЧ-инфекцией по объективным признакам с определением в динамике общеклинических, микробиологических и иммунологических показателей через 4 недели после завершения курса лечения АДФНа.

Пациенты получали АРТ в соответствии с современными нормативными документами, действующими на момент проведения исследования (СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции", Приказами Министерства здравоохранения РФ №689н от 8.11.2012 «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи...», №1511н от 24.12.2012 "Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекцией)", протоколом диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией национального научного общества инфекционистов).

Таблица 2.6 - Характеристика исследуемых групп больных ВИЧ-инфекцией на 2-м этапе клинического исследования

Характеристики			Значения, абс./ % M±m		
			1-я группа (АДФNa) n=50	2-я группа (группа сравнения) n=58	p
Средний возраст, лет			40,9±1,5	37,6±1,4	>°0,05
Пол	Женщины		25/50,0±7,1	20/34,5±6,2	>°0,05
	Мужчины		25/50,0±7,1	38/65,5±6,2	>°0,05
Путь передачи ВИЧ-инфекции	Парентеральный		18/36,0±6,8	25/43,1±6,5	>°0,05
	Половой		25/50,0±7,1	24/41,4±6,5	>°0,05
	Не установлен		4/8,0±3,8	6/10,3±4,0	>°0,05
Среднее значение CD4+, кл. в мкл			486,9±26,6	466,8±35,6	>°0,05
CD4 (клеток в мкл)	менее 200		1/2,0±2,0	5/8,6±3,7	>°0,05
	201-350		11/22,0±5,9	13/22,4±5,5	>°0,05
	351-500		14/28,0±6,3	15/25,9±5,7	>°0,05
	более 500		24/48,0±7,1	25/43,1±6,5	>°0,05
Хронические заболевания в стадии ремиссии	Хроническая патология слизистой оболочки полости рта и ротоглотки	Хронический фарингит	23/46,0±7,0	26/44,8±6,5	>°0,05
		Хронический стоматит	15/30,0±6,5	12/20,7±5,3	>°0,05
		Хронический гингивит	17/34,0±6,7	22/37,9±6,4	>°0,05
	Сердечно-сосудистые заболевания		5/10,0±4,2	6/10,3±4,0	>°0,05
	Болезни мочеполовой системы		14/28,0±6,4	9/15,5±4,8	>°0,05
	Болезни нервно- психической деятельности		19/38±6,9	21/36,2±6,3	>°0,05
	Желудочно-кишечные нарушения и заболевания		24/48,0±7,1	22/37,9±6,4	>°0,05
	Хронический гепатит	HCV этиологии		28/56,0±7,0	23/39,7±6,4
HBV этиологии		3/6,0±3,4	1/1,7±1,7	>°0,05	
HCV+HBV этиологии		1/2,0±2,0	0	>°0,05	

2.3. Методы исследования

Клинические методы исследования включали сбор анамнеза и жалоб, осмотр и физикальное обследование.

У всех пациентов ВИЧ-инфекция была диагностирована на основании эпидемиологических и клинических данных и была подтверждена обнаружением специфических антител к белкам вируса иммунодефицита человека I типа

методами ИФА и иммунного блоттинга. Стадию ВИЧ-инфекции определяли в соответствии с клинической классификацией ВИЧ-инфекции, утвержденной приказом Минздравсоцразвития РФ № 166 от 17.03.2006.

Для проведения лабораторных анализов: общеклинических, биохимических, серологических, иммунологических, материалом исследования служила сыворотка/плазма крови.

Сбор биоматериала проводился натощак в утренние часы. Путем венепункции отбиралась венозная кровь из локтевой вены стерильным шприцем с последующим центрифугированием и отделением сыворотки. Забор материала на втором этапе исследования проводился 2-хкратно: до начала терапии и через 4 недели после окончания терапии АДФНа.

Исследование концентрации LBP проводили методом ИФА с использованием тест-системы Hbt Human LBP ELISA Kit, Product Number: НК315, производства Hycult biotechnology (Голландия). Образцы предварительно разводили раствором для разведения. Для получения 1000 мкл разведенного в 5000 раз образца брали 10 мкл предварительно уже разведенного в 50 раз образца и добавляли к 990 мкл буфера.

Для иммуноферментного исследования концентрации TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- α , INF- γ , ПКТ применяли наборы «Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-1бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» «Гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «Альфа-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) согласно инструкциям фирмы-производителя.

Для оценки функционального состояния иммунной системы проведено развернутое изучение иммунного статуса с определением определенных параметров активации клеточного звена иммунитета на цитометре FACS Canto II («Becton Dickinson», США) с использованием меченых моноклональных антител («BD Multitest 6 color TBNK», США). Поскольку лейкоциты экспрессируют ряд цитоплазматических и поверхностных антигенов, уникальных для определенной субпопуляции и стадии развития, при их иммунофенотипировании обнаруживают

на их поверхности маркеры дифференциации - CD-антигены. Используя флюоресцентно-меченые моноклональные антитела, методом проточной цитометрии по экспрессии иммунологических маркеров (CD45, CD38, CD62, RO, RA, HLA-DR) производили подсчёт содержания Т-лимфоцитов (Таблица 2.7).

Таблица 2.7 - Характеристика показателей, исследуемых методом проточной цитометрии

Показатели	
CD45+CD3+CD4+	Т-хелперы, абс.
CD4+CD45RA+ CD45RO-	Наивные Т-клетки, %
CD4+ CD45RA-CD45RO+	Покоящиеся Т-клетки памяти,%
CD4+CD45RA+CD45RO+	Активированные Т-клетки памяти,%
CD3/4+/45RA+/62L	Т-хелперы памяти с фенотипом 62L, %
CD3+ HLA-DR+	Активированные Т-лимфоциты, %
CD3+/CD8+/HLA-DR	Активные цитотоксические CD8, %
CD3+/CD8+/ CD38+/HLA-DR	Активные цитотоксические CD8 с ко-экспрессией 38+ и HLA-DR, %

Методом RealTimePCR на аппаратах Roche Taqman 48, Biorad CFX-96 и ДНК-технология ДТ-ПРАЙМ определяли концентрацию РНК ВИЧ (Вирусная нагрузка ВИЧ, копий/мл) с использованием тест-системы компании Abbot Real Time HIV-1, также применялись лицензированные отечественные тест-системы «Реал-Тайм» ПЦР (Центра Молекулярной Диагностики Центрального НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

На бактериологическом анализаторе VITEK-2 compact (BioMerieux, Франция), а также дискодиффузионным методом определены показатели, характеризующие состав и наличие изменений микрофлоры слизистой ротоглотки. На поверхности задней стенки ротоглотки выявляется меньше различий в структуре микробного сообщества по сравнению с другими нишами полости рта, поэтому забор проб микробиома проводился в этом анатомическом участке. Забора мазков проводился по стандартной методике с последующим проведением качественно-количественного анализа состава микробиоты. При проведении исследования пациенты не получали антибактериальные и противогрибковые препараты. Для выделения микроорганизмов применяли

дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, Сабуро, Эндо, желточно-солевой агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск, Россия), UriSelect-4 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Идентификацию условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) также осуществляли на базе MS Microflex Biotyper MALDI-ToF (Bruker, Германия). Для доказательства диагностической значимости выделенных УПМ руководствовались следующими критериями: присутствие бактерий в биологическом материале мазка с задней стенки ротоглотки в количестве не менее 10^4 КОЕ/ мл [210].

За норму были приняты показатели микробиоты ротоглотки 25 условно здоровых лиц, сопоставимых с клиническими группами по возрасту и полу.

Все полученные результаты были статистически обработаны с применением программы SPSS Statistics Base 22.0. Использовали следующие статистические методы: дисперсионный однофакторный анализ; критерий Стьюдента, включая парный и для относительных показателей; бинарную логистическую регрессию (ROC-кривая); коэффициент корреляции Пирсона. Величину уровня значимости p принимали равной 0,05, что соответствует критериям, принятым в медико-биологических исследованиях. Проводили определение средних и медианных величин, ошибки средней, стандартного отклонения, наличия и силы корреляции. Определение достоверности различий при сравнении двух групп из совокупностей с нормальным распределением проводили с помощью t -критерия Стьюдента. Анализ зависимости количественных признаков выборочных данных из совокупностей с нормальным распределением осуществлялся с применением коэффициента корреляции Пирсона.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И АКТИВАЦИИ ИММУНИТЕТА НА ТЕЧЕНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

3.1. Оценка выраженности системного воспалительного ответа в общей когорте больных ВИЧ-инфекцией

Роль иммунной гиперактивации и системного воспаления в патогенезе ВИЧ в последние годы становится все более очевидной. Однако нет единого мнения о причинах возникновения этих процессов, терапевтические подходы для их снижения не определены. До сих пор отсутствует единое мнение о надежности используемых биомаркеров и их диагностической значимости. Так как LBP является одним из главных участников в запуске врожденного иммунного ответа на присутствие эндотоксина (распознавание, связывание, транспортировка к клеточным рецепторам, ответственным за реализацию защитных механизмов), ряд исследователей допускают возможность определения LBP в качестве маркера эндотоксинемии [219; 244; 96].

Согласно результатам проведенного исследования, концентрация LBP у больных ВИЧ-инфекцией определялась в диапазоне от 20,0 до 213,5 мкг/мл, Таблица 3.1.

Таблица 3.1 - Уровни маркеров системного воспаления в сыворотке

Показатель	Больные ВИЧ-инфекцией M±m [min-max] n=276	Контрольное значение у здоровых лиц n=25	p
LBP (мкг/мл)	77,5±2,4 [20-213,5]	6,2±1,53 [4,4-10]	< 0,001
ПКт (нг/мл)	0,08±0,004 [0,03-0,5]	0,01±0,001 [0-0,1]	< 0,001
IL-1β (пг/мл)	4,8±0,4 [1,1-42]	1,6±0,6 [0-11]	< 0,001
TNF-α (пг/мл)	2,4±0,06 [0,8-5,0]	0,5±0,1 [0-6]	< 0,001
IL6 (пг/мл)	4,6±0,3 [0,3-30,6]	2,0±0,8 [0-10]	< 0,01
IL8 (пг/мл)	17,8±1,4 [0,8-149,4]	2,0±0,5 [0-10]	< 0,001
IL10 (пг/мл)	6,3±0,3 [3,4-25,9]	5,0±1,4 [0-31]	> 0,05
INF-α (пг/мл)	9,9±0,5 [1,1-95,6]	1,8±0,1 [0-5]	< 0,001
INF γ (пг/мл)	28±2,5 [1,8-380]	2,0±0,3 [0-10]	< 0,001

У исследуемых пациентов при сравнении со здоровыми лицами выявлено достоверное превышение средних значений концентрации LBP ($77,5 \pm 2,4$ против $6,2 \pm 1,53$ мкг/мл, $p < 0,001$).

Концентрация IL-1 β определялась на уровне от 1,1 до 42 пг/мл. У больных ВИЧ-инфекцией обнаружено достоверное превышение средних значений уровня IL-1 β по сравнению со здоровыми лицами ($4,8 \pm 0,4$ против $1,6 \pm 0,6$ пг/мл, $p < 0,001$, Таблица 3.1).

Провоспалительный цитокин TNF- α , по своей биологической активности близкий к IL-1 β , определялся в исследуемой когорте больных в диапазоне 0,8-5,0 пг/мл без превышения максимального значения нормы (6 пг/мл). Вместе с тем средние значения анализируемого показателя у больных ВИЧ-инфекцией были на достоверно более высоком уровне при сравнении со здоровыми лицами ($p < 0,001$).

Концентрация IL-6 в большинстве исследуемых образцов (92,0%) не превышала верхнего значения у здоровых людей (0-10 пг/мл; $M = 2,0$ пг/мл), однако средний ее уровень с достоверностью $p < 0,01$ был выше референсных значений (Таблица 3.1).

В настоящее время IL-8 является ведущим медиатором неспецифической защиты организма. Его средний уровень концентрации в исследуемой когорте пациентов составил $17,8 \pm 1,4$ пг/мл, что значительно выше контрольных значений $2,0 \pm 0,5$ пг/мл ($p < 0,001$, Таблица 3.1).

Диапазон концентраций IL-10 составил от 3,4 до 25,9 пг/мл, причем среднее значение анализируемого показателя у больных ВИЧ-инфекцией не превышало верхнюю границу референсных значений (до 31 пг/мл).

Концентрации интерферона-альфа (INF- α) и интерферона-гамма (INF- γ), играющих ведущую роль в противовирусной защите организма, оказались существенно повышенными (> 5 и > 10 пг/мл, соответственно) у большинства пациентов. Содержание INF- α колебалось в пределах 1,1–95,6 пг/мл, составив в среднем $9,9 \pm 0,5$ пг/мл, при референсных значениях $1,8 \pm 0,1$ пг/мл ($p < 0,001$), Таблица 3.1.

Уровень продукции INF- γ в исследуемой группе был в диапазоне от 1,8 до 380,0 пг/мл и его средний уровень также достоверно превышал показатели здоровых лиц ($p < 0,001$).

Значения концентрации ПКТ в исследуемой когорте определялись в диапазоне от 0,03 до 0,5 нг/мл. Анализируя средний уровень данного показателя у больных ВИЧ-инфекцией, выявлено его превышение по сравнению с контрольными значениями ($0,08 \pm 0,004$ против $0,01 \pm 0,001$, $p < 0,001$, Таблица 3.1).

При проверке гипотез о наличии связей между переменными с использованием коэффициентов корреляции по Пирсону были выявлены данные о взаимосвязи содержания LBP, отражающего выраженность антиэндоксиновой защиты, с уровнем ключевых провоспалительных цитокинов (Таблица 3.2):

- сильного уровня (r больше или равно 0,7) с IL-6
- среднего уровня ($r=0,5-0,69$) с INF- γ и INF- α
- слабого уровня ($r=0,2-0,49$) с TNF- α

Таблица 3.2 - Взаимосвязь между маркерами системного воспалительного ответа (r , корреляция по Пирсону)

	LBP	IL-1 β	TNF- α	ПКТ	IL-6	IL-10	IL-8	INF- α	INF- γ
LBP	1,00	0,10	0,3*	0,02	0,7**	-0,002	0,06	0,5**	0,6**
IL-1 β	0,10	1,00	0,04	0,04	0,3**	0,4**	0,10	0,1	0,3**
TNF- α	0,3*	0,04	1,00	0,1	0,03	0,4**	0,10	0,3**	0,2*
ПКТ	0,02	0,04	0,1	1,00	0,02	0,1	0,20	0,1	0,04
IL-6	0,7**	0,3**	0,03	0,02	1,00	0,4**	0,1	0,02	0,3**
IL-10	0,002	0,4**	0,4**	0,1	0,4**	1,00	0,10	0,3*	0,6**
IL-8	0,06	0,10	0,1	0,2	0,10	0,1	1,00	0,1	0,1
INF- α	0,5**	0,05	0,3**	0,1	0,02	0,3*	0,1	1,00	0,1
INF- γ	0,6**	0,3**	0,3*	0,04	0,3**	0,6**	-0,1	0,1	1,00

* - корреляция значима на уровне 0,05 (двухсторонняя).

** - корреляция значима на уровне 0,01 (двухсторонняя).

Результаты нашего исследования, свидетельствующие о значительно повышенной концентрации LBP у больных ВИЧ-инфекцией, подтверждают, что у

данной категории пациентов наблюдается активация LPS-индуцированного антиэндотоксинового ответа, приводящая к гиперактивационным процессам иммунной системы и способствующая формированию системного воспаления.

Содержание большинства исследуемых маркеров системного воспаления (IL1 β , IL8, IL6, TNF- α , ПКТ, INF- α и INF- γ) определялись на значительно повышенном уровне у большинства пациентов, что является крайне неблагоприятным фактором для пациентов с поздними стадиями ВИЧ-инфекции и выраженным иммунодефицитным состоянием [36; 220]. У больных ВИЧ-инфекцией, включенных в наше исследование, только концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 соответствовала аналогичным показателям у здоровых лиц.

Влияние АРТ на выраженность системного воспалительного ответа у больных ВИЧ-инфекцией

Антиретровирусная терапия позволяет контролировать вирусную репликацию у больных ВИЧ-инфекцией, но вопросы влияния АРТ на выраженность системного воспаления остаются предметом изучения. Согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, с целью изучения влияния АРТ на активность системного воспаления пациенты были распределены на 2 группы: 1-я группа - принимали АРТ, n=201; 2-я группа – не принимали АРТ, n= 75.

Согласно данным нашего исследования, средний уровень концентрации LBP в 1-й группе больных (получающих АРТ) составил $79,8 \pm 3,1$ мкг/мл, во 2-й группе пациентов (не получающих АРТ) – $70,0 \pm 3,7$ мкг/мл; $p < 0,05$; Таблица 3.3, Рисунок 3.1.

По сравнению с пациентами из 1-ой группы во 2-й группе больных ВИЧ-инфекцией оказались повышенными средние уровни содержания IL-8 и IL-6: $22,2 \pm 2,2$ пг/мл и $5,6 \pm 0,5$ пг/мл против $16,2 \pm 1,4$ пг/мл и $4,3 \pm 0,3$ пг/мл, соответственно ($p < 0,05$). Также во 2-ой группе больных (не получающих АРТ, «наивных» пациентов) был повышен уровень концентрации INF- γ по сравнению с 1-й группой – $34,2 \pm 2,6$ пг/мл против $26,6 \pm 2,7$ пг/мл ($p < 0,05$).

При сравнении средних значений других маркеров воспаления достоверных различий между группами не было получено, Таблица 3.3.

Таблица 3.3 - Влияние АРТ на уровни маркеров системного воспаления в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией (средние значения и ошибка средней $M \pm m$)

Показатель	Группа 1 (получающие АРТ) n=201	Группа 2 (не получающие АРТ) n=75	Значение t-критерия Стьюдента	p
LBP (мкг/мл)	79,8±3,1	70,0±3,7	2,03	p<0,05
ПКТ (нг/мл)	0,075±0,005	0,08±0,009	-0,49	p>0,05
IL-1β (пг/мл)	4,5±0,4	5,4±0,9	-0,91	p>0,05
TNF-α (пг/мл)	2,4±0,06	2,5±0,1	-0,86	p>0,05
IL-6 (пг/мл)	4,3±0,3	5,6±0,5	-2,2	p<0,05
IL-8 (пг/мл)	16,2±1,4	22,2±2,2	-2,3	p<0,05
IL-10 (пг/мл)	6,1±0,4	7,1±0,6	-1,39	p>0,05
INF-α (пг/мл)	9,4±0,6	11,1±1,2	-1,27	p>0,05
INF-γ (пг/мл)	26,6±2,7	34,2±2,6	-2,03	p<0,05

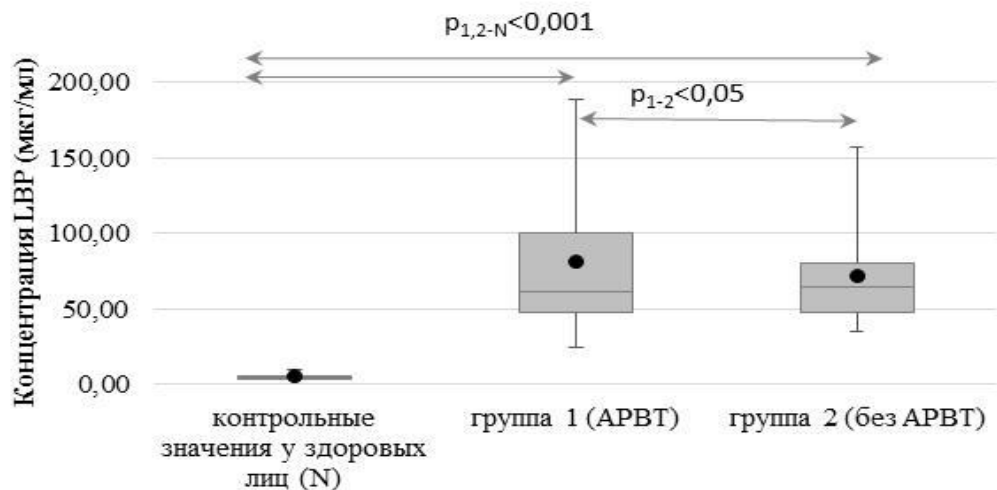


Рисунок 3.1 - Концентрация LBP в группах больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от приема АРТ

Больные ВИЧ-инфекцией с повышенным уровнем маркеров системного воспаления, даже с подавленной репликацией ВИЧ на фоне АРТ, подвергаются более высокому риску смертности в связи с развитием печеночной, метаболической, почечной и сердечно-сосудистой патологии и дальнейшее изучение их роли при ВИЧ-инфекции расширит знания о патогенезе и терапии ВИЧ.

Иммунологические аспекты системного воспалительного ответа у больных ВИЧ-инфекцией.

Хроническая иммунная активация приводит к прямому повреждению лимфоидных тканей, что, в свою очередь, способствует неспособности регенерировать Т-клетки и общему снижению функции адаптивной и врожденной иммунной систем. В результате иммунной активации развивается прогрессирующая гибель CD4⁺ Т-лимфоцитов и нарушается ВИЧ-специфический иммунный ответ. Согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, с целью изучения влияния выраженности иммунодефицита на активность системного воспаления пациенты были распределены по абсолютному числу CD4⁺ Т-лимфоцитов, кл. в мкл на две группы: 1-я группа - до 350 кл. в мкл, n=84; 2-я группа – больше или равно 350 кл. в мкл, n=192.

Средний уровень концентрации LBP в 1-й группе больных составил $89,2 \pm 5,2$ мкг/мл, во 2-й группе – $72,4 \pm 2,6$ мкг/мл; $p < 0,05$; Таблица 3.4, Рисунок 3.2.

В 1-ой группе больных, с низким уровнем CD4⁺ Т-лимфоцитов (менее 350 кл. в мкл), средние уровни ПКТ, IL-10 и IL-6 оказались повышенными по сравнению с пациентами из 2-й группы: $0,09 \pm 0,008$ нг/мл; $7,4 \pm 0,6$ пг/мл и $5,8 \pm 0,7$ пг/мл против $0,07 \pm 0,005$ нг/мл; $5,9 \pm 0,4$ пг/мл и $4,1 \pm 0,3$ пг/мл, соответственно ($p < 0,05$). Кроме того, в 1-ой группе больных ВИЧ-инфекцией определялся повышенный уровень INF- γ по сравнению с 2-й группой – $34,3 \pm 3,3$ пг/мл против $25,3 \pm 3,0$ пг/мл ($p < 0,05$).

При сравнении средних значений других маркеров воспаления достоверных отличий между группами не было получено, Таблица 3.4.

Таблица 3.4 - Влияние иммунного статуса на уровни маркеров системного воспаления в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией (средние значения и ошибка средней $M \pm m$)

Показатель	Группа 1 (CD4+ до 350 кл. в мкл) n=84	Группа 2 (CD4+ более 350 кл. в мкл) n=192	Значение t-критерия Стьюдента	p
LBP (мкг/мл)	89,2±5,2	72,4±2,6	2,89	<°0,05
IL6 (пг/мл)	5,8±0,7	4,1±0,3	2,23	<°0,05
IL8 (пг/мл)	18,2±2,4	17,6±1,7	0,20	>°0,05
IL-1β (пг/мл)	4,4±0,5	5,0±0,5	-0,85	>°0,05
ПКт (нг/мл)	0,09±0,008	0,07±0,005	2,12	<°0,05
IL10 (пг/мл)	7,4±0,6	5,9±0,4	2,08	<°0,05
TNF-α (пг/мл)	2,5±0,1	2,4±0,07	0,82	>°0,05
INF-α (пг/мл)	10,0±1,0	9,8±0,6	0,17	>°0,05
INF-γ (пг/мл)	34,3±3,3	25,3±3,0	2,02	<°0,05

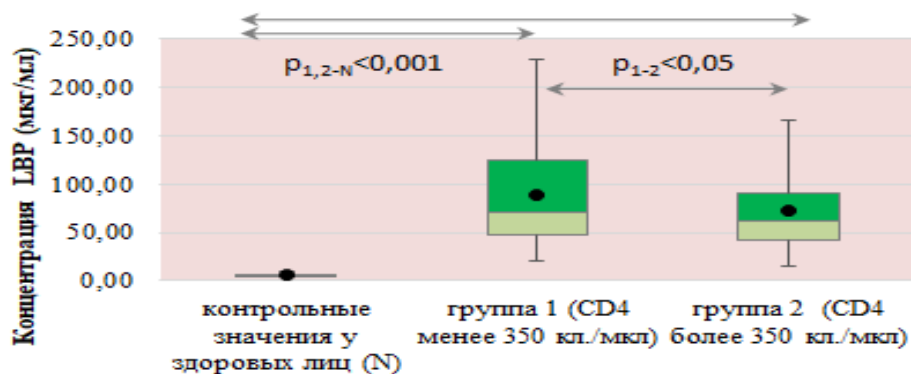


Рисунок 3.2 - Сравнительный анализ уровня LBP в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от уровня CD4+ Т-лимфоцитов

Между уровнем CD4+ Т-лимфоцитов и содержанием LBP в крови была выявлена сильная обратная корреляционная связь (1 группа $r=-0,75$; 2 группа $r=0,7$; Таблица 3.5; Рисунок 3.3; 3.4).

Таблица 3.5 - Взаимосвязь между уровнем CD4+ Т-лимфоцитов в крови и показателями системного воспаления (г, корреляция по Пирсону)

Показатели системного воспаления	Сила корреляционной связи (г) уровней маркеров системного воспаления и CD4+ (кл. в мкл)	
	Группа 1	Группа 2
LBP (мкг/мл)	-0,75	-0,7
IL6 (пг/мл)	-0,3	0,3
IL8 (пг/мл)	-0,04	-0,3
TNF- α (пг/мл)	0,1	0,006
ПКТ (нг/мл)	0,1	-0,2
IL-1 β (пг/мл)	0,014	0,5
IL10 (пг/мл)	-0,4	0,35
INF- γ (пг/мл)	0,03	0,05
INF- α (пг/мл)	-0,2	-0,06

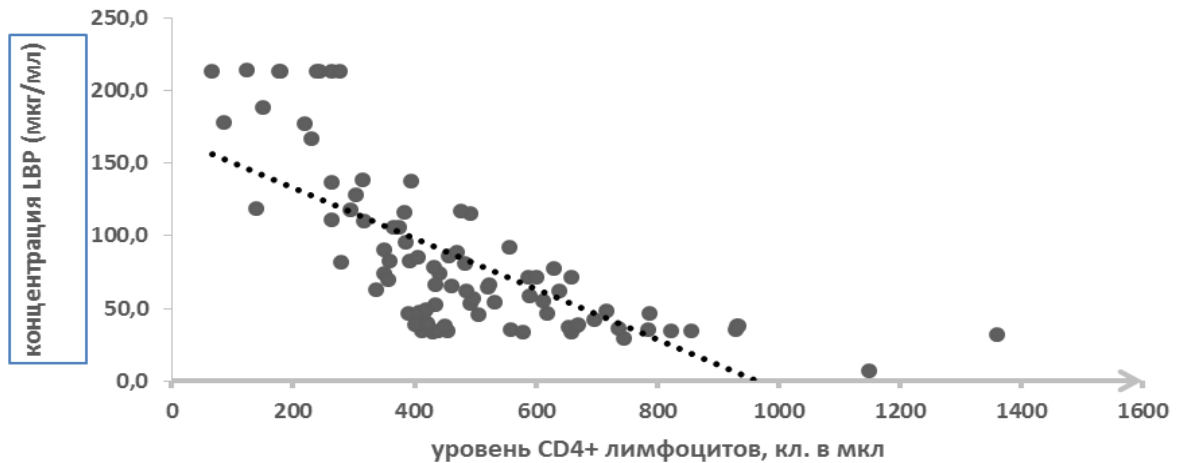


Рисунок 3.3. - Взаимосвязь между уровнем CD4+ лимфоцитов в крови и LBP (г, корреляция по Пирсону), группа 1

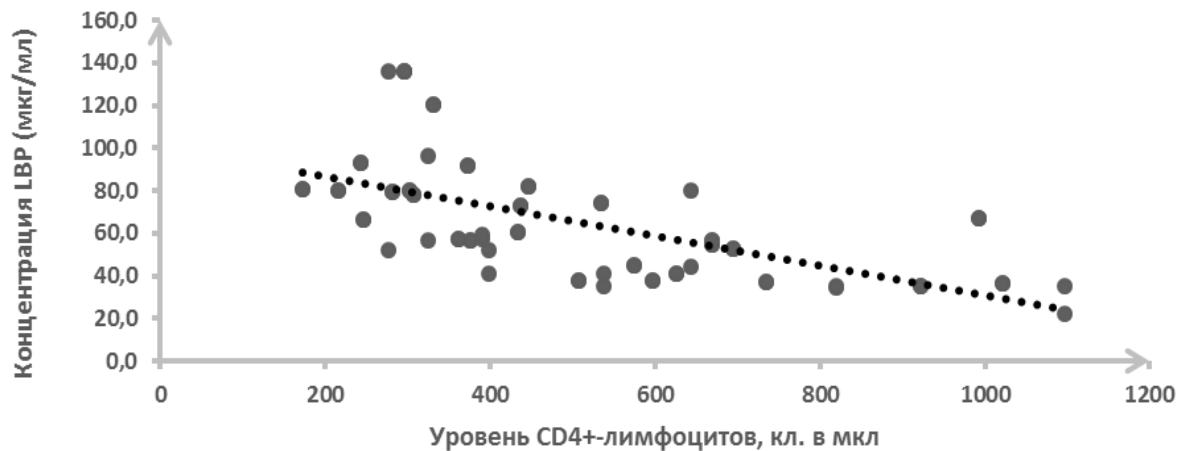


Рисунок 3.4. - Взаимосвязь между уровнем CD4+ лимфоцитов в крови и LBP (г, корреляция по Пирсону), группа 2

Анализ определения наличия взаимосвязей между уровнем CD4+ Т-лимфоцитов и концентрацией IL-6 в 1-й группе пациентов позволил выявить обратную корреляционную связь слабого уровня ($r=-0,3$). Во 2-ой группе корреляционная связь имела противоположное положительное направление ($r=0,3$); Таблица 3.5.

Данные корреляционной зависимости уровней IL-10 и CD4+-лимфоцитов в исследуемых группах пациентов свидетельствуют о наличии отрицательной обратной связи слабого уровня: в 1-ой группе – $r=-0,4$; во 2-ой – $r=0,35$.

Количественный маркер антиэндоксинного ответа четко продемонстрировал зависимость уровня выработки LBP от выраженности иммунодефицита у больных ВИЧ-инфекцией, о чем свидетельствует обратная корреляционная связь сильного уровня между содержанием CD4+ Т-лимфоцитов и концентрацией LBP в крови.

Выраженность системного воспалительного ответа в зависимости от уровня репликации РНК ВИЧ в крови у больных ВИЧ-инфекцией

У больных ВИЧ-инфекцией сохраняется остаточная иммунная активация даже на фоне эффективной АРТ с длительным подавлением репликации ВИЧ, что повышает риск развития оппортунистических и сопутствующих заболеваний [80; 134; 37]. Механизм влияния стойкой остаточной виремии ВИЧ на иммунную активацию, системное воспаление и микробную транслокацию в настоящее время не ясен. Предполагается, что низкий уровень вирусной репликации с постоянным присутствием вируса может препятствовать восстановлению иммунной системы и нормализации показателей системного воспалительного ответа. Для изучения диагностической значимости маркеров системного воспаления при ВИЧ-инфекции в зависимости от уровня вирусной репликации ВИЧ согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, пациенты были распределены на 3 группы по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови, копий/мл (1-я группа - до 50 копий/мл, $n=173$; 2-я группа 50-100 тыс. копий/мл, $n=47$; 3-я группа – более 100 тыс. копий/мл, $n=56$).

Средний уровень концентрации LBP в 1-й группе пациентов составил $61,5 \pm 2,3$ мкг/мл, во 2-й группе – $65,5 \pm 6,6$ мкг/мл; в 3-й группе – $77,5 \pm 6,4$ мкг/мл (Рисунок 3.5.).

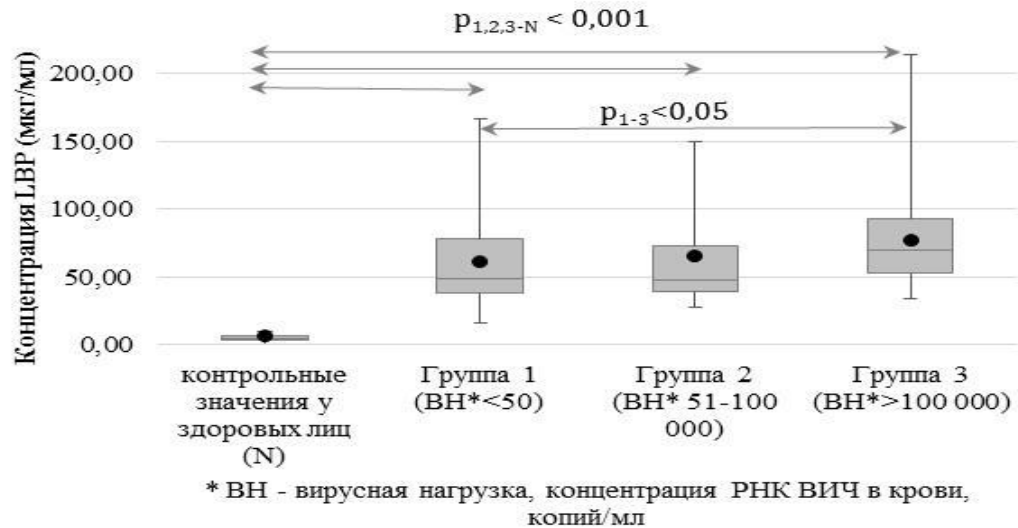


Рисунок 3.5 - Сравнительный анализ уровня LBP в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от уровня вирусной репликации ВИЧ

У больных ВИЧ-инфекцией всех 3-х групп обнаружено достоверное превышение среднего уровня LBP по сравнению со здоровыми людьми ($6,2 \pm 1,53$ мкг/мл, $p_{n-1}, p_{n-2}, p_{n-3} < 0,001$). В 3-й группе по сравнению с 1-й уровень LBP был существенно выше ($p < 0,05$). Во 2-й и 3-й группах между содержанием вирусной РНК и концентрацией LBP определялась корреляционная связь средней силы ($r=0,4$).

Среднее значение концентрации IL-1 β в 1-й группе пациентов составляло $5,83 \pm 0,7$ пг/мл, во 2-й группе – $5,82 \pm 1,5$ пг/мл, тогда как в 3-й группе – $7,91 \pm 1,5$ ($p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$) (Таблица 3.6). У пациентов всех 3-х групп обнаружено повышенное среднее значение концентрации IL-1 β по сравнению со здоровыми людьми ($1,6 \pm 0,6$ пг/мл, $p_{n-1} < 0,01$; $p_{n-2} < 0,05$; $p_{n-3} < 0,001$).

Таблица 3.6 - Уровни маркеров системного воспаления в группах больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови ($M \pm m$)

Показатель	Группа 1, n=173	Группа 2, n=47	Группа 3, n=56	Контрольное значение у здоровых лиц	p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃	P _{N-1}	P _{N-2}	P _{N-3}
LBP (мкг/мл)	61,51±2,3	65,5±6,6	77,52± 6,4	6,2±1,53	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
ПКТ (нг/мл)	0,04±0,01	0,07± 0,012	0,05± 0,03	0,01±0,001	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,01	< 0,001	< 0,05
IL-1β (пг/мл)	5,83±0,7	5,82±1,5	7,91±1,5	1,6±0,6	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,001
TNF-α (пг/мл)	2,31±0,08	2,5±0,2	3,09±0,2	0,5±0,1	> 0,05	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
IL-6 (пг/мл)	3,9±0,5	3,71±0,6	5,82± 0,85	2,0±0,8	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,01
IL8 (пг/мл)	17,3±1,8	14,01± 2,5	14,9±2,6	2,0±0,5	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
IL10 (пг/мл)	6,2±0,5	6,15±0,7	8,41±0,8	5,0±1,4	> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
INF-α (пг/мл)	7,45±0,3	8,3±0,4	12,86± 1,2	1,8±0,1	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
INF-γ (пг/мл)	21,4±3,2	22,3±2,7	30,9±3,3	2,0±0,3	> 0,05	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Средний уровень концентрации TNF-α в 1-й, 2-й и 3-й группах больных ВИЧ-инфекцией составлял, 2,31±0,08 пг/мл, 2,5±0,2 пг/мл и 3,09±0,2, соответственно (Таблица 3.6). В 3-й группе средний уровень TNF-α был существенно выше по сравнению с 1-й и 2-й группами ($p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$). У пациентов всех 3-х групп средний уровень TNF-α был значительно выше по сравнению с референсными значениями (0,5±0,1 пг/мл, $p_{N-1, N-2, N-3} < 0,001$).

Среднее значение концентрации IL-6 в 1-й группе больных ВИЧ-инфекцией был на уровне 3,9±0,5 пг/мл, во 2-й группе – 3,71±0,6 пг/мл, в 3-й группе – 5,82±0,85 пг/мл, диапазон значений в 3-х исследуемых группах пациентов – от 0,5 до 30,6 пг/мл (Таблица 3.6). Сравнение средних значений показало, что содержание IL-6 было на достоверно более высоком уровне в 3-й группе пациентов по сравнению со 2-й ($p_{2-3} < 0,05$). Также у больных 3-й группы обнаружено достоверное превышение среднего уровня концентрации IL-6 по отношению к референсным значениям (2,0±0,8 пг/мл, $p_{N-3} < 0,01$).

Среднее значение концентрации IL-8 в 1-й группе больных ВИЧ-инфекцией составляло 17,3±1,8 пг/мл, во 2-й группе – 14,01±2,5 пг/мл, 3-й группе – 14,9±2,6

пг/мл ($p > 0,05$), варьируя в трех группах в пределах от 0,8 до 149,4 пг/мл (Таблица 3.6). Показатели содержания IL-8 были выше контрольных значений здоровых лиц (0-10 пг/мл) - у 22,3% больных из 1-ой группы, у 26,5% - из 2-ой группы и у 47,1% - из 3-ей группы пациентов. Обнаружены достоверные различия с референсными значениями при сравнении средних уровней содержания IL-8 во всех 3-х группах ($2,0 \pm 0,5$ пг/мл, $p_{n-1, n-2, n-3} < 0,001$).

Диапазон значений содержания INF- α составлял 1,1–95,6 пг/мл. При анализе средних значений получены следующие данные: в 1-й группе - $7,45 \pm 0,3$ пг/мл, во 2-й группе - $8,3 \pm 0,4$ пг/мл в 3-й группе $12,86 \pm 1,2$ пг/мл при контрольных значениях 0–5 пг/мл; $M = 1,8$ пг/мл. При сравнении данных 3-й группы с 1-й и 2-й группами средний уровень INF- α был на существенно более высоком уровне ($p_{1-3, 2-3} < 0,001$, Рисунок 3.6). Частота выявления повышенных значений INF- α (процентное содержание количества больных с превышением верхнего значения референсного значения INF- α среди всех пациентов исследуемой группы) в 1-й группе составила - $84,8 \pm 4,0\%$, во 2-й - $88,2 \pm 3,9\%$, в 3-й - $99,1 \pm 1,1\%$.

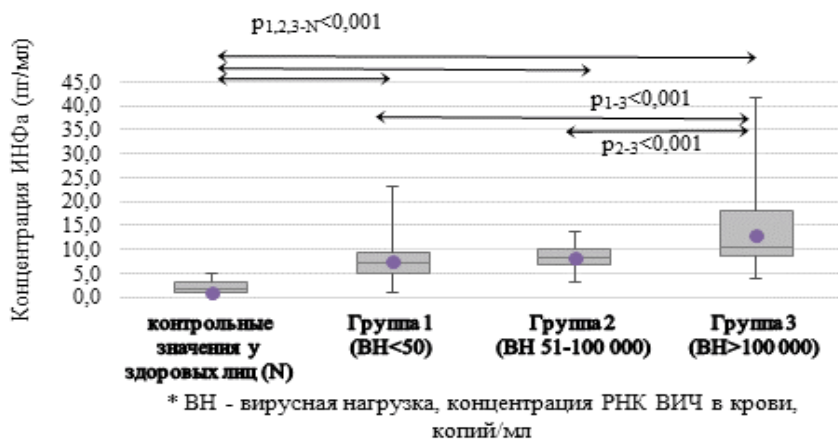


Рисунок 3.6 - Сравнительный анализ концентрации INF- α в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией 1, 2 и 3 групп

Среднее значение INF- γ в 1-ой группе - $21,4 \pm 3,2$ пг/мл, во 2-й группе - $22,3 \pm 2,7$ пг/мл в 3-й - $30,9 \pm 3,3$ пг/мл. В 3-й и 2-й группах по сравнению с 1-й группой уровень INF- γ был значительно выше (достоверность различий составила $p_{1-3} < 0,001$ и $p_{2-3} < 0,05$). Превышение верхнего значения нормы INF- γ (0–10 пг/мл;

М = 2 пг/мл) зарегистрировано у 50,9% пациентов 1-й группы, у 52,9% - 2-й группы и у 85,3% - 3-й группы. У пациентов всех 3-х групп средняя концентрация INF- γ была на достоверно более высоком уровне по сравнению со здоровыми людьми (достоверность различий составила $2,0 \pm 0,3$ пг/мл, $p_{n-1, n-2, n-3} < 0,001$) (Рисунок 3.7).

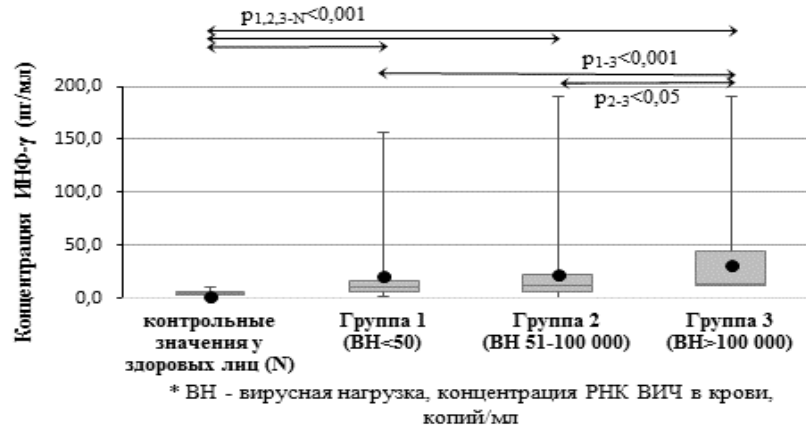


Рисунок 3.7. - Сравнительный анализ концентрации INF- γ в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией 1, 2 и 3 групп

В исследуемой когорте больных ВИЧ-инфекцией уровень концентрации ПКТ не превышал максимального значения контрольной группы в большинстве случаев (не выше 0,1 нг/мл). Анализ сравнения средних уровней концентрации ПКТ у больных ВИЧ-инфекцией (в 1-й группе она составила $0,04 \pm 0,01$ нг/мл, во 2-ой группе – $0,07 \pm 0,012$ нг/мл и в 3-ей группе – $0,05 \pm 0,02$ нг/мл) показал, что у пациентов из всех 3-х групп он был на достоверно более высоком уровне по сравнению со здоровыми лицами ($0,01 \pm 0,01$ нг/мл, $p_{N-1, N-2, N-3} < 0,001$) (Таблица 3.6).

Согласно полученным данным, средние значения концентрации IL-10 в 1-й группе были на уровне $6,2 \pm 0,5$ пг/мл, во 2-й группе – $6,15 \pm 0,7$ пг/мл, во 3-й группе – $8,41 \pm 0,8$ пг/мл. При сравнении между группами было выявлено превышение среднего уровня концентрации IL-10 в 3-й группе по сравнению с 1-й и 2-й группами ($p_{1-3}, p_{2-3} < 0,05$) (Таблица 3.6). При сравнении с референсными значениями обнаружено достоверное превышение среднего уровня IL-6 у пациентов 3-й группы ($5,0 \pm 1,4$ пг/мл, $p_{n-3} < 0,05$).

Важно отметить, что данные проведенного исследования показывают, что у пациентов с неопределяемым уровнем репликацией ВИЧ на фоне АРТ определялись более низкие уровни LBP, чем у пациентов с детектируемым уровнем виремии ВИЧ [221; 120]. Достоверное превышение концентрации LBP по сравнению с референсными значениями выявлено у пациентов всех трех групп [36]. Благодаря количественному определению маркера выраженности антиэндотоксинового ответа LBP, выявлена зависимость активности антиэндотоксиновой защиты от уровня репликации ВИЧ, о чем свидетельствует обнаруженная корреляционная связь средней силы между уровнем вирусной нагрузки ВИЧ и содержанием LBP в крови в группах больных ВИЧ-инфекцией с определяемым уровнем виремии ВИЧ.

Выявлено значительное повышение концентрации $\text{INF-}\gamma$ и $\text{INF-}\alpha$ у большинства пациентов, что является неблагоприятным фактором для пациентов с поздними стадиями ВИЧ-инфекции. Важно, что более выраженным повышение концентраций $\text{INF-}\gamma$ и $\text{INF-}\alpha$ оказалось в группах пациентов с определяемым уровнем репликации ВИЧ. Среднее значение концентраций цитокинов IL6, IL8, IL10, IL-1 β , TNF- α были выше во 2-й и 3-й группах пациентов по сравнению с 1-й группой, но корреляционной связи между данными показателями и концентрацией РНК ВИЧ не было установлено. Тем не менее, обнаружено, что у пациентов 3-й группы средний уровень концентрации TNF- α , IL10, $\text{INF-}\alpha$ и $\text{INF-}\gamma$ был достоверно выше, чем у пациентов из 1-й группы.

Таким образом, результаты проведенного исследования подтверждают, что подавление репликации РНК ВИЧ связано с более с низким уровнем таких маркеров, как LBP, TNF- α , IL-6, IL10, $\text{INF-}\alpha$ и $\text{INF-}\gamma$. Однако отсутствие нормализации маркеров микробной транслокации и системного воспаления у пациентов с устойчивой необнаруживаемой виремией на фоне АРТ доказывает, что необходимо дальнейшее изучение механизмов формирования иммунной активации с целью разработки дополнительных терапевтических подходов для коррекции антиэндотоксинового иммунитета и повышения эффективности лечения ВИЧ-инфекции.

3.2. Взаимосвязь системного воспалительного ответа и показателей клеточного иммунитета

Даже после многолетнего подавления репликации ВИЧ с помощью современной АРТ, не удастся достичь полного восстановления иммунной системы, что диктует необходимость дальнейшего изучения патогенеза ВИЧ-инфекции [80]. Развивающийся иммунодефицит при ВИЧ-инфекции сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляций Т-лимфоцитов [178; 140]. HLA-DR⁺ относится к антигенам комплекса гистосовместимости (МНС) класса II, участвующих в презентации потенциально чужеродных антигенов, что является необходимым для формирования адекватного иммунного ответа [61].

Фенотипирование лимфоцитов показало, что у больных ВИЧ-инфекцией значительно повышен процент клеток CD3⁺HLA-DR⁺, представляющих собой зрелые активированные Т-лимфоциты [262]. Среднее значение процентного количества этих клеток в исследуемой когорте пациентов составило $53,9 \pm 1,3$, тогда как референсное значение составляет $4,0 \pm 1,0$ ($p < 0,001$).

Экспрессия поверхности клеток различных изоформ молекулы CD45 позволяет классифицировать CD4⁺ Т-лимфоциты человека на наивные, клетки памяти и активированные клетки. Субпопуляция CD4⁺CD45RA⁻CD45R0⁺ Т-лимфоцитов относится к Т-клеткам памяти, CD4⁺CD45RA⁺CD45R0⁻ – к наивным Т-клеткам, а CD45RA⁺CD45R0⁺ – к активированным Т-клеткам. Подобное разделение основано исключительно на способности Т-клеток памяти активно отвечать на повторный контакт со специфическим антигеном *in vitro*. Определение поверхностных иммунологических маркеров у ВИЧ-иницированных пациентов позволило выявить значительные изменения по сравнению со здоровыми лицами: достоверно снижалось относительное количество CD4⁺ Т-лимфоцитов наивных (CD4⁺ CD45RA⁺) до $14,9 \pm 1,2\%$ на фоне повышения

активированных CD4⁺ Т-лимфоцитов памяти (CD4⁺ CD45R0⁺) до 50,6±1,4% (p < 0,001) (Таблица 3.7).

Таблица 3.7 - Уровни экспрессии некоторых CD-рецепторов на Т-лимфоцитах крови у больных ВИЧ-инфекцией (n=276)

Показатель, %	Среднее значение	Контрольное значение у здоровых лиц*	p
Т - хелперы наивные CD4 ⁺ CD45RA ⁺	14,9±1,2 [0-84,8]	30,0±5,0	< 0,001
Т - хелперы активированные/памяти CD4 ⁺ CD45R0 ⁺	50,6±1,4 [13,9-97,1]	17,5±5,0	< 0,001
Активированные Т-хелперы с фенотипом CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /RA ⁺ /RO ⁺	0,1±0,1 [0-8,8]	5,0±0,5	< 0,001
Т-хелперы наивные CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /45RA ⁺ /62L ⁺	21,1±3,3 [0-85]	43,0±1,8	< 0,001
Активированные Т-лимфоциты с фенотипом CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	53,9±1,3 [3,4-99,1]	4,0±1,0	< 0,001
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺)	60,3±1,45 [0,2-99,9]	35,0±5,0	< 0,01
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером HLA-DR ⁺ (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /HLA-DR ⁺)	21,8±1,0 [2-76,1]	11,0±0,8	< 0,001
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с коэкспрессией CD38 ⁺ и HLA-DR ⁺ (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺ /HLA-DR ⁺)	22,4±1,1 [0,9-81,3]	3,9±0,1	< 0,001

*- средние значения и ошибка средней M±m

При этом оказалось, что у больных ВИЧ-инфекцией снижено содержание наивных Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD62L до 21,1±3,3, по сравнению с контрольным значением здоровых людей.

При различных патологических процессах (инфекционного, аутоиммунного или онкологического генеза) на поверхности активированных цитотоксических Т-клеток появляются антигены CD38 и HLA-DR [61]. У исследуемых больных ВИЧ-инфекцией обнаружены изменения фенотипа CD8⁺ Т-лимфоцитов с достоверным превышением относительного количества клеток с маркерами CD38⁺ или HLA-DR⁺, а также с одновременной экспрессией CD38⁺ и HLA-DR⁺ по сравнению со здоровыми лицами (p < 0,001) (Таблица 3.7). Учитывая, что количество активированных Т-клеток с экспрессией маркеров активации CD38 и HLA-DR на

CD8⁺Т-лимфоцитах коррелирует со скоростью прогрессирования ВИЧ-инфекции, данный показатель очень важен для клинической практики.

Для выявления причинно-следственных связей, было проведено изучение влияния различных факторов на фенотипические изменения Т-лимфоцитов. Благодаря улучшению доступа к АРТ прогноз у ВИЧ-инфицированных пациентов улучшился, хотя повышенная заболеваемость и смертность сохраняются. Даже на фоне длительного эффективного приема АРТ полного восстановления иммунной системы не происходит. Для изучения влияния АРТ на активацию Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, пациенты были распределены в зависимости от приема АРТ (1-я группа - принимали АРТ, n=201; 2-я группа – не принимали АРТ, n= 75).

У больных ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ (1-я группа), доля наивных Т-клеток CD4⁺CD45RA⁺CD45R0⁻ составила 14,2±1,4%, во второй группе (пациенты, не принимающие АРТ) – 16,6±2,1% (p > 0,05) (Таблица 3.8).

Таблица 3.8 - Результаты фенотипирования Т⁺лимфоцитов в группах больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от приема АРТ (M±m)

Показатель, (%)	Группа 1, n=201 (принимает АРТ)	Группа 2, n=75 (не принимает АРТ)	Контрольное значение у здоровых лиц	p ₁₋₂	p _{1,2-к}
Т - хелперы наивные CD4 ⁺ CD45RA ⁺	14,2±1,4	16,6±2,1	30,0±5,0	> 0,05	< 0,01
Т - хелперы активированные/памяти CD4 ⁺ CD45R0 ⁺	51,4±1,9	48,9±1,9	17,5±5,0	> 0,05	< 0,001
Активированные Т-хелперы с фенотипом CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /RA ⁺ /RO ⁺	0,06±0,05	0,3±0,1	5,0±0,5	< 0,05	< 0,001
Т-хелперы наивные CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /45RA ⁺ /62L ⁺	19,7±1,9	25,0±1,6	43,0±1,8	< 0,05	< 0,001
Активированные Т-лимфоциты с фенотипом CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	50,8±1,5	62,1±2,4	4,0±1,0	< 0,001	< 0,001
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺)	56,7±1,7	69,9±2,5	35,0±5,0	< 0,001	< 0,001
Активированные цитотоксические Т - лимфоциты с маркером HLA-DR ⁺ (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /HLA-DR ⁺)	17,7±1,0	33,2±1,9	11,0±0,8	< 0,001	< 0,001
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с коэкспрессией CD38 ⁺ и HLA-DR ⁺ (CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺ /HLA-DR ⁺)	18,6±1,2	32,9±2,2	3,9±0,1	< 0,001	< 0,001

При изучении популяции наивных Т-клеток с фенотипом 62L (CD4+CD45RA+62L+) также было выявлено их преобладание во второй группе по сравнению с первой ($25,0 \pm 1,6$ и $19,7 \pm 1,9$ соответственно, $p < 0,05$). Т-клетки «памяти» (CD4+CD45RA–CD45R0+) определялись на уровне $51,4 \pm 1,9\%$ у пациентов первой группы и $48,9 \pm 1,9\%$ во второй группе ($p > 0,05$). Уровень активированных Т-клеток (CD45RA+CD45R0+) был достоверно выше во второй группе пациентов по сравнению с первой: $0,3 \pm 0,1\%$ против $0,06 \pm 0,05\%$ ($p < 0,05$).

У больных ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ, отмечалось снижение маркера поздней активации иммунитета CD3+HLA-DR+ ($50,8 \pm 1,5\%$), по сравнению со второй группой «наивных» пациентов ($62,1 \pm 2,4\%$), ($p < 0,001$).

Средние уровни активированных CD8+ Т-клеток были значительно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих АРТ. Доля CD3+CD8+CD38+ составила в первой группе $56,7 \pm 1,7\%$, тогда как во второй группе – $69,9 \pm 2,5\%$ ($p < 0,001$); в первой группе уровень CD3+CD8+HLA-DR+клеток в среднем составил $17,7 \pm 1,0\%$, а во второй группе – $33,2 \pm 1,9\%$ ($p < 0,001$). Как и ожидалось, у ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих АРТ, наблюдалась более высокая доля CD3+CD8+CD38+HLA-DR+клеток, чем у пациентов на АРТ ($18,6 \pm 1,2\%$ против $32,9 \pm 2,2\%$, $p < 0,001$).

ВИЧ-инфекция способствует формированию выраженной активации как врожденного, так и адаптивного иммунитета, стимулирует и поддерживает в организме системное воспаление. У ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне приема АРТ отмечается снижение доли наивных Т-клеток и увеличение уровня Т-клеток памяти. Другими особенностями фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ, является снижение маркера поздней активации иммунитета CD3+HLA-DR, по сравнению со второй группой «наивных» пациентов. Средние уровни активированных CD8+ Т-клеток были значительно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих АРТ. Вместе с тем, полученные данные свидетельствуют о том, что АРТ снижает Т-клеточную активацию, но не нормализует ее.

Результаты фенотипирования Т-лимфоцитов в группах больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови

Для изучения влияния уровня вирусемии на активацию Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, а также в §3.1.3, пациенты были распределены по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови, копий/мл (1-я группа - до 50 копий/мл, n=173; 2-я группа 50-100 тыс. копий/мл, n=47; 3-я группа – более 100 тыс. копий/мл, n=56).

У больных ВИЧ-инфекцией с разным уровнем репликации РНК ВИЧ в крови при изучении популяций наивных Т-клеток CD4+CD45RA+CD45R0- и Т-клеток «памяти» (CD4+CD45RA-CD45R0+) достоверных отличий выявлено не было (Таблица 3.9). Уровень активированных Т-клеток (CD45RA+CD45R0+) был достоверно выше во второй и третьей группах пациентов по сравнению с первой: $0,07 \pm 0,025\%$ и $0,35 \pm 0,06\%$ против $0,01 \pm 0,006\%$, соответственно.

Таблица 3.9 - Результаты фенотипирования Т-лимфоцитов в группах больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови ($M \pm m$).

Показатель, (%)	Группа 1, n=173	Группа 2, n=47	Группа 3, n=56	p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
Т - хелперы наивные CD4+CD45RA+	13,9±1,6	14,7±2,1	17,2±2,4	> 0,05	< 0,05	> 0,05
Т - хелперы активированные/памяти CD4+CD45R0+	51,0±2,1	53,3±3,6	47,7±2,1	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Активированные Т-хелперы с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+	0,01±0,006	0,07±0,025	0,35±0,06	< 0,05	< 0,001	< 0,001
Т-хелперы наивные CD3+/CD4+/45RA+/62L+	20,3±4,2	24,5±7,5	20,0±7,8	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Активированные Т-лимфоциты с фенотипом CD3+ HLA-DR+	50,6±1,5	54,7±3,3	63,3±3,0	> 0,05	< 0,001	< 0,05
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером (CD3+/CD8+/CD38+)	56,8±1,8	60,6±3,8	70,9±3,0	> 0,05	< 0,001	< 0,05
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером HLA-DR+ (CD3+/CD8+/HLA-DR+)	16,4±0,9	27,3±2,7	34,5±2,4	> 0,05	< 0,05	< 0,05
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ (CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR)	17,2±1,1	25,9±3,4	35,9±2,5	< 0,05	< 0,001	< 0,05

Средние уровни активированных CD8+Т-клеток были значительно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов с высокой вирусной нагрузкой ВИЧ. Относительное содержание CD8+ Т-клеток с поверхностными маркерами CD38+, HLA-DR+ и CD38+HLA-DR+ были на достоверно более высоком уровне у пациентов 2-й и 3-й групп с неполным подавлением репликации РНК ВИЧ, по сравнению с 1-ой группой больных с неопределяемой вирусемией ВИЧ (Таблица 3.9).

Вместе с тем, сохраняется повышенное процентное содержание CD8+Т-лимфоцитов, несущих на своей поверхности CD38 и HLA-DR, даже при полном (менее 50 копий/мл) подавлении вирусной репликации ВИЧ. Выявлена прямая взаимосвязь среднего уровня между уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови и содержанием Т-клеток с фенотипами CD3+CD8+HLA-DR+ и CD3+CD8+CD38+HLA-DR+ ($r=0,35$).

Относительное количество CD8+ Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ коррелируют с концентрацией РНК ВИЧ, уменьшаясь при неопределяемом уровне концентрации РНК ВИЧ на фоне АРТ. Таким образом, постоянно высокие уровни процентного содержания CD38+HLA-DR+клеток могут быть индикатором репликации ВИЧ.

Изменение фенотипического состава Т-лимфоцитов в группах больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем CD4+Т-лимфоцитов в крови

Для изучения влияния степени иммунодефицита на изменение фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, а также в §3.1, пациенты были распределены по абсолютному числу CD4+Т-лимфоцитов, кл. в мкл (до 350 кл. в мкл, $n=84$; 2-я группа – больше или равно 350 кл. в мкл, $n=192$)

На фоне прогрессирующего иммунодефицита при ВИЧ-инфекции отмечаются как качественные, так и количественные изменения субпопуляций CD4+лимфоцитов. В исследуемых группах больных ВИЧ-инфекцией были выявлены изменения фенотипического состава CD4+ Т-лимфоцитов,

характеризующиеся более низким содержанием наивных клеток CD4+CD45RA+, в том числе с фенотипом CD3+/CD4+/45RA+/62L+, и одновременным повышением доли активированных клеток памяти CD4+CD45R0+ в 1-й группе больных с выраженным иммунодефицитом, по сравнению со 2-й группой, в которой уровень CD4+Т-лимфоцитов превышал пороговое значение 350 кл. в мкл (Таблица 3.10). Более высокое среднее содержание активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+ HLA-DR+ определялось в 1-й группе, по сравнению со 2-ой: 59,0±2,1% против 51,6±1,6%, соответственно.

Также в 1-й группе больных доля активированных Т-хелперов с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+, появляющихся в процессе стимуляции наивных клеток различными антигенами, определялось на достоверно более высоком уровне: 0,4±0,1% в 1-ой группе против 0,05±0,04% во 2-й группе ($p < 0,01$).

Более того, у пациентов 1-ой группы на достоверно более высоком уровне оказалось среднее содержание активированных CD8+ Т-клеток, чем во 2-й группе: с экспрессией HLA-DR+ - 26,4±1,9% и 19,8±1,1% ($p < 0,01$); с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ - 26,4±2,2% и 20,6±1,3% ($p < 0,05$), соответственно.

Таблица 3.10 - Результаты фенотипирования Т-лимфоцитов в группах больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем CD4+ в крови ($M \pm m$).

Показатель, (%)	Группа 1, n=84 (CD4 < 350 кл. в мкл)	Группа 2, n=192 (CD4 > 350 кл. в мкл)	p1-2
Т - хелперы наивные CD4+ CD45RA+	10,0±1,5	17,1±1,5	< 0,001
Т - хелперы активированные/памяти CD4+ CD45R0+	63,7±2,7	44,7±1,4	< 0,001
Активированные Т-хелперы с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+	0,4±0,1	0,05±0,04	< 0,01
Т-хелперы наивные CD3+/CD4+/ 45RA+/62L+	15,4±3,2	25,7±4,0	< 0,05
Активированные Т-лимфоциты с фенотипом CD3+ HLA-DR+	59,0±2,1	51,6±1,6	< 0,01
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с маркером (CD3+/CD8+/ CD38+)	63,0±2,5	59,1±1,8	> 0,05
Активированные цитотоксические Т - лимфоциты с маркером HLA-DR+ (CD3+/CD8+/HLA-DR+)	26,4±1,9	19,8±1,1	< 0,01
Активированные цитотоксические Т-лимфоциты с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ (CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR)	26,4±2,2	20,6±1,3	< 0,05

Между абсолютным количеством CD4+клеток и уровнем CD3+CD8+CD38+HLA-DR+клеток определена обратная корреляция средней силы ($r=0,4$).

Таким образом, у ВИЧ-инфицированных пациентов по мере прогрессирования иммунодефицита отмечается снижение доли наивных CD4+ Т-клеток (RA+), включая фенотип CD3+/CD4+/45RA+/62L+, при одновременном увеличении уровня CD4+Т-клеток памяти (R0+). Также у этих пациентов повышается относительное количество активированных Т-хелперов с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+, активированных CD8+Т-клеток с экспрессией поверхностных маркеров CD38+ и HLA-DR+.

3.3. Оценка значимости изменений микробиоценоза ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией

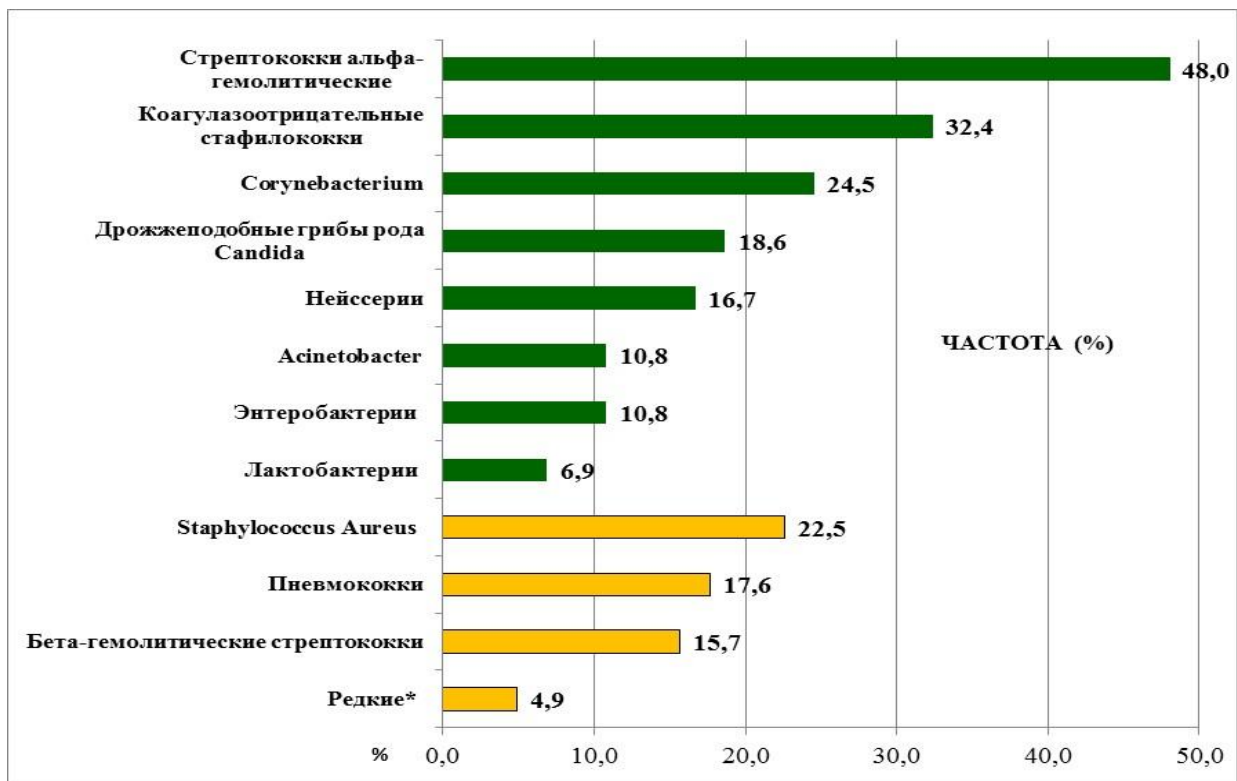
Микрофлора ротоглотки относится к высокочувствительной индикаторной системе, которая остро реагирует как качественными, так и количественными сдвигами при возникновении активных воспалительно-деструктивных процессов в тканях и состояниях различных органов и систем организма [228]. В этой связи представляет интерес изучение изменений микробиоты ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией [222; 236].

При бактериологическом исследовании материала со слизистой задней стенки глотки на первом этапе исследования у 48 пациентов (32,0%) выявлены представители условно-патогенной микрофлоры (УПМ) в количестве менее 3 lg КОЕ/мл. У этих больных доминирующими микроорганизмами в биотопе были коагулазоотрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis* и др.) – 22,5%, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) – 21,5%, альфа-гемолитические стрептококки – 19,5% и *Neisseria flavescens* – 6,7%.

У 68,0% больных ВИЧ-инфекцией была выявлена умеренная и высокая степень обсемененности УПМ в количестве 3-6 lg КОЕ/мл. Всего было выделено 59 культур. При этом чаще всего выявляли ассоциации бактерий (в 51,7%): 2-х

компонентные – в 33,3% случаев, 3-х компонентные – в 13,3% случаев, 4-х и более компонентные - в 5,1%.

В результате проведенного анализа микробного пейзажа культивируемых микроорганизмов в биотопе ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией преобладали условно-патогенные представители микробиоты ротоглотки: стрептококки альфа-гемолитические – 48,0%, коагулазоотрицательные стафилококки – 32,4%, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) – 24,5%; а также в большей степени способные приобретать патогенные свойства микроорганизмы: *Staphylococcus aureus* – 22,5% и пневмококки (*S. pneumoniae*) – 17,6% (Рисунок 3.8). С большой частотой (15,7%) выявляли микроорганизмы рода *Streptococcus* группы А, обладающие β-гемолитической активностью (*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др.). Альфа-гемолитические стрептококки были представлены *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. ovaries*. У 4,0% обнаруживались негемолитические стрептококки (*S. mitis*). В единичных случаях выделяли *S. anginosus*, *S. oralis* и *S. peroris*.



*- *Ervinia spp.*, *Massilia timonae*, *Gemella haemolysans*, *Pannonibacter phragmitetus* и *Weissella minor*

Рисунок 3.8. - Состав микробиоты слизистой ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией с интенсивной колонизацией УПМ в количестве 3-4 lg КОЕ/мл и выше (%)

В большинстве случаев род *Staphylococcus* был представлен *Staphylococcus aureus*, а также коагулазоотрицательными стафилококками. Обнаружено большое разнообразие коагулазонегативных стафилококков: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. succinus*.

Интенсивная колонизация в высоком количественном титре (4 lg КОЕ/мл и выше) *Neisseria* выявлена у 16,7% пациентов. В большинстве случаев выделялись *Neisseria flavescens*, реже – *Neisseria perflava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa*.

В нашем исследовании в 10,8% случаев обнаружены представители группы неферментирующих бактерий (*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Chryseobacterium spp.*), играющие ведущую роль в развитии внутрибольничных инфекций, особенно у иммунокомпрометированных лиц. Каждый из выделенных видов микроорганизмов из группы неферментирующих бактерий способен вызывать рецидивирующие инфекции нижних дыхательных путей у пациентов с выраженным иммунодефицитом, особенно при многократных курсах антибиотикотерапии. *P. aeruginosa*, обладающая высокой резистентностью к действию антибактериальных препаратов, была выделена только у 1% больных. Также редко выделяли *Chryseobacterium spp.* (у 1% больных). При изучении чувствительности к антибактериальным препаратам этих бактерий в 50% случаев определялась устойчивость ко всем антибиотикам и бактериофагам.

В 10,8% у пациентов в ротоглотке обнаружены представители семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia spp.* (9,8%) и *Klebsiella spp.* (1%).

Современный метод масс-спектрометрии позволил при проведении идентификации УПМ у больных ВИЧ-инфекцией выделить редко встречающиеся микроорганизмы: *Gemella haemolysans*, *Massilia timonae*, *Ervinia spp.*, *Pannonibacter phragmitetus* и *Weissella minor*.

Следует обратить внимание на выделение грибковой микрофлоры, обнаруженной у 19,6% больных и представленной дрожжеподобными грибами рода *Candida*. В большинстве случаев у пациентов была выделена *Candida*

albicans. Кроме того, среди представителей грибковой микрофлоры в единичных случаях были обнаружены *Candida cruzei*.

В 1% случаев удалось выделить редкого возбудителя оппортунистических микозов – дрожжей рода *Pichia*. В современных условиях они выделяются у пациентов с ослабленным иммунитетом.

В целом, у больных ВИЧ-инфекцией было отмечено снижение частоты выделения представителей облигатной микрофлоры ротоглотки (кроме дрожжеподобных грибов), на фоне которого повышалось выделение микроорганизмов, в большей степени способных приобретать патогенные свойства (*Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae* и стрептококки, обладающие β -гемолитической активностью - *S. pyogenes*, *S. agalactiae*).

При изучении возможных факторов, связанных с наличием или отсутствием интенсивной колонизации условно-патогенной микрофлоры у исследуемого контингента больных, была обнаружена связь с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов. Так, у пациентов с выявленной высокой обсемененностью УПМ, уровень абсолютного числа CD4⁺ Т-лимфоцитов был достоверно ниже, чем у больных с отсутствием превышения количественных титров роста УПМ: $458,2 \pm 19,4$ кл. в мкл против $512,5 \pm 19,4$ кл. в мкл, $p < 0,05$. Была установлена сильная отрицательная корреляционная связь между уровнем CD4⁺ Т-лимфоцитов и частотой выделения *Staphylococcus aureus* ($r=0,74$), с *Candida albicans* – умеренная отрицательная ($r=0,51$).

Для проведения сравнительного анализа полученных результатов в группах пациентов с различным уровнем иммуносупрессии, согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, пациенты были распределены по абсолютному числу CD4⁺Т-лимфоцитов (кл. в мкл) на две группы: 1-я группа - до 350 кл. в мкл, $n=84$; 2-я группа – больше или равно 350 кл. в мкл, $n=192$. Нами были обнаружены достоверные различия в состоянии микроэкологии задней стенки глотки в сравниваемых группах (Таблица 3.11).

Таблица 3.11 - Характеристика изменений состояния микробиоты ротоглотки в зависимости от количества CD4+ Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией

Принадлежность микроорганизмов	Интенсивная колонизация микрофлоры, в том числе	Группа 1 CD4 менее 350 кл. в мкл, n=84 M±m, %	Группа 2 CD4 более 350 кл. в мкл, n=192 M±m, %	p
Микробиота ротоглотки	Стафилококки коагулазоотрицательные (<i>S.epidermidis</i> и др.) > 10 ⁴ КОЕ/мл	8,6±3,5	8,1±3	p > 0,05
	Стрептококки альфа-гемолитические > 10 ⁵ КОЕ/мл	11,7±4,0	24,0±4,7	p < 0,05
	Нейссерии (<i>Neisseria</i>) > 10 ⁵ КОЕ/мл	1,7±1,6	8,7±3,1	p < 0,05
	Коринеформные бактерии (<i>Corynebacterium</i>) > 10 ⁴ КОЕ/мл	13,8±4,2	13,6±3,8	p > 0,05
	Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i> > 10 ³ КОЕ/мл	12,1±4,0	6,0±2,6	p > 0,05
УПМ, в большей степени способные приобретать патогенные свойства	Стрептококки бета-гемолитические (<i>S.pyogenes</i> , <i>S.agalactiae</i> и др.) 10 ³ КОЕ/мл	5,2±2,7	5,2±2,5	p > 0,05
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16,5±4,6	5,9±2,6	p < 0,05
	Пневмококки (<i>S.pneumoniae</i>)	10,3±3,75	12,7±3,7	p > 0,05

Частота избыточного бактериального роста УПМ была достоверно ниже у пациентов с высокой концентрацией CD4+Т-лимфоцитов: при уровне CD4+лимфоцитов более 350 кл. в мкл – 46,9±5,4%, менее 350 кл. в мкл – 74,2±5,5%, p < 0,001. Видовой состав микрофлоры во второй группе пациентов с высоким содержанием CD4+ Т-лимфоцитов был в 2,2 раза разнообразнее, чем у пациентов 1-й группы. При изучении культур, выделенных от пациентов,

обнаружено, что у пациентов 1-й группы не высевались лактобациллы. В этой группе пациентов стафилококки были представлены только *Staphylococcus aureus*, тогда как во 2-й группе определялись также *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* и *S. haemolyticus*, *S. cohnii* и *S. succinus*. Также во 2-й группе были обнаружены редко встречающиеся штаммы УПМ: *Gemella haemolysans*, *Pannonibacter phragmitetus*, *S. succinus* и *Weissella minor*. Полученные нами данные о снижении видового разнообразия микрофлоры ротоглотки по мере прогрессирования иммунодефицита согласуются с предыдущими исследованиями [105].

При проведении анализа количественного состава микрофлоры было выявлено, что у пациентов 1-й группы (абсолютное число CD4⁺ Т-лимфоцитов менее 350 кл. в мкл) по сравнению со 2-й группой частота выделения была на достоверно более высоком уровне ($p < 0,05$) *Staphylococcus aureus*: $16,5 \pm 4,6\%$ против $5,9 \pm 2,6\%$ и дрожжеподобных грибов рода *Candida*: $12,1 \pm 4,0$ против $6,0 \pm 2,6\%$, соответственно (Таблица 3.11). Напротив, во второй группе по сравнению с первой чаще обнаруживались нейссерии ($8,7 \pm 3,1\%$ против $1,7 \pm 1,6\%$) и стрептококки альфа-гемолитические ($24,0 \pm 4,7\%$ против $11,7 \pm 4,0$, соответственно) (Таблица 3.11).

Согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, с целью изучения влияния АРТ на изменение микробиоты ротоглотки пациенты были распределены на 2 группы в зависимости от приема АРТ (1-я группа - принимали АРТ, $n=201$; 2-я группа – не принимали АРТ, $n=75$).

В сравниваемых двух группах больных (принимающих и не принимающих АРТ) достоверных отличий по частоте интенсивной колонизации УПМ выявлено не было: $62,7 \pm 4,5\%$ и $68,75 \pm 8,2\%$, соответственно ($p > 0,05$).

Видовой состав микрофлоры ротоглотки в 1-й группе пациентов, принимающих АРТ, был в 3,4 раза разнообразнее, чем у пациентов 2-й группы и имел тенденцию к нормализации (т.е. показатели представителей нормофлоры в группе 1 были достоверно выше показателей в группе 2). При этом при изучении культур, выделенных от пациентов, обнаружено, что у пациентов 2-й группы не высевались лактобациллы и нейссерии. У пациентов 2-й группы по сравнению с

1-й группой на достоверно более высоком уровне определялось содержание бета-гемолитических стрептококков (*S.pyogenes*, *S. agalactiae* и др.) - $31,3 \pm 8,2\%$ и $9,3 \pm 2,7\%$, соответственно ($p < 0,01$), тогда как альфа-гемолитические стрептококки обнаруживались реже - $12,5 \pm 5,8\%$ и $27,1 \pm 4,1\%$, соответственно ($p < 0,05$). В отношении *Staphylococcus aureus* и *S.pneumoniae* достоверной разницы в обнаружении у пациентов обеих групп выявлено не было (Таблица 3.12).

Таблица 3.12 - Характеристика изменений состояния микробиоты ротоглотки в зависимости от приема АРТ у больных ВИЧ-инфекцией

Принадлежность микроорганизмов	Интенсивная колонизация микрофлоры, в том числе	Группа 1 принимают АРТ, n=201 M±m, %	Группа 2 не принимают АРТ, n=75 M±m, %	p
Микробиота ротоглотки	Стафилококки коагулазоотрицательные (<i>S.epidermidis</i> и др.) $> 10^4$ КОЕ/мл	$20,3 \pm 3,8$	$12,5 \pm 5,8$	$p > 0,05$
	Стрептококки альфа-гемолитические $> 10^5$ КОЕ/мл	$27,1 \pm 4,1$	$12,5 \pm 5,8$	$p < 0,05$
	Нейссерии (<i>Neisseria</i>) $> 10^5$ КОЕ/мл	$13,6 \pm 3,2$	0	$p < 0,001$
	Коринеформные бактерии (<i>Corynebacterium</i>) $> 10^4$ КОЕ/мл	$17,8 \pm 3,6$	$15,6 \pm 6,4$	$p > 0,05$
	Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i> $> 10^3$ КОЕ/мл	$13,6 \pm 3,2$	$15,6 \pm 6,4$	$p > 0,05$
УПМ, в большей степени способные приобретать патогенные свойства	Стрептококки бета-гемолитические (<i>S.pyogenes</i> , <i>S. agalactiae</i> и др.) 10^3 КОЕ/мл	$9,3 \pm 2,7$	$31,3 \pm 8,2$	$p < 0,01$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$18,6 \pm 3,6$	$12,5 \pm 5,8$	$p > 0,05$
	Пневмококки (<i>S.pneumoniae</i>)	$12,7 \pm 3,1$	$12,5 \pm 5,8$	$p > 0,05$

Для изучения состава микрофлоры ротоглотки в группах больных с разным уровнем репликации РНК ВИЧ согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2, пациенты были распределены на 3 группы по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови, копий/мл (1-я группа - до 50

копий/мл, n=173; 2-я группа 50-100 тыс. копий/мл, n=47; 3-я группа – более 100 тыс. копий/мл, n=56). Были получены результаты, представленные в Таблице 3.13.

Таблица 3.13 - Характеристика изменений состояния микробиоты ротоглотки в зависимости от концентрации РНК ВИЧ в крови у больных ВИЧ-инфекцией, $M \pm m, \%$

Принадлежность микроорганизмов	Интенсивный рост микрофлоры, в том числе	Группа 1, до 50 копий/мл n=173	Группа 2, 50-100 тыс. копий/мл, n=47	Группа 3, более 100 тыс. копий/мл n=56	p
Микробиота ротоглотки	Стафилококки коагулазоотрицательные (<i>S.epidermidis</i> и др.) $> 10^4$ КОЕ/мл	21,8 $\pm$ 4,1	26,5 $\pm$ 7,6	33,3 $\pm$ 13,6	p > 0,05
	Стрептококки альфа-гемолитические $> 10^5$ КОЕ/мл	37,6 $\pm$ 4,8	17,6 $\pm$ 6,5	0	p > 0,05
	Нейссерии (<i>Neisseria</i>) $> 10^5$ КОЕ/мл	11,9 $\pm$ 3,2	5,9 $\pm$ 4,0	0	p ₁₋₃ < 0,001
	Коринеформные бактерии (<i>Corynebacterium</i>) $> 10^4$ КОЕ/мл	2,0 $\pm$ 1,4	2,9 $\pm$ 2,9	33,3 $\pm$ 13,6	p ₁₋₃ , p ₂₋₃ < 0,05
	Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i> $> 10^3$ КОЕ/мл	8,9 $\pm$ 2,8	11,8 $\pm$ 5,5	41,7 $\pm$ 14,2	p ₁₋₃ < 0,05
УПМ, в большей степени способные приобретать патогенные свойства	Стрептококки бета-гемолитические (<i>S.pyogenes</i> , <i>S.agalactiae</i> и др.) 10^3 КОЕ/мл	7,9 $\pm$ 2,7	8,8 $\pm$ 4,9	25,0 $\pm$ 12,5	p > 0,05
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15,8 $\pm$ 3,6	14,7 $\pm$ 6,1	33,3 $\pm$ 13,6	p > 0,05
	Пневмококки (<i>S.pneumoniae</i>)	11,9 $\pm$ 3,2	14,7 $\pm$ 6,1	25,0 $\pm$ 12,5	p > 0,05

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с определяемым уровнем вирусной нагрузки (более 50 копий/мл) снижается видовое разнообразие микрофлоры. У больных 3-й группы с высокой концентрацией РНК ВИЧ при бактериологическом посеве биологического материала со слизистой ротоглотки не определялись лактобациллы, нейссерии, альфа-гемолитические стрептококки, энтеробактерии и ацинетобактеры. Микрофлора ротоглотки у этой группы пациентов преимущественно была

представлена *S. aureus*, *S. pneumoniae*, стрептококками бета-гемолитическими (*S.pyogenes*, *S. agalactiae* и др.), коринеформными бактериями, а также коагулазоотрицательными стафилококками и дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Также отмечено, что в 3-й группе пациентов с высокой концентрацией РНК ВИЧ чаще регистрировались микробные ассоциации. Полученные средние значения частоты колонизации дрожжеподобными грибами рода *Candida*, коринеформными бактериями (*Corynebacterium*) и нейссериями достоверно отличались между 1-й и 3-й группами пациентов.

Важно отметить, что локализованное воспаление, формирующееся на фоне нарушений микробиоты ротоглотки, может перейти в генерализованный процесс со стремительным распространением инфекции на соседние анатомические структуры. Принимая во внимание, что у больных ВИЧ-инфекцией даже на фоне эффективной АРТ регистрируются иммунологические нарушения, в том числе наблюдается недостаточность специфического цитотоксического иммунного ответа, у них повышен риск развития рецидивирующих бактериальных инфекций. У данного контингента больных чрезвычайно важно своевременно локализовать первичный очаг воспаления и нормализовать микробный состав ротоглотки, как входных ворот инфекции.

Состояние сложившейся экосистемы ротовой полости зависит от множества экзогенных и эндогенных факторов, важнейшими из которых являются иммунологические нарушения. При прогрессировании иммунодефицита микрофлора становится вирулентной, изменяется реактивность организма и нарушается его симбиоз с микроагентами.

Проведенное исследование позволило выявить высокую распространенность дисбиотических изменений микробиоценоза ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией. Было установлено, что микробиом слизистой оболочки ротоглотки у данного контингента больных представляет собой сложную микроэкологическую систему, доминирующим таксоном которой являются стрептококки. Стрептококк вызывает оппортунистические инфекции,

ассоциируется с множественными вторичными заболеваниями и может играть патогенную роль.

Частота интенсивного роста УПМ была достоверно ниже у пациентов с высокой концентрацией CD4⁺лимфоцитов. По мере прогрессирования иммунодефицита снижалось видовое разнообразие микрофлоры ротоглотки с повышением количественного содержания золотистого стафилококка. Наши результаты дают новое понимание влияния ВИЧ-инфекции на гомеостаз микроорганизмов в микробиоме ротоглотки и показывают потенциальную взаимосвязь между высокой вирусемией ВИЧ и колонизацией биотопа дрожжеподобными грибами рода *Candida* и коринеформными бактериями (*Corynebacterium*) на фоне снижения колонизирующей способности у альфа-гемолитических стрептококков и нейссерий у больных ВИЧ-инфекцией.

Таким образом, для получения полноценной картины развития заболевания в дополнение к количественному определению CD4⁺ Т-лимфоцитов, необходимо характеризовать динамику болезни и другими маркерами прогрессирования ВИЧ-инфекции, в том числе, качественным и количественным составом микробиома различных биотопов.

ГЛАВА 4. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОНИТОРИНГА ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Согласно данным, представленным в главе 3, концентрация липополисахарид-связывающего белка (LBP), отражает выраженность антиэндотоксиновой защиты, а также коррелирует с уровнем ключевых провоспалительных цитокинов (INF- γ , INF- α , IL-6) и процентным содержанием активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR. Это послужило предпосылкой для оценки возможности его использования для прогнозирования ВИЧ-инфекции в сочетании с другими маркерами системного воспаления [239].

В ходе проведения исследования был разработан способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции на основе комплексной оценки маркеров эндотоксинемии, системного воспаления и активации иммунитета. Сущность способа состоит в том, что у больных забирают 10 мл венозной крови и определяют в ней методом ИФА концентрацию маркера антиэндотоксиновой защиты (LBP) и уровни провоспалительных цитокинов (INF- γ , INF- α и IL-6), а также методом проточной цитометрии определяют процентное содержание активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR. На основании полученных результатов в соответствии с предложенной методикой рассчитывается суммарный воспалительный коэффициент (Кв) и определяется вероятность развития быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р).

Критическим значениям уровней концентрации LBP, INF- γ , INF- α , IL-6, а также процентного содержания активированных CD8+ Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ присваивают баллы:

- увеличение уровня LBP от 55,1 до 80,0 мкг/мл соответствует 1 баллу; от 80,1 мкг/мл и выше – 2 баллам;

- повышение уровня INF- γ от 15,1 до 40,0 пг/мл соответствует 1 баллу; от 40,1 пг/мл и выше - 2 баллам;
- повышение уровня INF- α от 9,1 до 15,0 пг/мл соответствует 1 баллу; от 15,1 пг/мл и выше - 2 баллам;
- повышение уровня концентрации IL-6 свыше 10,1 пг/мл оценивают в 1 балл;
- процентное содержание CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR+ свыше 22,4% соответствует 1 баллу.

Затем рассчитывают величину суммарного воспалительного коэффициента Кв, равного сумме баллов для каждого показателя, и при величине Кв, равном от 1 до 3 баллов, определяют низкий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции; а при величине Кв, равном от 4 и более баллов, прогнозируют высокий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции.

Преимуществами способа являются доступность, неинвазивность, высокая точность, отсутствие угрозы здоровью больного, возможность оперативного определения прогностического риска у больных ВИЧ-инфекцией в ранние сроки.

Быстрым прогрессированием ВИЧ-инфекции считается вариант течения, когда через год АРТ не удастся добиться повышения абсолютного числа CD4+ Т-лимфоцитов выше 350 клеток в микролитре (кл. в мкл), отсутствует или недостаточен прирост CD4+ Т-лимфоцитов (менее 50 клеток в год) и/или пациент переходит в более позднюю клиническую стадию заболевания. Медленно прогрессирующим течением болезни считается вариант развития ВИЧ-инфекции, когда на протяжении более 12 месяцев АРТ уровень CD4+ Т-лимфоцитов сохраняется выше 350 кл. в мкл, отсутствует отрицательная динамика абсолютного числа CD4+ Т-клеток и заболевание у пациента остается в той же клинической стадии. В предлагаемом способе определить прогноз прогрессирования заболевания можно уже через 6 месяцев АРТ и оптимизировать в соответствии с прогнозом тактику ведения пациентов.

Основными клетками-мишенями при инфицировании ВИЧ являются CD4-лимфоциты. Их уровень положен в основу классификации ВИЧ-инфекции CDC (1993) и по системе Walter Reed (2000).

В проведенном нами исследовании пациенты с ВИЧ-инфекцией были сформированы в две группы (согласно дизайну 1-го этапа исследования, подробно изложенному в главе 2, §2.2) в зависимости от темпов прогрессирования заболевания, которые определяли на основании показателей CD4+ Т-лимфоцитов после 6 месяцев АРТ терапии: 1-я группа – уровень CD4 менее 350 кл. в мкл, 2-я группа – более 350 кл. в мкл.

Таблица 4.1 - Уровни маркеров системного воспаления и иммунной активации в сыворотке больных ВИЧ-инфекцией (средние значения и ошибка средней $M \pm m$)

Показатель	Больные ВИЧ-инфекцией, получающие АРТ более 6 месяцев		p
	Группа 1 CD4 менее 350 кл. в мкл) n=66	Группа 2 CD4 более 350 кл. в мкл) n=96	
LBP (мкг/мл)	87,1±6	73,6±2,8	<0,05
ПКТ (нг/мл)	0,072±0,005	0,072±0,005	>0,05
IL1β (пг/мл)	4,1±0,5	5,4±0,7	>0,05
TNF-α (пг/мл)	2,5±0,1	2,4±0,07	>0,05
IL6 (пг/мл)	4,9±0,7	3,8±0,3	<0,05
IL8 (пг/мл)	18,9±2,9	17,7±1,7	>0,05
IL10 (пг/мл)	6,9±0,7	5,9±0,4	>0,05
INFα (пг/мл)	12,2±1	9,2±0,6	<0,05
INFγ (пг/мл)	32,6±2,7	23,4±3	<0,05
CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (%)	27,2±2,2	21,5±1,3	<0,05

В 1-ой группе больных (с уровнем CD4 менее 350 кл. в мкл) оказались на достоверно более высоком уровне концентрации показателей: LBP, IL6, INF-γ, INF-α и доля активированных лимфоцитов с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR ($p < 0,05$), Таблица 4.1. Поэтому они и были выбраны в качестве основных маркеров предлагаемого прогностического метода.

Полученные результаты исследования были обработаны статистической программой SPSS Statistics Base 22.0 с использованием бинарной логистической регрессии (ROC-анализ), позволяющей определить вероятность наступления события, а также чувствительность и специфичность метода.

Проведенный ROC-анализ продемонстрировал, что для прогнозирования прогрессирования ВИЧ-инфекции целесообразно определять уровень концентрации LBP и INF- γ , а также INF- α в крови. При повышении уровня LBP в диапазоне от 55,1 мкг/мл до 80 мкг/мл можно с вероятностью 86,7% прогнозировать развитие прогрессирования ВИЧ-инфекции. Показатель LBP 80,1 мкг/мл и выше может свидетельствовать о высокой вероятности (96,2%) быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции.

Данные построения ROC-кривой LBP (Рисунок 4.1) с использованием метода бинарной логистической регрессии показали, что вероятность быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 90,2% (AUC=0,902) (Таблица 4.2), чувствительность метода 85,37% и специфичность 80,77%.

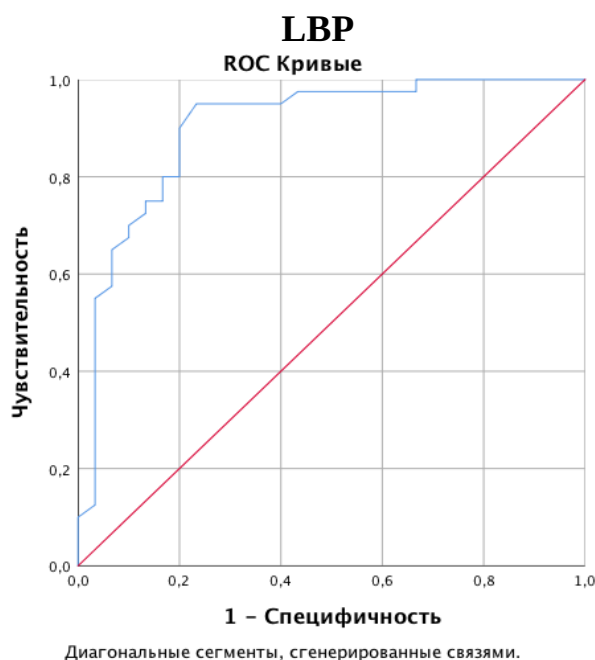


Рисунок 4.1 - График изменения ROC- кривой LBP

Таблица 4.2 – Площадь под кривой LBP

Переменные результата проверки LBP		Значение
Область		0,902
Стандартная ошибка ^a		0,39
Асимптотическая ^b		0,00
Асимптотический 95% доверительный интервал	Нижняя граница	0,825
	Верхняя граница	0,979

a - в соответствии с непараметрическим предположением

b – нулевая гипотеза: действительная площадь равна 0,5

При концентрации $\text{INF-}\gamma$ в крови от 15,1 до 40,0 пг/мл можно прогнозировать развитие прогрессирования ВИЧ-инфекции с вероятностью 91,7%. Увеличение концентрации $\text{INF-}\gamma$ в крови до уровня 40,1 пг/мл и выше также свидетельствует о 95,5% вероятности быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции. Данные построения ROC-кривой $\text{INF-}\gamma$ с использованием метода бинарной логистической регрессии показали, что вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 83,8% ($\text{AUC}=0,838$) (Таблица 4.3), чувствительность метода 86,11% и специфичность 73,53% (Рисунок 4.2).

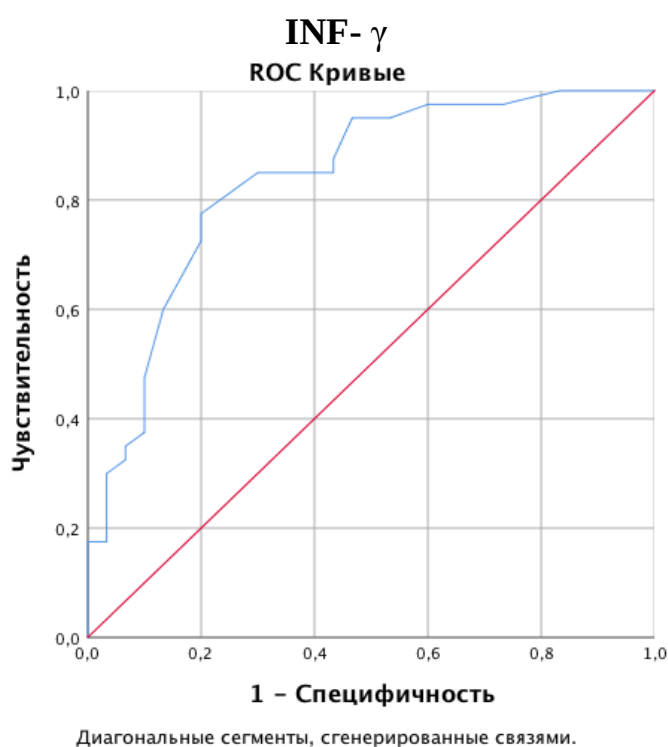


Рисунок 4.2 - График изменения ROC- кривой $\text{INF-}\gamma$

Таблица 4.3 – Площадь под кривой $\text{INF-}\gamma$

Переменные результата проверки $\text{INF-}\gamma$		Значение
Область		0,838
Стандартная ошибка ^a		0,49
Асимптотическая ^b		0,00
Асимптотический 95% доверительный интервал	Нижняя граница	0,742
	Верхняя граница	0,935

^a - в соответствии с непараметрическим предположением

^b – нулевая гипотеза: действительная площадь равна 0,5

При повышении уровня INF- α в крови от 9,1 пг/мл до 15,0 пг/мл можно прогнозировать развитие прогрессирования ВИЧ-инфекции с вероятностью 83,3%. Его увеличение до 15,1 пг/мл и более также свидетельствует о 95,7% вероятности быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции. Данные построения ROC-кривой INF- α с использованием метода бинарной логистической регрессии показывают, что вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции составляет 85,4% (AUC=0,854) (Таблица 4.4), чувствительность метода 83,33% и специфичность 82,14% (Рисунок 4.3).

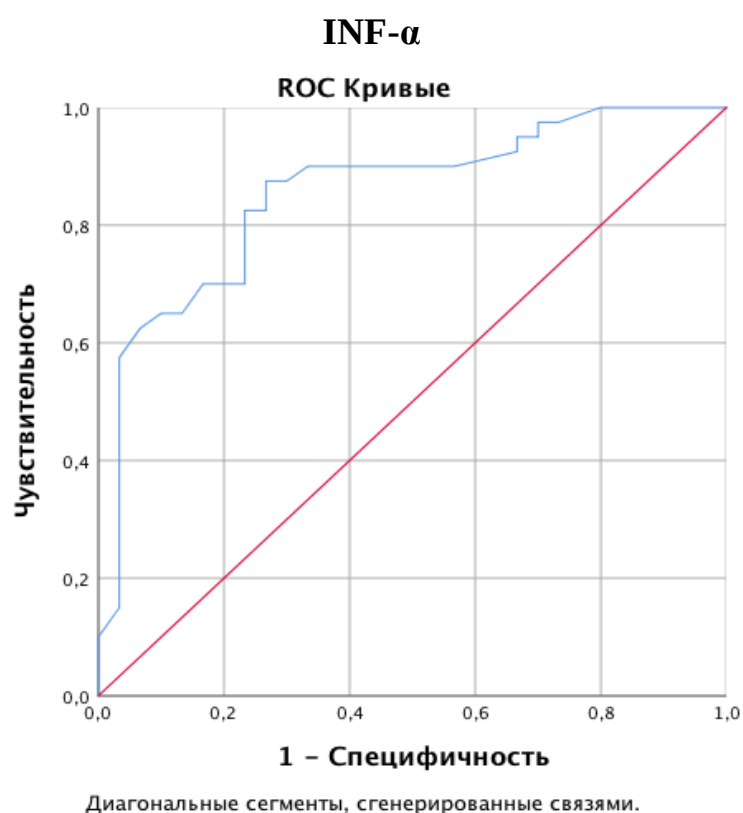


Рисунок 4.3 - График изменения ROC- кривой INF- α

Таблица 4.4 – Площадь под кривой INF- α

Переменные результата проверки INF- γ		Значение
Область		0,854
Стандартная ошибка ^a		0,46
Асимптотическая ^b		0,00
Асимптотический 95% доверительный интервал	Нижняя граница	0,763
	Верхняя граница	0,945

a - в соответствии с непараметрическим предположением

b – нулевая гипотеза: действительная площадь равна 0,5

Для оценки качества методики определения вероятности быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции нами была разработана прогностическая модель с помощью метода бинарной логистической регрессии. В результате была получена логистическая функция (1), включающая 3 основных предиктора: LBP, INF- γ и INF- α .

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = 1/(1+e^{-z}) * 100\%$$

$$z = -4,17 + 0,09 * X_{LBP} - 0,05 * X_{INF-\gamma} - 0,03 * X_{INF-\alpha} \quad (1)$$

Где p - вероятность развития прогрессирования (в долях единицы), X_{LBP} – концентрация LBP (мкг/мл), $X_{INF-\gamma}$ - концентрация INF- γ (пг/мл), $X_{INF-\alpha}$ - концентрация INF- α (пг/мл).

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, значение такого фактора, как LBP, имеют прямую связь с вероятностью прогрессирования ВИЧ-инфекции. Увеличение значения LBP на 1 мкг/мл увеличивает шансы прогрессирования заболевания в 1,09 раз. В свою очередь, значение таких факторов, как INF- γ и INF- α также увеличивают риск прогрессирования ВИЧ-инфекции. Увеличение значений концентраций INF- γ и INF- α на 1 пг/мл увеличивает риск прогрессирования заболевания в 1,05 раз и 1,03 раз, соответственно.

Полученная регрессионная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации, модель (1) учитывает 56,5% факторов, определяющих развитие прогрессирования ВИЧ-инфекции. Чувствительность предлагаемого способа прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 77,5%, специфичность составила 86,7%. Диагностическая эффективность модели составила 81,4%. Площадь под ROC-кривой составила $0,915 \pm 0,038$ с 95% ДИ: 0,840-0,99 (Рисунок 4.4).

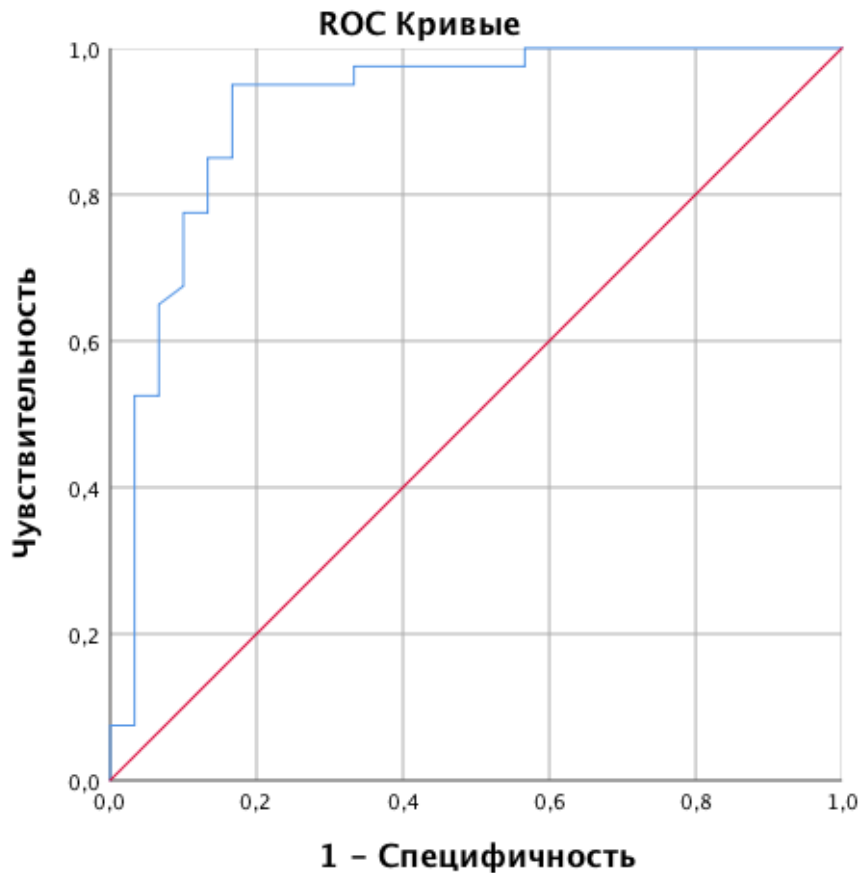


Рисунок 4.4 - ROC-кривая, характеризующая зависимость между быстрым прогрессированием ВИЧ-инфекции от значения логистической функции Р

Способ прогноза прогрессирования заболевания у больных ВИЧ-инфекцией осуществляется следующим образом. Через 6 месяцев после начала АРТ у больных ВИЧ-инфекцией помимо установленного стандартом обследования в сыворотке крови определяются уровни LBP, INF- γ , INF- α , IL-6 и процентное содержание Т-клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR.

Далее необходимо определить баллы прогрессирования ВИЧ-инфекции. Повышение уровня концентрации LBP в диапазоне от 55,0 мкг/мл до 80,0 мкг/мл будет соответствовать 1 баллу риска развития прогрессирования ВИЧ-инфекции, от 80,1 мкг/мл и выше – 2 баллам. Повышение уровня INF- γ от 15,0 до 40,0 пг/мл и от 40,1 пг/мл и выше также будет соответствовать 1 и 2 баллам.

Повышение уровня INF- α от 9,0 до 15,0 пг/мл и от 15,1 пг/мл и выше также будет соответствовать 1 и 2 баллам. Уровень концентрации IL-6 (10,1 пг/мл и

выше) соответствует 1 баллу, процентное содержание CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR - 22,4% и выше расценивалось как 1 балл, Таблица 4.5.

Таблица 4.5 - Шкала баллов прогрессирования ВИЧ-инфекции на основании определяемых параметров

Показатель	Значение	Вероятность (%)	Баллы
LBP	Меньше или равно 55,0 мкг/мл	83,3	0
	В диапазоне от 55,1 до 80,0 мкг/мл	86,7	1
	Равно и более 80,1 мкг/мл	96,2	2
INF- γ	Меньше или равно 15,0 пг/мл	74,2	0
	В диапазоне от 15,1 – 40,0 пг/мл	91,7	1
	40,1 пг/мл равно и более	95,5	2
INF- α	Меньше или равно 9,0 пг/мл	70,7	0
	В диапазоне от 9,1 – 15,0 пг/мл	83,3	1
	15,1 пг/мл равно или более	95,7	2
IL-6	10,1 пг/мл равно или более	69,4	1
CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR	22,4% равно или более	73,5	1

Низкий риск быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции определяли при значениях баллов суммарного воспалительного коэффициента Кв от 1 до 3 (Таблица 4.6).

Таблица 4.6 - Вероятность быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р)

Р	баллы
низкая	1 - 3
высокая	4 - 8

При оценке в 4 балла и выше этот риск можно считать высоким. В случае выявления высокого риска прогрессирования ВИЧ-инфекции пациент нуждается в более частом диспансерном обследовании.

Использование метода иллюстрируется клиническими примерами.

Клинический пример 1. Больная Ф., 32 года. Состоит на диспансерном учете в Центре по профилактике и борьбе со СПИДом по месту регистрации с 2007 года (иммунный блот ВИЧ положительный от 19.01.2007). Диагноз от 19.02.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVA), фаза ремиссии на фоне АРТ. Получает АРТ с января 2018 года по схеме TDF+3ТС+EFV. Уровень приверженности АРТ оценен как высокий, переносимость препаратов хорошая. В течение 2018 года больная девять раз посещала лечащего врача с целью диспансерного наблюдения и получения АРТ. Уровень CD4+ Т-клеток при начале АРТ составлял 15% 270 клеток в мкл; CD8+ Т-клеток - 70% 1258 клеток в мкл; ИРИ – 0,21. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ от 26.12.2017 – 115000 копий/мл. Динамика основных лабораторных показателей пациентки Ф. представлена в Таблице 4.7.

Таблица 4.7 - Динамика основных лабораторных показателей пациентки Ф.

Дата Забора крови	Уровень Т-клеток в мкл				ИРИ	Уровень вирусной нагрузки ВИЧ (количество копий РНК ВИЧ в мл)
	CD4+		CD8+			
	%	Абс.	%	Абс.	Ед.	Абс.
26.12.2017	15	270	70	1258	0,21	115 000
01.02.2018	15	277	70	1230	0,23	Менее 500
07.05.2018	18	350	62	1085	0,32	Менее 500
06.08.2018	21	410	58	972	0,42	Менее 500
05.11.2018	23	457	55	845	0,54	Менее 500
04.02.2019	25	501	50	795	0,63	Менее 500

При определении прогноза иммунологической эффективности АРТ через 6 мес. АРТ были получены следующие данные: LBP – 45 мкг/мл, INF- γ – 27 пг/мл, INF- α – 12 пг/мл, IL6 – 9 пг/мл, % CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR – 17%. Суммарный воспалительный коэффициент (Кв) равен 2. Вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р) – низкая. Целесообразно продолжить АРТ по принимаемой схеме с соблюдением высокой приверженности диспансерному наблюдению и лечению.

Клинический пример 2. Больной П., 46 лет. Состоит на диспансерном учете в Центре по профилактике и борьбе со СПИДом по месту регистрации с 2005 года

(иммунный блот ВИЧ положительный от 05.05.2005). Диагноз от 19.02.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVБ), фаза ремиссии на фоне АРТ. Рецидивирующий орофарингеальный кандидоз вне обострения, рецидивирующая вирусно-бактериальная инфекция (в том числе ВПГ+ЦМВ), ВИЧ-энцефалопатия, дефицит массы тела 10%, хронический бронхит вне обострения. Получает АРТ с 2006 года по схеме TDF+ABC+ LPV/r. В начале 2015 года была зафиксирована вирусологическая неудача лечения и в апреле 2015 года на основании исследования резистентности ВИЧ к АРП схема терапии была изменена на TDF+ABC+ RAL. Уровень приверженности АРТ оценен как высокий, переносимость препаратов хорошая. В течение 2018 года больной восемь раз посещал Центр по профилактике и борьбе со СПИД с целью диспансерного наблюдения и получения АРТ. Уровень CD4+ Т-клеток при начале АРТ составлял 10% 170 клеток в мкл, CD8+ Т-клеток - 47% 781 клеток в мкл, ИРИ – 0,21. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ от 26.12.2017 – 3639 копий/мл. Динамика основных лабораторных показателей пациента П. представлена в Таблице 4.8.

Таблица 4.8 - Динамика основных лабораторных показателей пациента П.

Дата Забора крови	Уровень Т-клеток в мкл				ИРИ	Уровень вирусной нагрузки ВИЧ (количество копий РНК ВИЧ в мл)
	CD4+		CD8+			
	%	Абс.	%	Абс.		
08.02.16	15	124	27	300	0,41	< 20
08.04.16	16	141	39	354	0,40	< 500
21.06.16	13	139	36	385	0,36	< 500
27.12.16	15	99	43	285	0,35	< 500
16.02.17	12	126	41	420	0,30	< 500
13.06.17	12	109	38	362	0,30	< 500
14.08.17	12	105	44	393	0,27	< 500
20.09.17	11	132	43	504	0,26	< 500
13.12.17	11	135	54	645	0,21	< 300
31.01.18	11	122	47	520	0,24	< 300
17.05.18	11	125	41	467	0,26	< 300
18.09.18	13	107	46	380	0,28	< 500
09.11.18	13	121	42	394	0,31	< 500
22.01.19	11	118	47	483	0,25	< 500

При определении прогноза иммунологической эффективности АРТ были получены следующие данные: LBP – 118 мкг/мл, INF- α – 14 пг/мл, INF- γ – 48,8 пг/мл, IL-6 – 13,1 пг/мл, % CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR – 23%. Суммарный воспалительный коэффициент (Кв) равен 7. Вероятность развития быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р) – высокая. Такому пациенту показано повысить кратность диспансерного обследования с целью своевременного выявления вторичных заболеваний.

Клинический пример 3. Больной Б., 52 года. Состоит на диспансерном учете в Центре по профилактике и борьбе со СПИД по месту регистрации с 2001 года (иммунный блот ВИЧ положительный от 08.06.2001). Диагноз от 19.02.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVA), фаза ремиссии на фоне АРТ. Рецидивирующая вирусно-бактериальная инфекция (в том числе ВПГ+ЦМВ), ВИЧ-энцефалопатия. Хронический гепатит С (ПЦР РНК ВГС – отрицательная). Получает АРТ с марта 2015 года по схеме ABC+3ТС+DRV/г. Уровень приверженности АРТ оценен как высокий, переносимость препаратов хорошая. В течение 2018 года больной десять раз посещал лечащего врача с целью диспансерного наблюдения и получения АРТ. Уровень CD4+ Т-клеток при начале АРТ составлял 38% 471 клетка в мкл, CD8+ Т-клеток - 33% 407 клеток в мкл, ИРИ – 1,16. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ от 20.03.15 – 992 000 копий/мл, Таблица 4.9.

Таблица 4.9 - Динамика основных лабораторных показателей пациента Б.

Дата Забора крови	Уровень Т-клеток в мкл				ИРИ	Уровень вирусной нагрузки ВИЧ (количество копий РНК ВИЧ в мл)
	CD4+		CD8+			
	%	Абс.	%	Абс.		
20.03.15	38	471	33	407	1,16	992 000
16.04.15	38	655	30	512	1,28	174 000
15.07.15	36	393	46	497	0,79	< 20
02.03.16	43	436	26	264	1,65	< 500
14.06.16	34	784	28	647	1,21	< 500
18.04.17	35	817	25	601	1,36	< 500
29.08.17	31	825	23	623	1,32	< 500
20.11.17	32	832	23	635	1,31	< 500
19.02.18	30	838	22	655	1,28	< 500
05.06.18	30	895	21	673	1,33	< 500
17.09.18	29	915	20	684	1,34	< 500
24.12.18	29	1055	19	691	1,46	< 500

При определении прогноза иммунологической эффективности АРТ через 6 мес. АРТ были получены следующие данные: LBP – 50 мкг/мл, INF- α – 9,8 пг/мл, INF- γ – 6,1 пг/мл, IL6 – 4,2 пг/мл, % CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR – 7,9 %. Суммарный воспалительный коэффициент (Кв) равен 1. Вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р) – низкая. Целесообразно продолжить АРТ по принимаемой схеме с соблюдением высокой приверженности диспансерному наблюдению и лечению.

По предлагаемому нами способу расчеты чувствительности, специфичности и прогностической ценности положительного результата проводили следующим методом.

Чувствительность= $a/(a+c) \cdot 100\%$; специфичность= $d/(b+d) \cdot 100\%$;

прогностическая ценность= $a/(a+b) \cdot 100\%$, где

a – больные с ВИЧ-инфекцией, быстрое прогрессирование заболевания у которых выявлено с помощью предлагаемого метода (истинно положительные),

b – больные с ВИЧ-инфекцией, у которых прогнозировалась, но не произошло быстрое прогрессирование заболевания (ложно положительные),

c – больные, у которых быстрое прогрессирование ВИЧ-инфекции не удалось предсказать с помощью теста (ложно отрицательные),

d – больные с ВИЧ-инфекцией, имеющие отрицательный результат теста, у которых не произошло быстрое прогрессирование заболевания (подлинно отрицательные)

Полученные данные свидетельствуют о том, что чувствительность предлагаемого способа прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 77,5%, специфичность 86,7%. Диагностическая эффективность модели составила 81,4%.

Таким образом, в ходе исследования была получена методика, которая с высокой точностью позволяет прогнозировать течение ВИЧ-инфекции на фоне АРТ и в ранние сроки может определять риск развития прогрессирования заболевания. Предполагается, что использование данного метода поможет врачам вовремя выбрать соответствующую тактику для пациентов с неблагоприятным прогностическим риском, предотвращая реализацию негативного прогноза.

ГЛАВА 5. ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Полученные в ходе исследования доказательства повышенного риска прогрессирования ВИЧ-инфекции при выраженном системном воспалительном ответе и гиперактивации иммунной системы диктуют необходимость поиска новых терапевтических подходов в дополнение к АРТ. Принимая во внимание противовоспалительный эффект иммуномодулятора АДФНа [202; 261], представляется перспективным определить возможность его применения у больных ВИЧ-инфекцией в дополнение к АРТ для коррекции системного воспалительного ответа. Ведущие фармакологические эффекты этого препарата обусловлены его избирательным (в зависимости от исходной активности клеток иммунной системы) влиянием на функционально-метаболическую активность макрофагов, избыточный синтез активных форм кислорода и провоспалительных цитокинов, пролиферативную функцию Т-лимфоцитов и естественных киллерных клеток, синтез антител, интерферона, репаративные процессы в тканях, а также снижение образования фиброзной ткани при заживлении, повышение неспецифической резистентности организма к инфекционным заболеваниям [199; 205; 212; 213]. Ранее в клинических исследованиях было показано положительное влияние АДФНа на нормализацию показателей иммунного статуса и цитокинового профиля при целом ряде неинфекционных и инфекционных заболеваний различной, в т. ч. и вирусной этиологии [213; 243; 214; 234; 227; 206; 207]. На втором этапе исследования была изучена возможность применения препарата АДФНа на фоне вирусологически эффективной АРТ у больных ВИЧ-инфекцией с проявлениями хронического поражения слизистой оболочки ротоглотки с целью снижения местного воспаления и уменьшения выраженности системных воспалительных реакций. Детально дизайн второго этапа исследования описан в главе 2 § 2.2. Пациенты были распределены на две группы методом независимой последовательной рандомизации: 1-я группа основная - 50 чел., 2-я группа сравнения - 58 чел. Больным из основной группы был назначен

курс АДФНа по схеме: по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

Оценку эффективности применения АДФНа проводили в процессе лечебных мероприятий больных ВИЧ-инфекцией по объективным признакам с определением в динамике общеклинических, микробиологических и иммунологических показателей через 4 недели после завершения курса лечения АДФНа.

При объективном осмотре врач-инфекционист оценивал по 3-х балльной шкале (1-отсутствие или слабо выраженные; 2 - умеренно выраженные; 3 - отчетливо выраженные) динамику изменений видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки (истончение слизистой оболочки глотки, наличие инъецированных сосудов на поверхности слизистой оболочки, наличие очагов гиперплазированной лимфоидной ткани на задней стенке глотки, выраженность лимфоидных гранул задней стенки глотки, отечность задней и боковой стенок глотки, наличие очагов воспаления в ротовой полости). Субъективные признаки больные оценивали самостоятельно по 5-ти балльной шкале, отвечая на вопрос о выраженности негативных ощущений в ротоглотке и ротовой полости (5 – сильно беспокоят, снижают качество жизни; 4 – беспокоят, немного снижают качество жизни; 3 – дискомфорт есть, но не снижают качество жизни; 2 – почти не беспокоит; 1 – не беспокоит). Общая сумма баллов оценки состояния полости рта и ротоглотки у пациентов обеих групп перед началом исследования составляла от 5 до 8.

У 27 пациентов, получавших АДФНа, спустя месяц была отмечена положительная динамика объективных данных, выявленных при осмотре слизистых рта и ротоглотки, и достоверное уменьшение выраженности субъективных ощущений (сухость, першение, дискомфорт) со снижением общей суммы баллов до 1-3, среднего балла до 2,1 (Рисунок 5.1).

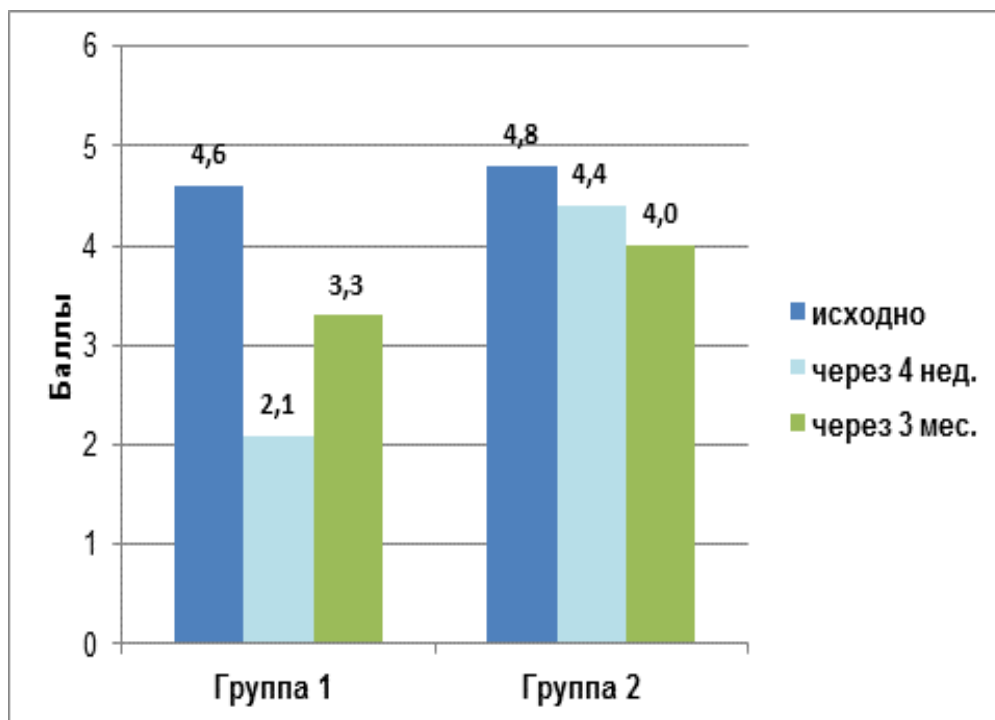


Рисунок 5.1 – Результаты оценки состояния полости рта и ротоглотки (среднее значение суммы баллов)

С целью определения продолжительности клинического эффекта курсового приема АДФНа у пациентов, принимавших участие во втором этапе исследования, был проведен дополнительный анализ осмотра пациентов с оценкой субъективных жалоб через 3 месяца после участия в исследовании. Оказалось, что у больных из основной группы средний балл вновь повысился с 2,1 до 3,3, что может свидетельствовать о необходимости повторения курсов лечения АДФНа с кратностью 3 месяца.

В ходе исследования было выявлено, что в 1-й и 2-й группах больных ВИЧ-инфекцией концентрация LBP была на достоверно более высоком уровне по сравнению со здоровыми людьми — $85,9 \pm 3,8$ и $86,3 \pm 4,8$ мкг/мл при референсных значениях у здоровых лиц ($6,2 \pm 1,53$ мкг/л) (Таблица 5.1, Рисунок 5.2). При исследовании через 4 недели в 1-й группе отмечалось достоверное снижение LBP до $70,9 \pm 4,6$ мкг/мл по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$). Во 2-й группе в динамике заболевания достоверных изменений концентрации LBP не выявлено.

Таблица 5.1 - Результаты исследования цитокинового профиля у больных ВИЧ-инфекцией в динамике заболевания ($M \pm m$)

Показатели	Контрольные значения у здоровых лиц (n=30)	Группа 1, n=50		Группа 2, n=58	
		исходно	через 4 нед.	исходно	через 4 нед.
LBP	$6,2 \pm 1,53$	$85,9 \pm 3,8$	$70,9 \pm 4,6^*$, **	$86,3 \pm 4,8$	$85,2 \pm 4,9$
IL-6 (пг/мл)	$2,0 \pm 0,8$	$5,4 \pm 0,6$	$3,6 \pm 0,6^*$, **	$5,3 \pm 0,6$	$5,4 \pm 0,5$
IL-10 (пг/мл)	$5,0 \pm 1,4$	$6,3 \pm 0,4$	$5,6 \pm 0,5$	$7,4 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,8$
IL-1 β (пг/мл)	$1,6 \pm 0,6$	$3,8 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,8$	$4,9 \pm 0,7$	$4,4 \pm 0,8$
TNF- α (пг/мл)	$0,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$
IL-8 (пг/мл)	$2,0 \pm 0,5$	$23,7 \pm 2,6$	$15,3 \pm 3,2^*$	$17,9 \pm 2,3$	$18,0 \pm 2,5$
INF- α (пг/мл)	$1,8 \pm 0,1$	$12,9 \pm 1,2$	$9,8 \pm 0,8^*$	$10,2 \pm 0,8$	$9,8 \pm 1,4$
INF- γ (пг/мл)	$2,0 \pm 0,3$	$30,9 \pm 4,9$	$21,2 \pm 5,1$	$31,7 \pm 5,5$	$28,5 \pm 5,3$

* - различия с исходными показателями через 4 недели достоверны ($p < 0,05$).

** - различия с показателями 2-ой группы через 4 недели достоверны ($p < 0,05$).

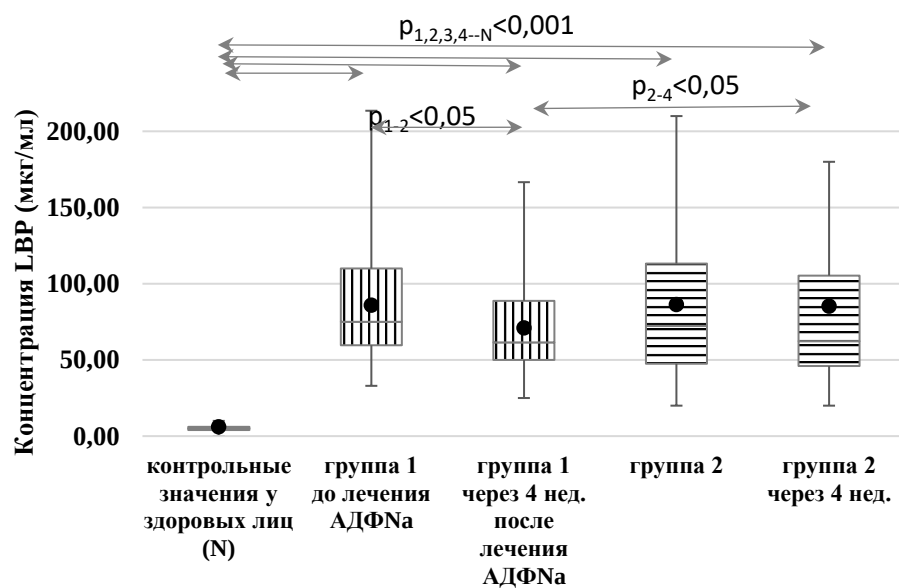


Рисунок 5.2. - Уровень концентрации LBP у больных ВИЧ-инфекцией

Результаты определения концентрации маркера антиэндотоксиновой защиты и цитокинов в исследуемых группах больных ВИЧ-инфекцией представлены в Таблице 5.1. У пациентов обеих групп наблюдался сдвиг цитокинового профиля в провоспалительную сторону с достоверным превышением средних значений концентрации IL1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, INF- α и INF- γ по сравнению с референсными значениями у здоровых лиц, что наблюдается при системным воспалительном ответе.

При повторном обследовании пациентов через 4 недели в 1-й группе было выявлено снижение IL-8 — с $23,7 \pm 2,6$ пг/мл до $15,3 \pm 3,2$ пг/мл, IL-6 с $5,4 \pm 0,6$ пг/мл до $3,6 \pm 0,6$ пг/мл, INF- α — с $12,9 \pm 1,2$ пг/мл до $9,8 \pm 0,8$ пг/мл ($p < 0,05$) по сравнению с исходными показателями до начала лечения АДФНа. Во 2-й группе в динамике заболевания достоверных изменений концентрации исследуемых цитокинов не обнаружено.

Оценка влияния препарата аминодигидрофалазиндион натрия на показатели клеточного иммунитета.

В ходе исследования также была проведена оценка влияния препарата АДФНа на выраженность иммунной активации. Согласно данным, представленным в главе 3, §3.2 в результате определения иммунологических маркеров были выявлены существенные изменения фенотипа CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией по сравнению со здоровыми лицами. Эти изменения характеризовались снижением относительного количества CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов наивных (CD4 $^{+}$ RA $^{+}$) и достоверным повышением активированных CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов памяти (CD4 $^{+}$ R0 $^{+}$) ($p < 0,05$) (Таблица 3.7). При исследовании этих показателей в группах пациентов в динамике заболевания на втором этапе исследования достоверных отличий не выявлено (Таблица 5.2).

Известный маркер поздней активации иммунитета - относительное количество клеток CD3+HLA-DR $^{+}$ в двух группах был на достоверно более высоком уровне по сравнению с аналогичным показателем у здоровых лиц (в 1-й группе $55,2 \pm 2,5\%$, во 2-й группе $49,9 \pm 2,8$ против значения в контрольной группе у здоровых лиц $4,0 \pm 1,0$ ($p < 0,001$)). При исследовании этого показателя в группах в

динамике заболевания на втором этапе исследования отличий не выявлено ($p > 0,05$) (Таблица 5.2).

Таблица 5.2 - Результаты исследования фенотипов CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией в динамике заболевания ($M \pm m$)

Показатели (%)	Контрольные значения у здоровых лиц (n=30)	Группа 1, n=50		Группа 2, n=58	
		исходно	через 4 нед.	исходно	через 4 нед.
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /RA ⁺ /RO ⁻	25 $\pm$ 0,8	22,9 $\pm$ 4,2	20,2 $\pm$ 2,56	20,4 $\pm$ 1,3	21,1 $\pm$ 2,9
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /RA ⁻ /RO ⁺	10 $\pm$ 0,3	46,7 $\pm$ 3,6	48,9 $\pm$ 3,8	52,9 $\pm$ 2	51,2 $\pm$ 4,1
CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺	4,0 $\pm$ 1,0	55,2 $\pm$ 2,5	58,9 $\pm$ 1,9	49,9 $\pm$ 2,8	53,7 $\pm$ 2
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /HLA-DR ⁺	10 $\pm$ 1,7	21 $\pm$ 1,8	20,5 $\pm$ 1,9	24,4 $\pm$ 2,1	21,3 $\pm$ 1,5
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺	35 $\pm$ 5	63,3 $\pm$ 2,7	66,2 $\pm$ 2	64,1 $\pm$ 3,2	62,8 $\pm$ 2,6
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD38 ⁺ /HLA-DR	8 $\pm$ 1,2	23,0 $\pm$ 2,2	18,0 $\pm$ 1,8 [*]	26,3 $\pm$ 2,3	22,0 $\pm$ 1,9

* - различия с показателями через 4 недели достоверны ($p < 0,05$).

** - различия с показателями 2-ой группы через 4 недели достоверны ($p < 0,05$).

У больных ВИЧ-инфекцией двух групп выявлены изменения фенотипа CD8⁺ Т-лимфоцитов с достоверным увеличением относительного количества клеток с маркерами CD38⁺ или HLA-DR⁺, а также с коэкспрессией CD38⁺ и HLA-DR⁺ по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,05$).

В 1-й группе через 4 недели было отмечено снижение CD3⁺/CD8⁺/CD38⁺/HLA-DR с 23,0 $\pm$ 2,2% до 18,0 $\pm$ 1,8% ($p < 0,05$). Во 2-й группе по анализируемому показателю в динамике заболевания достоверных изменений не выявлено (Рисунок 5.3).

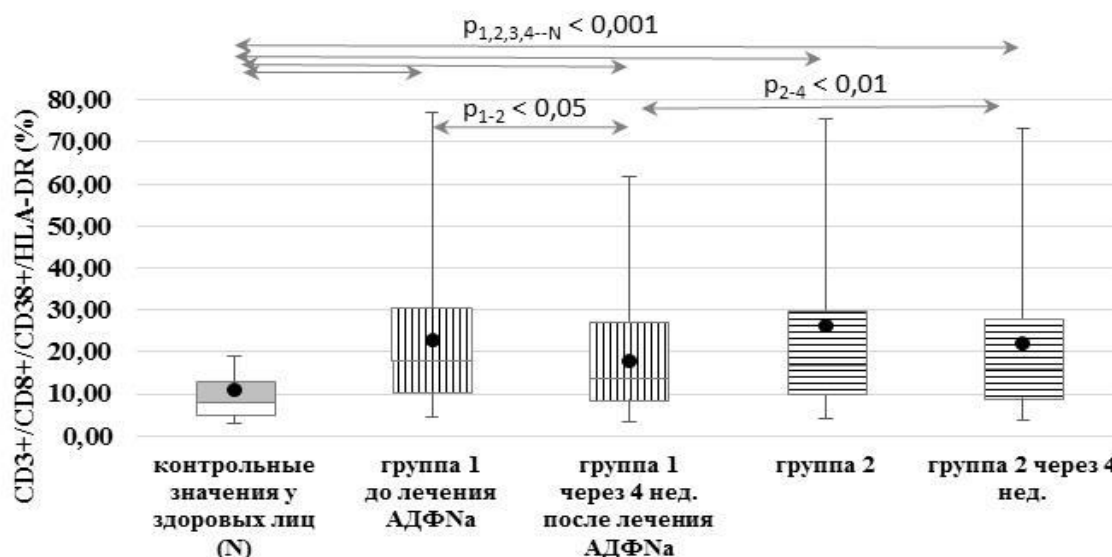


Рисунок 5.3 - Активированные CD8⁺ Т-лимфоциты с коэкспрессией CD38⁺ и HLA-DR⁺ у больных ВИЧ-инфекцией в динамике заболевания и у здоровых лиц

При оценке влияния препарата АДФНа на выраженность иммунной активации достоверно значимым оказалось снижение процентного содержания CD8⁺ Т-клеток с коэкспрессией CD38⁺ и HLA-DR.

Изучение терапевтического потенциала аминодигидрофталазиндион натрия для нормализации микробиоценоза ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией, получающих антиретровирусную терапию.

Полученные данные предполагают связь между бактериальными сообществами полости рта и ротоглотки с системными заболеваниями, однако окончательную роль еще предстоит определить, особенно в отношении больных ВИЧ-инфекцией, поскольку проведенные ранее исследования ограничены небольшими размерами выборки и вариациями в методологии анализа. Это подчеркивает необходимость поиска новых терапевтических подходов в дополнение к АРТ.

Причиной обострения воспалительных процессов в полости рта и ротоглотки (хронического фарингита, стоматита, гингивита) чаще всего является воздействие

Таблица 5.3 - Результаты исследования микробиоты ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией в динамике ($M \pm m$)

[illegible]

При исследовании через 4 недели в 1-й группе пациентов отмечено снижение доли пациентов с колонизацией УПМ в высоких количественных титрах с $74,0 \pm 6,2\%$ до $49,9 \pm 7,1\%$ ($p < 0,05$). Во 2-й группе в этот же период достоверных отличий не зарегистрировано.

Через 4 недели наблюдения у пациентов 1-й группы снизилась частота интенсивной колонизации бета-гемолитических стрептококков (*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др.) с $20,0 \pm 5,7\%$ при первом визите до $6,0 \pm 3,4\%$ при втором ($p < 0,05$). При повторном визите у больных 1-й группы также было зарегистрировано снижение частоты выявления *Staphylococcus aureus* и дрожжеподобных грибов рода *Candida* в количестве более 10^3 КОЕ/мл (Таблица 5.3).

Примечательно, что в 1-й группе снизилась и частота выявления энтеробактерий с $12,0 \pm 4,6\%$ на старте лечения АДФНа до $2,0 \pm 2,0\%$ через 4 нед. наблюдения, а также ацинетобактеров с $8,0 \pm 3,8\%$ до 0 соответственно (Рисунки 5.4, 5.5). При этом во 2-й группе между данными о частоте выявления энтеробактерий и *Acinetobacter*, полученными при 1-м и 2-м визитах, достоверных отличий не выявлено.

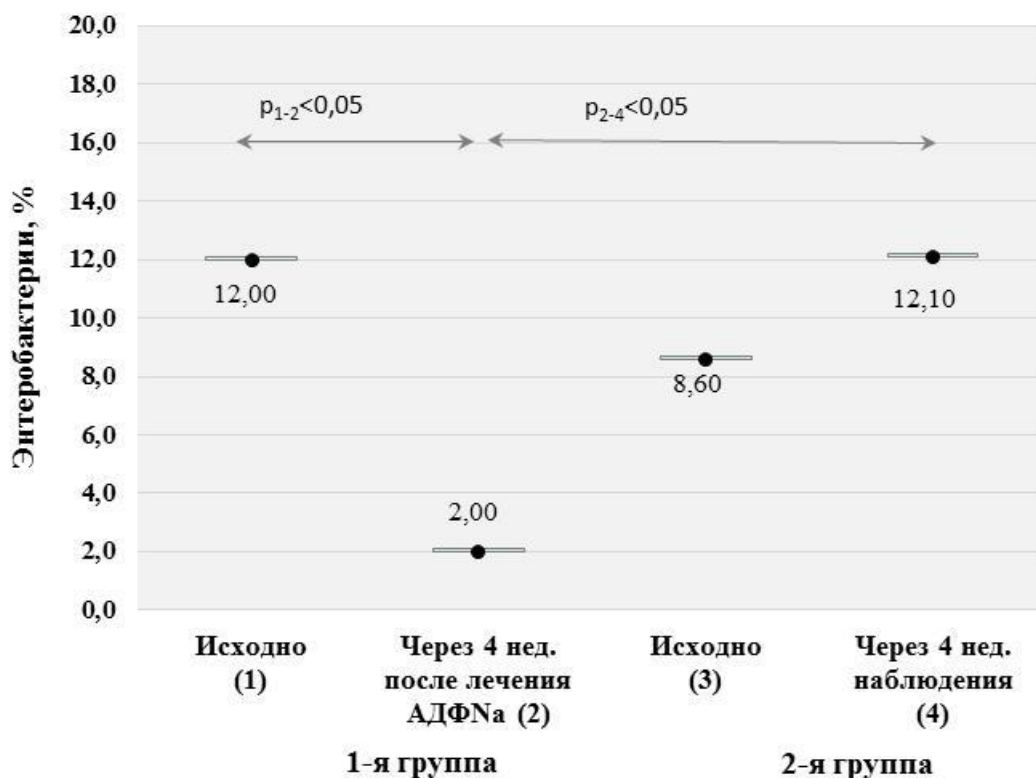


Рисунок 5.4 - Частота определения энтеробактерий в ротоглотке у больных ВИЧ-инфекцией в динамике

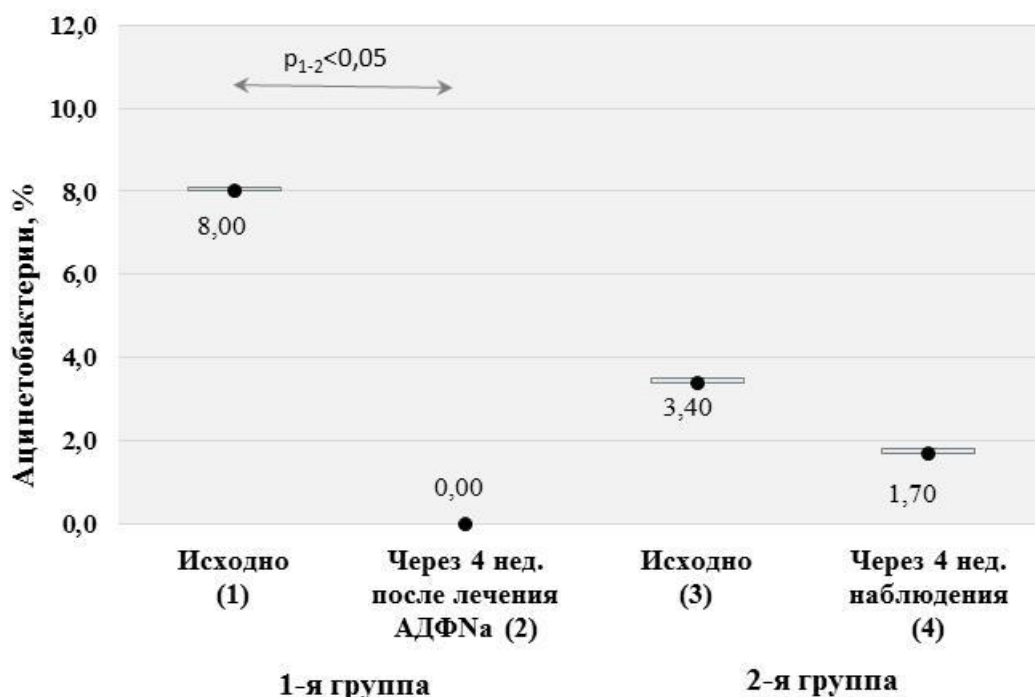


Рисунок 5.5 - Частота определения ацинетобактерий в ротоглотке у больных ВИЧ-инфекцией в динамике

Таким образом, в большинстве случаев качественный и количественный состав микрофлоры ротоглотки больных ВИЧ-инфекцией даже на фоне эффективной АРТ имеет выраженные различия с составом микробиоты аналогичной локализации у здоровых лиц [228]. Наличие представителей возбудителей оппортунистических инфекций, практически не встречающихся у здоровых лиц, является потенциально опасным. С таким составом микробиоты ротоглотки вполне согласуется высокий уровень LBP, основной функцией которого является связывание эндотоксинов бактерий.

Результаты исследования продемонстрировали целесообразность использования иммуномодуляторов с противовоспалительным эффектом в дополнение к АРТ при ВИЧ-инфекции, отмечено позитивное влияние как на снижение системного маркера антиэндотоксиновой защиты LBP, так и на

состояние микробиома слизистой ротоглотки. Динамическое наблюдение за пациентами в течение 4 недель позволило установить положительное воздействие АДФНа в виде снижения частоты выделения *Staphylococcus aureus*, а также дрожжеподобных грибов рода *Candida*, энтеробактерий и ацинетобактерий, в сравнении с больными, получавшими только стандартную АРТ.

При сравнении частоты встречаемости положительной динамики в зависимости от метода терапии были получены статистически значимые различия ($p < 0,001$). Шансы развития положительной динамики у пациентов, получающих АДФНа, в 32,87 раз (95% ДИ: 7,22-149,7). Между сопоставляемыми признаками отмечалась относительно сильная связь по Чеддоку ($V=0,569$) (Таблица 5.4)

Таблица 5.4 - Шансы развития положительной динамики у пациентов, получающих АДФНа

Признак	Группа 1 (АРТ + АДФНа)		Группа 2 (АРТ)		p	ОШ; 95% ДИ
	Абс./n	%	Абс./n	%		
Положительная динамика	27/50	54,0	2/58	3,4	<0,001*	32,87; 7,22-149,7

*-статистически значимые различия ($p < 0,05$)

Клинический пример 4. Больной М., 32 года. Состоит на диспансерном учете по месту регистрации с 2018 года (иммунный блот ВИЧ положительный от 05.11.2018). Диагноз от 9.09.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVA), фаза ремиссии на фоне АРТ. Получает АРТ с декабря 2018 года по схеме ABC+3TC+DRV/r. С подросткового возраста наблюдается у отоларинголога в связи с хроническим фарингитом. В течение последних трех лет клинического рецидива хронического фарингита не отмечает. Вместе с тем пациент предъявляет жалобы на дискомфорт в ротоглотке в ночное время, сухость, першение. Самостоятельная оценка субъективных признаков по 5-ти балльной шкале – 4. При объективном осмотре состояние видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки соответствовало 2-м баллам. Результаты лабораторного обследования

пациента от 9.09.2019: уровень CD4+ Т-клеток составлял 18% 345 клеток в мкл; уровень вирусной нагрузки ВИЧ – менее 50 копий/мл. При бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки обнаружены коагулазоотрицательные (*Staphylococcus epidermidis* и др.) 10 в 5 ст. КОЕ/мл, бета-гемолитические (*S.pyogenes*, *S. agalactiae* и др.) 10 в 5 ст. КОЕ/мл, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) 5x10 в 5 ст. КОЕ/мл.

У пациента уровень концентрации LBP от 09.09.2019 превышал референсное значение и составлял 50,0 мкг/мл (Таблица 5.5).

Таблица 5.5 – Данные пациента М.

Показатель	Визит 1 9.09.2019	Визит 2 28.10.2019	Визит 3 13.01.2020
Объективно (по 3-х бальной шкале)	2	1	1
Субъективно (по 5-ти бальной шкале)	4	3	2
LBP (мкг/мл)	50,0	40,0	35,0
Уровень CD4+ Т-лимфоцитов, кл. в мкл	345	349	358
Концентрация РНК ВИЧ в крови, копий в мл	менее 50	менее 50	менее 50
INF-α (пг/мл)	11,2	6,9	5,8
INF-γ (пг/мл)	22,0	6,8	3,7
CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (%)	10,0	9,1	10,0
IL-6 (пг/мл)	10,1	3,7	3,2

В дополнение к проводимой АРТ 19.09.2019 пациенту М. назначен курс АДФНа по схеме по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

При повторном визите 28.10.2019 оценка объективного статуса состояния видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки составила 1 балл, субъективная оценка – 3 балла, при бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки обнаружены альфа-гемолитические стрептококки в количестве, не имеющем этиологического значения (10 в 3 ст. КОЕ/мл). Также у пациента отмечено снижение уровня концентрации LBP с 50 мкг/мл до 40 мкг/мл,

IL-6 с 10,1 пг/мл до 3,7 пг/мл, INF- α с 11,2 пг/мл до 6,9 пг/мл, INF- γ с 22,0 пг/мл до 6,8 пг/мл и процентного содержания CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR с 10,0% до 9,1% (Таблица 5.5).

С целью определения продолжительности клинического эффекта курсового приема АДФНа пациенту был предложен дополнительный визит, который состоялся 13.01.2020. В целом была отмечена положительная динамика изменения объективных и субъективных данных, а также снижение концентрации LBP, IL-6, INF- α и INF- γ (Таблица 5.5).

Клинический пример 5. Пациент Т. 37 лет, состоит на диспансерном учете в центре по профилактике и борьбе со СПИД по месту регистрации с 2009 года (иммунный блот ВИЧ положительный от 10.05.2009). Диагноз от 20.08.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVA), фаза ремиссии на фоне АРТ. Получает АРТ с января 2014, текущая схема АРТ TDF+3ТС+EFV. Уровень приверженности АРТ оценен как высокий, переносимость препаратов хорошая. При визите 20.08.2019 пациент предъявляет жалобы на периодически возникающую кровоточивость десен во время чистки зубов, неприятные ощущения в деснах. В 1999 году установлен диагноз хронический гингивит. Периодически проходит курсы местного лечения, наблюдается в поликлинике по месту жительства. Результаты лабораторного обследования пациента от 18.08.2019: уровень CD4+ Т-клеток составлял 15% 270 клеток в мкл; уровень вирусной нагрузки ВИЧ – менее 50 копий/мл.

Самостоятельная оценка субъективных признаков по 5-ти балльной шкале – 3. При объективном осмотре состояние видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки соответствовало 2-м баллам. При бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки обнаружены *Staphylococcus aureus* 5x10 в 5 ст. КОЕ/мл, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) 5x10 в 5 ст. КОЕ/мл.

У пациента уровень концентрации LBP от 20.08.2019 превышал референсное значение и составлял 45,0 мкг/мл (Таблица 5.6).

Таблица 5.6 – Данные пациента Т.

Показатель	Визит 1 20.08.2019	Визит 2 7.10.2019	Визит 3 10.12.2019
Объективно (по 3-х бальной шкале)	2	2	1
Субъективно (по 5-ти бальной шкале)	3	2	2
LBP (мкг/мл)	45,0	46,0	38,0
Уровень CD4+ Т-лимфоцитов, кл. в мкл	270	279	284
Концентрация РНК ВИЧ в крови, копий в мл	менее 50	менее 50	менее 50
INF- α (пг/мл)	4,9	4,7	4,7
INF- γ (пг/мл)	62,0	48,4	44,0
CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (%)	8,8	8,4	6,0
IL-6 (пг/мл)	2,0	1,4	1,4

В дополнение к проводимой АРТ 20.08.2019 пациенту Т. назначен курс АДФНа по схеме по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

При повторном визите 7.10.2019 оценка объективного статуса состояния видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки не изменилась и составила 2 балла, субъективная оценка незначительно улучшилась до 2 баллов, при бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки обнаружены по прежнему коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) 5×10^5 в 5 ст. КОЕ/мл. Уровень концентрации LBP практически не изменился и составил 46,0 мкг/мл (Таблица 5.6).

С целью определения продолжительности клинического эффекта курсового приема АДФНа пациенту был предложен дополнительный визит, который состоялся 10.12.2019. По сравнению с 1-м визитом при обследовании через 3 месяца после окончания АДФНа была отмечена слабopоложительная динамика изменения объективных и субъективных данных, а также концентрации LBP, IL-6, INF- α , INF- γ и процентного содержания CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (Таблица 5.6).

Клинический пример 6. Пациент А. 43 года, состоит на диспансерном учете в центре по профилактике и борьбе со СПИД по месту регистрации с 2008 года (иммунный блот ВИЧ положительный от 14.05.2008). Диагноз от 20.05.2019: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (IVA), фаза ремиссии на фоне АРТ. Получает АРТ с июля 2011, текущая схема АРТ TDF+3ТС+ DTG. Уровень приверженности АРТ оценен как высокий, переносимость препаратов хорошая. При визите 20.05.2019 пациент предъявляет жалобы на неприятные ощущения в ротоглотке по утрам. С 2003 года установлен диагноз хронический гингивит. Периодически проходит курсы местного лечения, наблюдается в поликлинике по месту жительства. Результаты лабораторного обследования пациента от 18.08.2019: уровень CD4+ Т-клеток составлял 28% 602 клетки в мкл; уровень вирусной нагрузки ВИЧ – менее 50 копий/мл.

Самостоятельная оценка субъективных признаков по 5-ти балльной шкале – 1 балл. При объективном осмотре состояние видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки соответствовало 1 баллу. При бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки обнаружены *S. salivarius* 10 в 5 ст. КОЕ/мл, *Neisseria perflava* 10 в 6 ст. КОЕ/мл.

У пациента уровень концентрации LBP от 20.05.2019 превышал референсное значение и составлял 60,0 мкг/мл (Таблица 5.7).

Таблица 5.7 – Данные пациента А.

Показатель	Визит 1 20.05.2019	Визит 2 8.07.2019	Визит 3 09.09.2019
Объективно (по 3-х балльной шкале)	1	1	1
Субъективно (по 5-ти балльной шкале)	1	1	2
LBP (мкг/мл)	60,0	41,0	58,0
Уровень CD4+ Т-лимфоцитов, кл. в мкл	602	599	610
Концентрация РНК ВИЧ в крови, копий в мл	менее 50	менее 50	менее 50
INF-α (пг/мл)	10,9	4,3	9,1
INF-γ (пг/мл)	14,8	11,2	12,5
CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (%)	8,8	5,9	6,7
IL-6 (пг/мл)	2,0	1,1	1,9

В дополнение к проводимой АРТ 20.08.2019 пациенту А. назначен курс АДФНа по схеме по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

При повторном визите 08.07.2019 оценка субъективного статуса и объективного состояния видимых слизистых оболочек полости рта и ротоглотки не изменились и составили 1 балл, при бактериологическом исследовании мазка со слизистой задней стенки глотки патогенная и УПМ не обнаружены. Уровень концентрации LBP снизился и составил 41,0 мкг/мл, но остался выше референсных значений (Таблица 5.7).

С целью определения продолжительности клинического эффекта курсового приема АДФНа пациенту был предложен дополнительный визит, который состоялся 09.09.2019. Оказалось, что средний балл вновь повысился с 2 до 3 (Таблица 5.7), что может свидетельствовать о необходимости повторения курсов лечения АДФНа через 3 месяца. Динамика концентрации IL-6, INF- α , INF- γ и процентного содержания CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR также характеризовалась снижением показателей ко второму визиту с последующим небольшим ростом через 3 месяца после окончания приема АДФНа.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Детальное изучение патогенеза ВИЧ становится все более сложной задачей. С одной стороны, иммунная система человека играет доминирующую роль в ограничении репликации ВИЧ и истощении его мишеней, но с другой стороны, стойкий инфекционный процесс, создаваемый вирусом, связан с хронической активацией иммунной системы и воспалением, что потенциально приводит к прогрессирующему истощению иммунных ресурсов пациентов и способствует развитию сопутствующих заболеваний, напрямую не связанных с ВИЧ, таких как остеопороз, атеросклероз, снижение нейрокогнитивных функций, а также преждевременное старение [36; 79]. Развивающаяся иммуносупрессия при ВИЧ-инфекции сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляции лимфоцитов [178; 140]. Как было показано в предыдущих исследованиях ВИЧ-1 вызывает обширное повреждение поверхности слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, изменяет эпителиальную микросреду и нарушает антимикробные функции слизистого барьера [46; 95]. Массивное истощение клеток Th17, особенно в слизистой оболочке кишечника, приводит к потере целостности барьера и попаданию микробных продуктов в кровоток [21; 85]. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки и связанное с этим всасывание LPS и других микробных антигенов в системный компартмент считается основной причиной непрерывной активации CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток при ВИЧ-инфекции [46; 21; 166]. Сложные взаимодействия между LPS, CD14, миелоидной дифференцировкой-2 (MD-2) и Toll-подобным рецептором TLR-4 приводят к активации транскрипционного фактора NFκB и производству множественных воспалительных факторов [157; 90]. Кишечный микробиом в значительной степени регулируется врожденными и адаптивными звеньями иммунной системы, и микробиота способствует его поддержанию [184]. ВИЧ-инфекция вызывает композиционный сдвиг в кишечной микрофлоре, с обогащением популяций бактерий, гены и функциональные

возможности которых являются либо провоспалительными или потенциально патогенными, и их количество коррелирует с иммунным статусом [193; 121; 131]. Принимая во внимание роль изменений кишечной микрофлоры в патогенезе ВИЧ-инфекции, перспективным является изучение микробиоты других биотопов, в частности определение влияния нарушения микробного состава ротоглотки на иммунную активацию и системное воспаление при ВИЧ-инфекции. Постоянная активация иммунной системы может привести к микробному дисбиозу и росту потенциально патогенных бактерий, что создает воспалительный цикл. Некоторые компоненты сыворотки, которые отражают микробную транслокацию, доступны для использования в качестве биомаркеров, в том числе липополисахаридсвязывающий белок - LBP. LPS стимулирует выработку LBP, например, в гепатоцитах, который по механизму обратной связи перемещает LPS к CD14 и передает провоспалительные сигналы или в избытке связывает и нейтрализует LPS, уменьшая воспаление [66]. Среди молекул распознавания LPS LBP обладает уникальной способностью распознавать мультимеры LPS, образующиеся сразу после того, как LPS попадает в кровоток. LBP мономеризует LPS, и только этот мономер может распознаваться другими «акцепторами LPS», такими как CD14, MD-2 и TLR-4 [56]. LBP связывает через липидную часть молекулы мультимеры LPS и переносит мономеры LPS на CD14. Как только LPS переносится на CD14, иммунная клетка обнаруживает LPS через комплекс Toll-подобного рецептора 4 (TLR4)/MD2, что приводит к передаче сигналов по ряду возможных путей, способствуя выработке провоспалительных цитокинов [157; 90; 56]. У больных ВИЧ-инфекцией наблюдается повышенная продукция провоспалительных цитокинов, таких как интерфероны I типа (в том числе $\text{INF-}\alpha$), IL-8, IL-6, IL-1 α , IL-1 β , TGF- β , а также маркеров воспаления - растворимый CD14, цистатин, С и D-димеры, СРБ [36]. Стратегии лечения, направленные на купирование постоянной иммунной активации и воспаления, могут помочь предотвратить развитие этих состояний.

В ранее проведенных клинических исследованиях показана способность АДФНа влиять на клеточный и гуморальный иммунитет, в том числе увеличивать

функционально-метаболическую активность макрофагов, избыточный синтез активных форм кислорода и противовоспалительных цитокинов, стимулировать микробицидную функцию нейтрофильных гранулоцитов, усиливать фагоцитоз [261; 217]. Ранее в клинических исследованиях было показано положительное влияние АДФНа на нормализацию показателей иммунного статуса и цитокинового профиля при целом ряде неинфекционных и инфекционных заболеваний, в том числе вирусной этиологии [205; 249; 214; 234; 248; 218; 227; 206; 207]. Препарат эффективно применялся в комплексной терапии коинфекции ВИЧ+туберкулез [241; 240]. В настоящее время небольшое количество публикаций посвящено мониторингу состава микрофлоры ротоглотки у взрослых ВИЧ-инфицированных больных в условиях широкого применения АРТ и использованию дополнительных средств для коррекции микробиоценоза и LPS-индуцированного системного ответа при этой патологии.

В связи с этим **целью работы** стало изучение прогностической роли биомаркеров системного воспаления и активации иммунитета при ВИЧ-инфекции и оптимизация терапии на основании выявленных нарушений.

Исследование было сформировано из 2-х основных частей в соответствии с поставленными задачами. На первом этапе работ проводилось изучение прогностической значимости маркеров эндотоксинемии, системного воспаления и микробиоценоза ротоглотки у 276 взрослых больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от приема АРТ, показателей иммунного статуса и репликации ВИЧ. Для детального изучения факторов, влияющих на эндотоксиновый ответ, выраженность системного воспаления и состав микробиома ротоглотки, пациенты были распределены по группам в зависимости от приема АРТ (1-я группа - принимали АРТ, n=201; 2-я группа – не принимали АРТ, n= 75); по абсолютному числу CD4+Т-лимфоцитов, кл. в мкл (до 350 кл. в мкл, n=84; 2-я группа – больше или равно 350 кл. в мкл, n=192); по уровню концентрации РНК ВИЧ в крови, копий/мл (1-я группа - до 50 копий/мл, n=173; 2-я группа 50-100 тыс. копий/мл, n=47; 3-я группа – более 100 тыс. копий/мл, n=56). В задачи исследования на этом этапе входило определение методом ИФА концентрации LBP и маркеров

системного воспаления (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ); методом ПЦР - концентрации РНК ВИЧ в крови (ВН ВИЧ, копий/мл); методом проточной цитометрии ключевых параметров клеточного звена иммунитета с фенотипированием (CD45, CD38, CD62, RO, RA, HLA-DR); качественно-количественного определения состава микробиома ротоглотки. Для изучения диагностической значимости исследуемых маркеров системного воспаления и активации иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ с различной иммунологической эффективностью, пациенты были сформированы 2 группы: 1-я группа – получающие АРТ более 6 мес., CD4 менее 350 кл. в мкл, n=66; 2-я группа получающие АРТ более 6 мес., CD4 более 350 кл. в мкл, n=96.

На втором этапе работ было проведено сравнительное открытое проспективное клиническое исследование групп пациентов (с оценкой маркера антиэндотоксиновой защиты LBP и микробного пейзажа ротоглотки), одна из которых получала антиретровирусную терапию, а другая, АРТ, дополненную АДФНа. Пациенты были распределены на две группы методом независимой последовательной рандомизации: 1-я группа основная - 50 чел., 2-я группа сравнения - 58 чел. Больным из основной группы был назначен курс Аминодигидрофталазиндиона натрия (АДФНа) по схеме: по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель. Пациенты получали АРТ в соответствии с современными нормативными документами, действующими на момент проведения исследования [229].

Согласно полученным результатам, выявлено достоверное превышение средних значений концентрации LBP у исследуемых пациентов при сравнении со здоровыми лицами. Эти данные подтверждают, что у данной категории пациентов наблюдается усиление LPS-индуцированной антиэндотоксиновой защиты, приводящее к гиперактивации иммунной системы и формированию системного воспаления. Содержание большинства исследуемых маркеров системного воспаления (ПКТ, IL-6, IL1 β , TNF- α , IL-8, INF- α и INF- γ) оказались существенно повышенными у большей части пациентов, что является неблагоприятным

фактором для больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции и выраженным иммунодефицитом. Вместе с тем концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 у больных ВИЧ-инфекцией, включенных в наше исследование, соответствовала аналогичным показателям у здоровых лиц.

При проверке гипотез о связях между переменными с использованием коэффициентов корреляции Пирсона были получены данные о взаимосвязи концентрации LBP, отражающего выраженность антиэндотоксиновой защиты, с уровнем ключевых провоспалительных цитокинов.

- сильного уровня (r больше или равно 0,7) с IL-6
- среднего уровня ($r=0,5-0,69$) с INF- γ и INF- α
- слабого уровня ($r=0,2-0,49$) с TNF- α

Таким образом, результаты первого этапа исследования позволили выделить наиболее значимые маркеры LPS-обусловленного системного воспаления: IL-6, INF- γ , INF- α и TNF- α .

При изучении влияния репликации ВИЧ на активность системного воспаления были получены данные, свидетельствующие о том, что в группе больных, не принимающих АРТ, повышены средние уровни IL-6, IL-8 и INF- γ по сравнению с пациентами из группы, получавших АРТ. Уровень LBP, напротив, оказался выше в группе больных, получающих АРТ.

Оценка роли выраженности иммунодефицита показала, что в группе больных с низким уровнем CD4⁺ Т-лимфоцитов (менее 350 кл./мкл), оказались повышенными средние уровни LBP, ПКТ, IL-6, IL-10 и INF- γ по сравнению с пациентами из группы с более высоким уровнем CD4⁺ Т-лимфоцитов (более 350 кл./мкл). Между уровнем CD4⁺-лимфоцитов и содержанием LBP в крови была выявлена сильная обратная корреляционная связь (1 группа $r=-0,75$; 2 группа $r=0,7$). Таким образом, определяемый нами методом ИФА количественный маркер антиэндотоксинового иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией четко продемонстрировал зависимость активности выработки LBP от степени иммунодефицита [220].

В исследованиях было показано, что продукты гена ВИЧ, такие как Nef и gp120, способны напрямую стимулировать активацию макрофагов и лимфоцитов, приводя к секреции провоспалительных хемокинов и цитокинов [187]. Определенные белки ВИЧ имитируют и/или усиливают передачу сигналов рецептора TNF, вызывая постоянную репликацию ВИЧ в инфицированных клетках посредством активации ядерного фактора (NF- κ B), который является универсальным фактором транскрипции и обеспечивает контроль экспрессии генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла [161; 52]. Репликация ВИЧ приводит к потере гомеостаза Т-клеток, обуславливает активацию Т-клеток, стимулирует дифференцировку наивных клеток по отношению к антиген-экспонированным клеткам с последующим истощением Т-клеток и апоптозом. В нашем исследовании была изучена роль уровня репликации ВИЧ (виремии) в формировании системного воспаления. У пациентов 3-х групп выявлено достоверное превышение среднего уровня концентрации LBP по сравнению со здоровыми людьми ($p_{n-1, n-2, n-3} < 0,001$). Между уровнем вирусной нагрузки и содержанием LBP определялась прямая корреляционная связь среднего уровня ($r=0,4$).

У большинства пациентов уровень концентрации INF- α и INF- γ оказался значительно повышенным, что является неблагоприятным фактором для пациентов с поздними стадиями ВИЧ-инфекции. Более выраженным было повышение содержания INF- α и INF- γ в группах пациентов с определяемым уровнем репликации ВИЧ. Во 2-й и 3-й группах пациентов по сравнению с 1-й группой были выше уровни IL-1 β , IL6, TNF- α , IL8, IL10, но корреляционной связи между данными показателями и концентрацией РНК ВИЧ установлено не было. Тем не менее, у пациентов 3-й группы средний уровень концентрации TNF- α , IL10, INF- α и INF- γ был достоверно выше, чем у больных из 1-й группы.

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают, что подавление вирусной репликации РНК ВИЧ связано с более с низким уровнем LBP, TNF- α , IL-6, IL-10, INF- α и INF- γ . В исследовании Sachdeva R.K. с соавторами получены аналогичные данные о снижении концентрации IL-6,

IFN- γ , TNF- α и IL-12 через 6 месяцев АРТ, но их уровень оставался все же выше, чем у здоровых людей [162]. Отсутствие нормализации маркеров микробной транслокации и системного воспаления у пациентов с устойчивой неопределяемой вирусемией ВИЧ на фоне АРТ доказывает необходимость дальнейшего изучения механизмов формирования иммунной активации с целью разработки дополнительных лечебных мероприятий для коррекции антиэндотоксинового иммунитета и повышения эффективности лечения ВИЧ-инфекции.

Даже после многолетнего подавления репликации ВИЧ с помощью современной АРТ, не удастся достичь полного восстановления иммунной системы [188]. Уровни активации иммунной системы стали центральным элементом иммуномониторинга ВИЧ-инфицированных пациентов, так как они тесно связаны и позволяют прогнозировать прогрессирование ВИЧ-инфекции даже у пациентов с устойчивым подавлением вируса, опосредованным АРТ [32]. Развивающийся иммунодефицит при ВИЧ-инфекции сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляции лимфоцитов.

Согласно полученным нами данным, у подавляющего большинства больных ВИЧ-инфекцией выявлены признаки системного воспаления, сопровождающегося активацией системы антиэндотоксиновой защиты и повышением провоспалительных цитокинов. Выраженность системного воспаления при ВИЧ-инфекции находится в обратной связи от уровня иммунодефицита: у пациентов с низкими показателями CD4⁺ лимфоцитов даже на фоне АРТ определяется усиленная продукция антиэндотоксиновых белков, сопровождаемая мощной активацией медиаторов воспаления. На фоне ВИЧ-инфекции, цитокиновый профиль характеризуется более выраженной провоспалительной направленностью и наиболее вероятно отражает стадию иммунодефицита, а не эффективность АРТ. Уровень LBP можно рассматривать как косвенный критерий выраженности иммуносупрессии при ВИЧ-инфекции. Информативность LBP, как показателя, отражающего активность системного воспаления, была показана и другими исследователями на примере хронических заболеваний кишечника,

цирроза печени, хронического гепатита С [219; 244; 96]. Принимая во внимание доступность метода ИФА, появляется возможность мониторинга уровня LBP у больных ВИЧ-инфекцией для прогноза прогрессирования заболевания при проведении клинико-лабораторного диспансерного обследования.

Фенотипирование лимфоцитов и определение их малых клеточных популяций показало, что у больных ВИЧ-инфекцией значительно повышен процент клеток CD3+HLA-DR+, представляющих собой зрелые активированные Т-лимфоциты человека [262]. У больных ВИЧ-инфекцией были обнаружены существенные изменения фенотипа CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов по сравнению со здоровыми лицами. Данные изменения характеризовались достоверным снижением относительного количества CD4+ Т-лимфоцитов наивных (CD4+RA+) и повышением активированных CD4+ Т-лимфоцитов памяти (CD4+R0+). При этом оказалось, что у больных ВИЧ-инфекцией снижено содержание наивных Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD62L, по сравнению с клетками здоровых людей. У данной категории пациентов также имели место изменения фенотипа CD8+ Т-лимфоцитов с достоверным повышением относительного количества клеток с маркерами CD38+ или HLA-DR+, а также с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ по сравнению со здоровыми людьми ($p < 0,001$). Полученные данные подтверждают утверждение о том, что повышенные уровни экспрессии маркеров CD38+ и HLA-DR+ коррелируют с активацией субпопуляций CD8+ Т-клеток у больных ВИЧ-инфекцией [130]. Таким образом, отличительным признаком ВИЧ-инфекции являются постоянная активация иммунной системы, сопровождающаяся постоянным оборотом активированных CD8+ Т-клеток. Эти факторы играют решающую роль в патогенезе ВИЧ и прогрессировании заболевания за счет увеличения скорости истощения CD4+ Т-клеток [81]. Учитывая, что количество активированных Т-клеток с экспрессией маркеров активации клеток CD38 и HLA-DR на CD8+Т-лимфоцитах коррелирует со скоростью прогрессирования ВИЧ-инфекции, данный показатель очень важен для клинической практики. Для выявления причинно-следственных связей, было

проведено изучение влияния различных факторов на фенотипические изменения Т-лимфоцитов.

При изучении влияния АРТ на популяцию наивных Т-клеток с фенотипом 62L (CD4+CD45RA+62L+) было выявлено их преобладание у пациентов, не принимающих АРТ, по сравнению с пациентами на АРТ ($25,0 \pm 1,6$ и $19,7 \pm 1,9$ соответственно, $p < 0,05$). Уровень активированных Т-клеток с фенотипом CD45RA+CD45R0+ был достоверно повышен в группе больных ВИЧ-инфекцией без АРТ по сравнению с пациентами, принимающими АРТ: $0,3 \pm 0,1\%$ против $0,06 \pm 0,05\%$ ($p < 0,05$). Другими особенностями фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ, является снижение маркера поздней активации иммунитета CD3+HLA-DR+ ($50,8 \pm 1,5\%$), по сравнению со второй группой «наивных» пациентов ($62,1 \pm 2,4\%$), ($p < 0,001$).

Средние уровни активированных CD8+Т-клеток были значительно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих АРТ. Доля CD3+CD8+CD38+ составила в первой группе $56,7 \pm 1,7\%$, тогда как во второй группе – $69,9 \pm 2,5\%$ ($p < 0,001$); в первой группе уровень CD3+CD8+HLA-DR+клеток в среднем составил $17,7 \pm 1,0\%$, а во второй группе – $33,2 \pm 1,9\%$ ($p < 0,001$). Как и ожидалось, у ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих АРТ, наблюдалась более высокая доля CD3+CD8+CD38+HLA-DR+клеток, чем у пациентов на АРТ ($18,6 \pm 1,2\%$ против $32,9 \pm 2,2\%$, $p < 0,001$).

ВИЧ-инфекция вызывает выраженную активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, индуцирует и поддерживает в организме системное воспаление. У ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне приема АРТ отмечается снижение доли наивных Т-клеток и увеличение уровня Т-клеток памяти. Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что АРТ положительно влияет на активность Т-клеток, но не нормализует ее.

При изучении популяций наивных Т-клеток с фенотипом CD4+CD45RA+CD45R0- и Т-клеток памяти (CD4+CD45RA–CD45R0+) у больных ВИЧ-инфекцией с различным уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови достоверных отличий выявлено не было. Процент активированных Т-клеток

(CD45RA+CD45R0+) был достоверно выше в группах пациентов с определяемым уровнем репликации РНК ВИЧ в крови (2-я группа - на уровне 50-100 тыс. копий/мл; 3-я группа - более 100 тыс. копий/мл, соответственно), по сравнению с группой пациентов с неопределяемой «вирусной нагрузкой»: $0,07 \pm 0,025\%$ и $0,35 \pm 0,06\%$ против $0,01 \pm 0,006\%$, соответственно. Средние уровни активированных CD8+Т-клеток были значительно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов с высокой вирусной нагрузкой ВИЧ. Процентное содержание клеток с фенотипами CD3+/CD8+/CD38+, CD3+/CD8+/HLA-DR+ и CD3+/CD8+/CD38+HLA-DR+ были на достоверно более высоком уровне у пациентов 2-й и 3-й групп с неполным подавлением вирусной репликации, по сравнению с 1-ой группой. Вместе с тем, доля CD8+Т-лимфоцитов, несущих на своей поверхности CD38+ и HLA-DR+, остается повышенной даже при полном (менее 50 копий/мл) подавлении репликации ВИЧ. Выявлена прямая взаимосвязь среднего уровня между концентрацией РНК ВИЧ в крови и процентным содержанием CD3+CD8+HLA-DR+ и CD3+CD8+CD38+HLA-DR+клеток ($r=0,35$). Уровни CD8+ Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+ коррелируют с концентрацией РНК ВИЧ, уменьшаясь при подавлении репликации ВИЧ на фоне АРТ. Таким образом, постоянно высокие уровни CD38+HLA-DR+клеток могут быть индикатором репликации ВИЧ.

У ВИЧ-инфицированных пациентов по мере прогрессирования иммунодефицита отмечается снижение доли наивных CD4+ Т-клеток (RA+), включая фенотип CD3+/CD4+/45RA+/62L+, при одновременном увеличении уровня CD4+Т-клеток памяти (R0+). Также у этих пациентов повышается относительное количество активированных Т-хелперов с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+, активированных CD8+Т-клеток с экспрессией поверхностных маркеров CD38+ и HLA-DR+. У пациентов 1-ой группы с CD4 < 350 кл. в мкл на достоверно более высоком уровне оказалось среднее содержание CD8+ Т-клеток с экспрессией HLA-DR+ и коэкспрессией CD38+ и HLA-DR+, по сравнению со 2-й группой с CD4 > 350 кл. в мкл. Между абсолютным

количеством CD4+клеток и уровнем CD3+CD8+CD38+HLA-DR+клеток определена обратная корреляция средней силы ($r=0,4$).

Изучение микробиома человека продолжает оставаться актуальным вопросом, однако сообщения об изменениях в микробиоте у больных ВИЧ-инфекцией все еще ограничены. Последние достижения, обусловленные внедрением современных методов исследования в микробиологии, включая масс-спектрометрию, значительно увеличили наши диагностические возможности для анализа микробных ассоциаций, включая их функциональные изменения, влияющие на течение заболеваний.

Орофарингеальные заболевания являются источником хронического воспаления [77] и могут выступать в качестве независимого фактора прогрессирования ВИЧ-инфекции. В последние годы роль микробиоты в патогенезе ВИЧ-инфекции стала предметом интенсивных исследований [195; 2; 5; 113; 222]. В результате проведенного нами анализа микробного пейзажа культивируемых микроорганизмов в биотопе ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией преобладали условно-патогенные представители микробиоты ротоглотки: стрептококки альфа-гемолитические – 48,0%, коагулазоотрицательные стафилококки – 32,4%, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) – 24,5%, *Staphylococcus aureus* – 22,5% и пневмококки (*S. pneumoniae*) – 17,6%. С большой частотой (15,7%) выявляли микроорганизмы рода *Streptococcus* группы А, обладающие β -гемолитической активностью (*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др.). Альфа-гемолитические стрептококки были представлены *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. ovaries*. У 4,0% встречались негемолитические стрептококки (*S. mitis*). В единичных случаях выделяли *S. anginosus*, *S. oralis* и *S. peroris*. В целом, у ВИЧ-инфицированных больных было отмечено снижение частоты выявления представителей облигатной микрофлоры ротоглотки (кроме дрожжеподобных грибов), на фоне которого повышалось выделение потенциально патогенных микроорганизмов. При изучении возможных факторов, связанных с наличием или отсутствием интенсивной колонизации условно-патогенной микрофлоры у исследуемого контингента

больных, была обнаружена связь с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов. Так, у пациентов с выявленной высокой обсемененностью УПМ, уровень абсолютного числа CD4⁺Т-лимфоцитов был достоверно ниже, чем у больных с отсутствием превышения количественных титров роста УПМ: $458,2 \pm 19,4$ кл. в мкл. против $512,5 \pm 19,4$ кл. в мкл, $p < 0,05$. Между частотой выделения *Staphylococcus aureus* и уровнем CD4⁺Т-лимфоцитов была установлена сильная отрицательная корреляционная связь ($r=0,74$), с *Candida albicans* – умеренная отрицательная ($r=0,51$). При изучении видового состава микрофлоры ротоглотки было обнаружено, что в группе пациентов с высоким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов (более 350 кл. в мкл) он в 2,2 раза разнообразнее, чем у пациентов с CD4 менее 350 кл. в мкл. Полученные нами данные о снижении видового разнообразия микрофлоры ротоглотки по мере прогрессирования иммунодефицита согласуются с предыдущими исследованиями [105]. При проведении анализа количественного состава микрофлоры было выявлено, что у пациентов 1-й группы (абсолютное число CD4⁺ Т-лимфоцитов менее 350 кл. в мкл) по сравнению со 2-й группой частота выделения была на достоверно более высоком уровне ($p < 0,05$) *Staphylococcus aureus*: $16,5 \pm 4,6\%$ против $5,9 \pm 2,6\%$ и дрожжеподобных грибов рода *Candida*: $12,1\% \pm 4,0$ против $6,0 \pm 2,6\%$, соответственно. Напротив, во второй группе по сравнению с первой чаще обнаруживались нейссерии ($8,7 \pm 3,1\%$ против $1,7 \pm 1,6\%$) и стрептококки альфа-гемолитические ($24,0 \pm 4,7\%$ против $11,7 \pm 4,0$, соответственно). Таким образом, изучение носительства отдельных представителей УПМ является важным аспектом, касающимся популяции больных ВИЧ-инфекцией с выраженным иммунодефицитом и определяющий риск манифестных форм инфекционного процесса.

Видовой состав микрофлоры ротоглотки в 1-й группе пациентов, принимающих АРТ ($n=201$), был в 3,4 раза разнообразнее, чем у пациентов 2-й группы (не принимали АРТ, $n=75$) и имел тенденцию к нормализации (т.е. частота выделения представителей нормофлоры в 1-ой группе были достоверно выше по сравнению со 2-ой группой).

При изучении состава микрофлоры ротоглотки в группах больных с разным уровнем репликации РНК ВИЧ получены данные, свидетельствующие о том, что у пациентов с определяемым уровнем вирусной нагрузки (более 50 копий/мл) снижается видовое разнообразие микрофлоры. У больных из группы с высокой концентрации РНК ВИЧ (более 100 тыс. копий/мл, n=56) при бактериологическом посеве биологического материала со слизистой ротоглотки не определялись лактобациллы, нейссерии, альфа-гемолитические стрептококки, энтеробактерии и ацинетобактерии. Микрофлора ротоглотки у этой группы пациентов преимущественно была представлена *S. aureus*, *S. pneumoniae*, а также коагулазоотрицательными, коагулазоположительными стафилококками и дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

Наши результаты дают новое понимание влияния ВИЧ-инфекции на гомеостаз микроорганизмов в микробиоме ротоглотки и показывают потенциальную взаимосвязь между высокой вирусемией ВИЧ и колонизацией биотопа дрожжеподобными грибами рода *Candida* и коринеформными бактериями (*Corynebacterium*) на фоне снижения колонизирующей способности у альфа-гемолитических стрептококков и нейссерий у больных ВИЧ-инфекцией. Большое клиническое значение имеет восстановление микробиоты ротоглотки, элиминация микробных и грибковых патогенов, вегетирующих на слизистой оболочке, что позволит профилактировать дальнейшее распространение множества ассоциированных между собой микроорганизмов, в том числе хронизацию и генерализацию инфекционного процесса [215]

Согласно данным проведенного исследования, концентрация LBP, отражает выраженность антиэндотоксиновой защиты, а также коррелирует с уровнем ключевых провоспалительных цитокинов (INF- γ , INF- α , IL-6) и процентным содержанием активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR. Это послужило предпосылкой для оценки возможности его использования для прогнозирования ВИЧ-инфекции в сочетании с другими маркерами системного воспаления.

В ходе проведения исследования был разработан способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции на основе комплексной оценки маркеров эндотоксинемии, системного воспаления и активации иммунитета, методика проведения которого подробно изложена в главе 4. Методом твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови больных ВИЧ-инфекцией через 6 месяцев после начала АРТ помимо установленного стандартом обследования определяют концентрацию маркера антиэндотоксиновой защиты (LBP) и уровень провоспалительных цитокинов (INF- γ , INF- α и IL-6), а также методом проточной цитометрии определяют процентное содержание активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR. На основании полученных результатов в соответствии с предложенной методикой рассчитывается суммарный воспалительный коэффициент (Кв) и определяется вероятность развития быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции (Р).

Критическим значениям уровней концентрации липополисахарид-связывающего белка (LBP), ключевых провоспалительных цитокинов: INF- γ , INF- α , IL-6, а также процентного содержания активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR присваивают баллы:

- увеличение уровня LBP от 55,1 до 80,0 мкг/мл соответствует 1 баллу; от 80,1 мкг/мл и выше – 2 баллам;
- повышение уровня INF- γ от 15,1 до 40,0 пг/мл соответствует 1 баллу; от 40,1 пг/мл и выше - 2 баллам;
- повышение уровня INF- α от 9,1 до 15,0 пг/мл соответствует 1 баллу; от 15,1 пг/мл и выше - 2 баллам;
- повышение уровня концентрации IL-6 свыше 10,1 пг/мл оценивают в 1 балл;
- процентное содержание CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR свыше 22,4% соответствует 1 баллу;

По сумме баллов рассчитывают величину суммарного воспалительного коэффициента Кв. При величине Кв равном от 1 до 3 баллов, определяют низкий

риск прогрессирования ВИЧ-инфекции; а при величине Кв, равном от 4 и более баллов, прогнозируют высокий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции.

В случае выявления высокого риска прогрессирования ВИЧ-инфекции пациент нуждается в дополнительном внеплановом диспансерном обследовании.

Согласно результатам, полученным при построении ROC-кривой LBP (Рисунок 4.1) с использованием метода бинарной логистической регрессии, вероятность быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 90,2% ($AUC=0,902$), чувствительность метода - 85,37% и специфичность - 80,77%. Данные построения ROC-кривой INF- γ с использованием аналогичного метода свидетельствуют, что вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции составляет 83,8% ($AUC=0,838$), чувствительность метода 86,11% и специфичность 73,53% (Рисунок 4.2). По данным ROC-кривой INF- α , также построенной с использованием метода бинарной логистической регрессии, вероятность развития прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 85,4% ($AUC=0,854$), чувствительность метода 83,33% и специфичность 82,14% (Рисунок 4.3).

Для оценки качества методики определения вероятности быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции нами была разработана прогностическая модель с помощью метода бинарной логистической регрессии. В результате была получена логистическая функция (1), включающая 3 основных предиктора: LBP, INF- γ и INF- α .

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = 1/(1+e^{-z}) * 100\%$$

$$z = -4,17 + 0,09 * X_{LBP} - 0,05 * X_{INF-\gamma} - 0,03 * X_{INF-\alpha} \quad (1)$$

где

p - вероятность развития прогрессирования (в долях единицы),

X_{LBP} – концентрация LBP (мкг/мл),

$X_{INF-\gamma}$ - концентрация INF- γ (пг/мл),

$X_{INF-\alpha}$ - концентрация INF- α (пг/мл).

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, значение такого фактора, как LBP, имеют прямую связь с вероятностью прогрессирования ВИЧ-инфекции. Увеличение значения LBP на 1 мкг/мл увеличивает шансы прогрессирования заболевания в 1,09 раз. В свою очередь, значение таких факторов, как INF- γ и INF- α также увеличивают риск прогрессирования ВИЧ-инфекции. Увеличение значений концентраций INF- γ и INF- α на 1 пг/мл увеличивает риск прогрессирования заболевания в 1,05 раз и 1,03 раз, соответственно.

Полученная регрессионная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации, модель (1) учитывает 56,5% факторов, определяющих развитие прогрессирования ВИЧ-инфекции. Чувствительность предлагаемого метода прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции составила 77,5%, специфичность - 86,7%. Диагностическая эффективность модели составила 81,4%. Площадь под ROC-кривой составила $0,915 \pm 0,038$ с 95% ДИ: 0,840-0,99 (Рисунок 4.4).

Таким образом, в ходе исследования была получена методика, которая с высокой точностью позволяет прогнозировать течение ВИЧ-инфекции на фоне АРТ и в ранние сроки может определять риск развития прогрессирования заболевания. Предполагается, что использование данного метода поможет врачам вовремя выбрать соответствующую лечебную тактику для пациентов с неблагоприятным прогностическим риском, предотвращая реализацию негативного прогноза.

Как показывают результаты исследования, подробно изложенные в главе 3, §3.1.1. и 3.2.1. антиретровирусная терапия позволяет существенно снизить выраженность системного воспаления и иммунной активации у больных ВИЧ-инфекцией, но даже на фоне эффективного лечения не происходит нормализации соответствующих показателей [134; 78; 223]. Даже при неопределяемом уровне РНК ВИЧ у больных сохраняется дисбаланс цитокиновой секреции, что проявляется более высоким содержанием в крови, по сравнению со здоровыми лицами, IL-1 β , TNF- α , IL8, INF- α и INF- γ . Пациенты с более высоким уровнем

маркеров системного воспаления, даже на фоне АРТ, подвергаются повышенному риску смертности, в связи с развитием печеночной, метаболической, почечной и сердечно-сосудистой патологии [265; 125] и дальнейшее понимание их роли при ВИЧ-инфекции расширит наши знания о патогенезе и лечении ВИЧ. В большинстве случаев микрофлора ротоглотки больных ВИЧ-инфекцией даже на фоне АРТ имеет существенные различия с составом микробиоты аналогичной локализации у здоровых лиц. Потенциально опасным является наличие представителей возбудителей оппортунистических инфекций в высоких количественных титрах. С таким составом микробиоты ротоглотки вполне согласуется и высокий уровень LBP, основной функцией которого является связывание эндотоксинов бактерий.

Принимая во внимание полученные результаты исследования, вполне обоснованной явилась гипотеза о возможном использовании АДФНа в составе комплексной терапии у взрослых больных ВИЧ-инфекцией в дополнение к АРТ для коррекции микробиоты, маркеров активации иммунитета и системного воспаления [222; 223]. Для этой цели больные ВИЧ-инфекцией, получающие АРТ, были распределены на две группы методом независимой последовательной рандомизации: 1-я группа основная - 50 чел., 2-я группа сравнения - 58 чел. Больным из основной группы был назначен курс АДФНа по схеме: по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель. Эффективность применения АДФНа оценивалась в процессе лечебных мероприятий больных ВИЧ-инфекцией по объективным признакам с определением в динамике уровня особо значимых представителей некоторых групп цитокинов: TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , INF- α , ПКТ, а также концентрации LBP. В ходе исследования было выявлено, что в 1-й и 2-й группах больных ВИЧ-инфекцией концентрация LBP была на достоверно более высоком уровне по сравнению со здоровыми людьми. При исследовании через 4 недели в 1-й группе отмечалось достоверное снижение LBP до $70,9 \pm 4,6$ мкг/мл по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$). Сравнительный анализ динамики изменения концентрации LBP во 2-й группе достоверных отличий не выявил. У

пациентов обеих групп наблюдался сдвиг цитокинового профиля в провоспалительную сторону с достоверным превышением средних значений концентрации IL1 β , TNF- α , IL6, IL8, INF- α и INF- γ по сравнению с контрольной группой, что отражает системный воспалительный ответ. При сравнении средних значений концентрации противовоспалительного цитокина IL10 в обеих группах с аналогичными показателями у здоровых лиц достоверных отличий не выявлено.

Следует отметить, что при повторном обследовании пациентов через 4 недели в 1-й группе было также выявлено снижение IL-6, IL-8, INF- α CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR ($p < 0,05$) по сравнению с исходными показателями до начала лечения АДФНа. При сравнении аналогичных показателей во 2-й группе по в динамике заболевания достоверных изменений не выявлено.

В группе больных, помимо АРТ принимавших АДФНа, было отмечено снижение числа потенциальных патогенов в микробиоте ротоглотки – *Staphylococcus aureus*, бета-гемолитических стрептококков, дрожжеподобных грибов рода *Candida*, энтеробактерий и ацинетобактерий.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали положительное влияние АДФНа на течение ВИЧ-инфекции при добавлении его к стандартной схеме АРТ. Это выразилось в более быстрой динамике снижения маркера антиэндотоксиновой защиты LBP, провоспалительных цитокинов IL6, IL8 и INF- α , процентного содержания CD8+ Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR, а также в восстановлении биоценоза ротоглотки.

Вероятно, способность этого препарата оказывать непосредственное или опосредованное влияние на системный воспалительный ответ при ВИЧ-инфекции, в условиях подавления репликации ВИЧ с помощью АРТ, была обусловлена подавлением избыточного синтеза цитокинов, определяющих степень воспалительных реакций и их цикличность. Позитивное влияние АДФНа на состав микробиоты ротоглотки, вероятно, связан с его способностью влиять на функциональное состояние макрофагов, в частности усиливать макрофагальный фагоцитоз. Для определения продолжительности выявленных эффектов, целесообразности и кратности повторных курсов лечения

иммуномодулирующими препаратами на фоне АРТ требуются дальнейшие исследования.

Вместе с тем, приведенные доводы позволяют сделать вывод о том, что АДФНа может применяться у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ, для нивелирования местных и общих симптомов заболевания, нормализации микробиоты ротоглотки.



Схема 1. Потенциальные механизмы системного воспаления и иммунной активации при ВИЧ-инфекции и влияние АДФНа на эти звенья патогенеза

ВЫВОДЫ

1. У больных ВИЧ-инфекцией наблюдается усиление антиэндотоксиновой защиты, приводящее к гиперактивации маркеров системного воспаления (ПКТ, IL1 β , IL6, IL8, TNF- α , INF- α и INF- γ) и уровня LBP. Установленная сильная обратная корреляционная связь между уровнем CD4+-лимфоцитов и содержанием LBP в крови доказывает зависимость активности выработки LBP от степени иммунодефицита у больных ВИЧ-инфекцией.

2. На фоне приема АРТ, даже при полном подавлении вирусной нагрузки, установлено повышение относительного количества активированных CD8+Т-клеток, несущих на своей поверхности CD38 и HLA-DR. У ВИЧ-инфицированных пациентов по мере прогрессирования иммунодефицита отмечается снижение доли наивных CD4+ Т-клеток (RA+), включая фенотип CD3+/CD4+/45RA+/62L+, при одновременном увеличении уровня CD4+Т-клеток памяти (R0+), повышение относительного количества активированных Т-хелперов с фенотипом CD3+/CD4+/RA+/RO+.

3. У большинства пациентов выявлена интенсивная колонизация слизистой ротоглотки условно-патогенной микробной флорой в высоких количественных титрах в сравнении со здоровыми лицами. Чаще всего обнаруживаются многокомпонентные ассоциации УПМ. С таким составом микробиоты ротоглотки вполне согласуется и высокий уровень LBP, основной функцией которого является связывание эндотоксинов бактерий.

4. Выраженность иммунной активации является дополнительным прогностическим маркером течения ВИЧ-инфекции, позволяющим проводить оценку темпов прогрессирования заболевания спустя полгода после начала АРТ. При оценке прогноза течения заболевания следует учитывать интегративный коэффициент, включающий процентное содержание Т-клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR (%), а также концентрации LBP, IL6, INF- γ , и INF- α в крови.

5. У больных ВИЧ-инфекцией на фоне антиретровирусной терапии, дополненной АДФНа, отмечается снижение концентрации LBP, провоспалительных цитокинов IL6, IL8 и INF- α , процентного содержания CD8+ Т-клеток с коэкспрессией CD38+ и HLA-DR и нормализация состава микробиоты ротоглотки. Курсовой прием АДФНа способствует повышению эффективности и переносимости АРТ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогнозирования прогрессирования ВИЧ-инфекции через полгода после начала АРТ целесообразна оценка выраженности у пациента системного воспаления, снижающего иммунологическую эффективность антиретровирусной терапии. Для этого рекомендуется определение концентрации липополисахарид-связывающего белка (LBP), уровня ключевых провоспалительных цитокинов: INF- γ , INF- α , IL-6 и процентного содержания активированных клеток с фенотипом CD3+/CD8+/CD38+/HLA-DR. На основании полученных результатов рассчитывают величину суммарного воспалительного коэффициента Кв, равного сумме баллов для каждого показателя, и при величине Кв, равном от 1 до 3 баллов, определяют низкий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции; а при величине Кв, равном от 4 и более баллов, прогнозируют высокий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции. В случае выявления высокого риска прогрессирования ВИЧ-инфекции пациент нуждается в более частом диспансерном обследовании.

2. Для лечения хронического поражения слизистой ротоглотки, нормализации состава микробиоты, а также снижения активности системного воспаления при ВИЧ-инфекции рекомендовано применение АДФНа дополнительно к антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции по 1 таблетке 0,05 г сублингвально 4 раза в день в течение 5 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ABC - абакавир

ЗТС - ламивудин

BPI - бактерицидный / повышающий проницаемость белок

DRV/r – дарунавир/ритонавир

DTG - долутегравир

EFV – эфавиренз

HS-CRP - High-sensitivity C-reactive Protein / С-реактивный белок, ультрачувствительный

IL – интерлейкин

INF- интерферон

LPS/ – ЛПС, липополисахарид

sCD14 - растворимый CD14

SIV-инфекция - вирусный иммунодефицит обезьян

TDF – тенофовир

Th – CD4+T helper

TNF- α – фактор некроза опухоли - альфа

АДФНа - Аминодигидрофталазиндион натрия

АРП – антиретровирусные препараты

АРТ - антиретровирусная терапия

ВГС – вирус гепатита С

ВН – вирусная нагрузка

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ЦПБ со СПИД - Центр по профилактике и борьбе со СПИДом

ДК – дендритные клетки

ИИ - ингибиторы интегразы

ИП - ингибиторы протеазы

ИРИ – иммунорегуляторный индекс

ИФА – иммуноферментный анализ

Кв - воспалительный коэффициент

МТ – микробная транслокация

МФ - микрофлора

НИОТ - Нуклеозидные/нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы

ННИОТ - Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы

ОИ - оппортунистические инфекции

ПАВ- психоактивные вещества

пДК - плазмоцитоподобные дендритные клетки

Р - вероятность развития быстрого прогрессирования ВИЧ-инфекции

РНК ВИЧ - рибонуклеиновая кислота вируса иммунодефицита человека

СКФО - Северо-Кавказский федеральный округ

УПМ - условно-патогенные микроорганизмы

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора - Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора

ЦМВ - цитомегаловирус

ЭТ – эндотоксин грамотрицательных микроорганизмов

ЮНЭЙДС - Объединенная программа Организации Объединённых Наций по ВИЧ/СПИДу

ЮОЦПБ со СПИДом – Южный окружной центр по профилактике и борьбе со СПИДом

ЮФО – Южный федеральный округ

Список литературы

1. Ahmad, A. IL-15 and HIV infection: lessons for immunotherapy and vaccination. / A. Ahmad, R. Ahmad, A. Iannello, E. Toma, R. Morisset [et al.] // *Current HIV research*. – 2005. – Т. 3. – №. 3. – С. 261-270. Doi: 10.2174/1570162054368093
2. Ahmed N. et al. Oropharyngeal microbiome of an HIV-positive patient // *Microbial Pathogenesis*. – 2020. – Т. 139. – С. 103805. Doi: doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103805.
3. Al-Sadi, R. Mechanism of cytokine modulation of epithelial tight junction barrier / R. Al-Sadi, M. Boivin, T. Ma // *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. – 2009. – Т. 14. – P. 2765–2778. Doi:10.2741/3413
4. Alter, G. Single-stranded RNA derived from HIV-1 serves as a potent activator of NK cells. / G. Alter, T.J. Suscovich, N. Teigen, A. Meier, H. Streeck, C. Brander, M. Altfeld // *Иммунологический журнал*. – 2007. – Т. 178. – №. 12. – С. 7658-7666. Doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.12.7658>
5. Amano, A. Cardiovascular diseases and periodontal diseases / A. Amano, H. Inaba // *Clinical calcium*. – 2012. – Т. 22. – №. 1. – С. 43-48. Doi: <https://doi.org/clica12014348>
6. Ananworanich, J. Impact of multi-targeted antiretroviral treatment on gut T cell depletion and HIV reservoir seeding during acute HIV infection. / J. Ananworanich, A. Schuetz, C. Vandergeeten [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 3. Doi: 10.1371/journal.pone.0033948
7. Ananworanich, J. Virological and immunological characteristics of HIV-infected individuals at the earliest stage of infection / J. Ananworanich, C.P. Sacdalan, S. Pinyakorn [et al.] // *J. Virus Erad.* 2016. – Vol. 2, N 3. – P. 43-48. PMID: 26889497
8. Angel, J.B. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of recombinant human interleukin-10 in HIV-infected subjects. / J. B. Angel, M. A. Jacobson, P. R. Skolnik, M. Giordano, L. Shapiro, A. LeBeaut [et al.] // *Aids*. – 2000. – Т. 14. – №. 16. – С. 2503-2508. Doi: 10.1097/00002030-200011100-00012
9. Archin, N.M. From the cover: immediate antiviral therapy appears to restrict resting CD4⁺ cell HIV-1 infection without accelerating the decay of latent infection. / N.M. Archin, N.K. Vaidya, J.D. Kuruc [et al.] // *Proc Natl Acad Sci*. – 2012. – Vol. 109, N. 24 - P. 9523–9528. Doi: 10.1073/pnas.1120248109.
10. Autran, B. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺T cell homeostasis and function in advanced HIV disease / B. Autran, G. Carcelain, T.S. Li [et al.] // *Science*. – 1997. – Vol. 277, N 5322. – P. 112–116. Doi: 10.1126/science.277.5322.112
11. Autran, B. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy / B. Autran, G. Carcelain, T.S. Li [et al.] // *Immunology Letters*. – 1999. – Vol. 66, N. 1-3. – P. 207–211. Doi: 10.1016/S0165-2478(98)00159-X
12. Beck, J. M. Multicenter comparison of lung and oral microbiomes of HIV-infected and HIV-uninfected individuals/ J. M. Beck, P. D. Schloss, A. Venkataraman, [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2015. – Vol. 192. – №. 11. – P. 1335-1344. Doi: <https://doi.org/10.1164/rccm.201501-0128OC>
13. Beignon, A.S. Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Tolllike receptor- viral RNA interactions. / A. S. Beignon, K. McKenna, M. Skoberne, O. Manches, I. DaSilva, D. G. Kavanagh [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2005. – Т. 115. – №. 11. – С. 3265-3275. Doi:10.1172/JCI26032
14. Bekisz, J. Human interferons alpha, beta and omega // J. Bekisz, H. Schmeisser, J. Hernandez, N.D. Goldman, K.C. Zoon // *Growth factors*. – 2004. – Т. 22. – №. 4. – С. 243-251. Doi: <https://doi.org/10.1080/08977190400000833>
15. Beutler, B. A. TLRs and innate immunity // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2009. – Т. 113, N 7. – С. 1399-1407. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-019307>
16. Breen, E. C. Infection with HIV is associated with elevated IL-6 levels and production/ E. C. Breen, A. R. Rezai, K. Nakajima [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 1990. – Т. 144. – №. 2. – С. 480-484. PMID:2295799
17. Brenchley, J.M. CD4⁺ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. / J.M. Brenchley, T.W. Schacker, L.E. Ruff, D.A. Price, J.H. Taylor, G.J. Beilman [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2004. – Т. 200. – №. 6. – С. 749-759. <https://doi.org/10.1084/jem.20040874>
18. Brenchley, J.M. Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. / J. M. Brenchley, M. Paiardini, K. S. Knox, A. I. Asher, B. Cervasi, T. E. Asher [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2008. – Т. 112, N 7. – С. 2826-2835. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-159301>
19. Brenchley, J.M. Expression of CD57 defines replicative senescence and antigen-induced apoptotic death of CD8⁺ T cells /Brenchley, J. M., Karandikar, N. J., Betts, M. R., Ambrozak, D.

- R., Hill, B. J., Crotty, L. E., [et al.] // *Blood*, The Journal of the American Society of Hematology. – 2003. – T. 101. – №. 7. – C. 2711-2720. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2103>
20. Brenchley, J.M. Microbial translocation across the GI tract. / Brenchley J.M., Douek D.C. // *Annual review of immunology*. – 2012. – T. 30. – C. 149-173. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075001>
21. Brenchley, J.M. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection / J.M. Brenchley, D.A. Price, T.W. Schacker [et al.] // *Nat Med*. – 2006. – Vol.12, N. 12. – P.1365-1371. Doi: [10.1038/nm1511](https://doi.org/10.1038/nm1511)
22. Burdo, T.H. Soluble CD163 made by monocyte/macrophages is a novel marker of HIV activity in early and chronic infection prior to and after antiretroviral therapy / T.H. Burdo, M.R. Lentz, P. Autissier, A. Krishnan, E. Halpern, S. Letendre [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2011. – T. 204. – №. 1. – C. 154-163. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jir214>
23. Calabrese, L.H. Placebo-controlled trial of Cyclosporin-A in HIV-1 disease: Implications for solid organ transplantation / L.H. Calabrese, M.M. Lederman, J. Spritzler [et al.] // *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. – 2002. – T. 29. – №. 4. – C. 356-362. Doi: [10.1097/00126334-200204010-00005](https://doi.org/10.1097/00126334-200204010-00005)
24. Cassol, E. Persistent microbial translocation and immune activation in HIV-1-infected South Africans receiving combination antiretroviral therapy / E. Cassol, S. Malfeld, P. Mahasha, S. Van Der Merwe, S. Cassol, C. Seebregts [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2010. – T. 202. – №. 5. – C. 723-733. Doi: <https://doi.org/10.1086/655229>
25. Castilho, J.L. CD4/CD8 ratio, age, and risk of serious non-communicable diseases in HIV-infected adults on antiretroviral therapy / J.L. Castilho, B.E. Shepherd, J. Koethe, M. Turner, S. Bebawy, J. Logan [et al.] // *AIDS (London, England)*. – 2016. – T. 30, N 6. – C. 899. Doi: [10.1097/QAD.0000000000001005](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001005)
26. Cecchinato, V. Altered balance between Th17 and Th1 cells at mucosal sites predicts AIDS progression in simian immunodeficiency virus-infected macaques. V. Cecchinato, C. J. Trindade, A. Laurence, J. M. Heraud, J. M., Brenchley, M. G. Ferrari [et al.] // *Mucosal immunology*. – 2008. – T. 1, N 4. – P. 279-288. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.14>
27. Chahroudi, A. Interleukin-7 in HIV pathogenesis and therapy. / A. Chahroudi, G. Silvestri // *European cytokine network*. – 2010. – T. 21. – №. 3. – C. 202-207. Doi : [10.1684/ecn.2010.0205](https://doi.org/10.1684/ecn.2010.0205)
28. Cho, I. The human microbiome: at the interface of health and disease/ I. Cho, M.J. Blaser // *Nature Reviews Genetics*. – 2012. – T. 13. – №. 4. – C. 260-270. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrg3182>
29. Chow, J. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease / J. Chow, H. Tang, S.K. Mazmanian // *Current opinion in immunology*. – 2011. – T. 23, N 4. – C. 473-480. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.07.010>
30. Chung, C.Y. Progressive proximal-to-distal reduction in expression of the tight junction complex in colonic epithelium of virally suppressed HIVR individuals / C.Y. Chung, S.L. Alden, N.T. Funderburg, P. Fu, A.D. Levine // *PLoS pathogens*. – 2014. – T. 10. – №. 6. Doi: [10.1371/journal.ppat.1004198](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004198)
31. Cooper, P. Early benefits of a starter formula enriched in prebiotics and probiotics on the gut microbiota of healthy infants born to HIV+ mothers. A randomized double-blind controlled trial / P. Cooper, K.D. Bolton, S. Velaphi [et al.] // *Clinical Medicine Insights: Pediatrics*. – 2016. – T. 10. – C. CMPed. S40134. Doi: <https://doi.org/10.4137/CMPed.S40134>
32. d'Ettorre, G. Probiotics Reduce Inflammation in Antiretroviral Treated, HIV-Infected Individuals: Results of the “Probio-HIV” Clinical Trial/ G. d'Ettorre, G. Ceccarelli, N. Giustini, S. Serafino, N. Calantone, G. De Girolamo [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – T. 10. – №. 9. e0137200. Doi: [10.1371/journal.pone.0137200](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137200)
33. Davidson, M. Use of filgrastim as adjuvant therapy in patients with AIDS-related cytomegalovirus retinitis. / M. Davidson, Y. I. Min, J. T. Holbrook, M. L. Van Natta, R. Murphy, D. A. Jabs [et al.] // *Aids*. – 2002. – T. 16. – №. 5. – C. 757-765. Doi: <https://doi.org/10.1097/00002030-200203290-00011>
34. Davy-Mendez, T. Acute HIV Infection and CD4/CD8 ratio normalization after antiretroviral therapy initiation / T. Davy-Mendez, S. Napravnik, O. Zakharova, [et al.] // *Journal of acquired immune deficiency syndromes* – 2018. – Vol.79, N 4. – P. 510-518. Doi: [10.1097/QAI.0000000000001843](https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001843)
35. Deeks, S. G. Systemic effects of inflammation on health during chronic HIV infection / S. G. Deeks, R. Tracy, D. C. Douek // *Immunity*. – 2013. – T. 39, N 4. – C. 633-645. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.10.001>
36. Deeks, S.G. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging // *Annual review of medicine*. – 2011. – T. 62. – C. 141-155. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042909-093756>
37. Deeks, S.G. Immune dysfunction, inflammation, and accelerated aging in patients on antiretroviral therapy// *Topics in HIV medicine: a publication of the International AIDS Society, USA*. – 2009. – T. 17. – №. 4. – C. 118-123. PMID: 19890183

38. Desai, S. Early immune senescence in HIV disease/Desai S, Landay A. // *Current HIV/AIDS Reports*. – 2010. – T. 7. – №. 1. – C. 4-10. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11904-009-0038-4>
39. Dillon, S.M. An altered intestinal mucosal microbiome in HIV-1 infection is associated with mucosal and systemic immune activation and endotoxemia / S.M. Dillon, E.J. Lee, C.V. Kotter, G.L. Austin, Z. Dong, D.K. Hecht [et al.] // *Mucosal immunology*. – 2014. – T. 7, N 4. – C. 983-994. Doi: <https://doi.org/10.1038/mi.2013.116>
40. Dillon, S.M. The gut microbiome and HIV-1 pathogenesis: a two-way street / S.M. Dillon, D.N. Frank, C.C. Wilson // *AIDS (London, England)*. – 2016. – T. 30. – №. 18. – C. 2737. Doi: [10.1097/QAD.0000000000001289](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001289)
41. Dinh, D.M. Intestinal microbiota, microbial translocation, and systemic inflammation in chronic HIV infection / D.M. Dinh, G.E. Volpe, C. Duffalo, S. Bhalchandra, A. K Tai, A. V. Kane [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2015. – T. 211, N 1. – C. 19-27. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu409>
42. Dock, J.N. Role of CD8 T cell replicative senescence in human aging and in HIV-mediated immunosenescence / J.N. Dock, R.B. Effros // *Aging and disease*. – 2011. – T. 2. – №. 5. – C. 382-397. PMID: 22308228
43. Elhed, A. Th17 cells and HIV infection. / A. Elhed, D. Unutmaz // *Curr Opin HIV AIDS*. - 2010. - T.5, N 2. - P. 146. Doi: [10.1097/COH.0b013e32833647a8](https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833647a8)
44. Ellis, C.L. Molecular characterization of stool microbiota in HIV-infected subjects by panbacterial and order-level 16S ribosomal DNA (rDNA) quantification and correlations with immune activation / C.L. Ellis, Z. Ma, S.K. Mann, C.S. Li, J. Wu, T. H. Knight, [et al.] // *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. – 2011. – T. 57, N 5. – C. 363. Doi: [10.1097/QAI.0b013e32821a603c](https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e32821a603c)
45. Epplé, H.J. Impairment of the intestinal barrier is evident in untreated but absent in suppressively treated HIV-infected patients / H.J. Epplé, T. Schneider, H. Troeger, D. Kunkel, K. Allers, V. Moos [et al.] // *Gut*. – 2009. – T. 58. – №. 2. – C. 220-227. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.150425>
46. Estes, J.D. Damaged intestinal epithelial integrity linked to microbial translocation in pathogenic simian immunodeficiency virus infections / J.D. Estes, L.D. Harris, N.R. Klatt, B. Tabb, S. Pittaluga, M. Paiardini [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2010. – T. 6. – №. 8. - e1001052. Doi: [10.1371/journal.ppat.1001052](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001052)
47. Evans, V.A. Myeloid dendritic cells induce HIV-1 latency in non-proliferating CD4⁺T cells. / V.A. Evans, N.Kumar, A. Filali [et al.] // *PLoS Pathog*. – 2013. - Vol. 9, N12 doi: [10.1371/journal.ppat.1003799](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003799).
48. Fan, J. Elevated IFN- γ and decreased IL-2 gene expression are associated with HIV infection / J. Fan, H. Z. Bass, J. L. Fahey // *The Journal of Immunology*. – 1993. – T. 151. – №. 9. – C. 5031-5040. PMID: 8409454
49. Fonteneau, J.F. Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells / J. F. Fonteneau, M. Larsson, A. S. Beignon, K. McKenna, I. Dasilva, A. Amara [et al.] // *Journal of virology*. – 2004. – T. 78. – №. 10. – C. 5223-5232. Doi: [10.1128/JVI.78.10.5223-5232.2004](https://doi.org/10.1128/JVI.78.10.5223-5232.2004)
50. Fuller, M. Determination of protein and amino acid digestibility in foods including implications of gut microbial amino acid synthesis // *British Journal of Nutrition*. – 2012. – T. 108, N S2. – C. S238-S246. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0007114512002279>
51. Funderburg, N. T. et al. Circulating CD 4⁺ and CD 8⁺ T cells are activated in inflammatory bowel disease and are associated with plasma markers of inflammation / N. T. Funderburg, S. R. Stubblefield Park, H. C. Sung, G. Hardy, B. Clagett, J. Ignatz-Hoover // *Immunology*. – 2013. – T. 140. – №. 1. – C. 87-97. Doi: <https://doi.org/10.1111/imm.12114>
52. G. Herbein and K. A. Khan, “Is HIV infection a TNF receptor signalling-driven disease?” *Trends in Immunology*, vol. 29, no. 2, pp. 61–67, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.it.2007.10.008>
53. Ganesan, A. High dose atorvastatin decreases cellular markers of immune activation without affecting HIV-1 RNA levels: results of a double-blind randomized placebo controlled clinical trial / A. Ganesan, N. Crum-Cianflone, J. Higgins, J. Qin, C. Rehm, J. Metcalf, C. Brandt, J. Vita, C.F. Decker, P. Sklar, [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2011. – T. 203. – №. 6. – C. 756-764. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq115>
54. General Assembly of the World Medical Association et al. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects // *The Journal of the American College of Dentists*. – 2014. – T. 81. – №. 3. – C. 14. PMID: PMC2566407, PMID: 11357217
55. Ghislain, M. Late antiretroviral therapy (ART) initiation is associated with long-term persistence of systemic inflammation and metabolic abnormalities / M. Ghislain, J.P. Bastard, L. Meyer, J. Capeau, S. Fellahi, L. Gerard [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – T. 10. – №. 12. e0144317. Doi: [10.1371/journal.pone.0144317](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144317)

56. Gioannini, T. L. Regulation of interactions of endotoxin with host cells / T. L. Gioannini, A. Teghanemt, K. A. Zarembert, J. P. Weiss // *Journal of endotoxin research*. – 2003. – T. 9. – №. 6. – C. 401-408. <https://doi.org/10.1177/09680519030090060301>
57. Gordon, S.N. Disruption of intestinal CD4⁺ T cell homeostasis is a key marker of systemic CD4⁺ T cell activation in HIV-infected individuals / S. N. Gordon, B. Cervasi, P. Odorizzi, R. Silverman, F. Abera, G. Ginsberg [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2010. – T. 185. – №. 9. – C. 5169-5179. Doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001801>
58. Gori, A. Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis / A. Gori, C. Tincati, G. Rizzardini, C. Torti, T. Quirino, M. Haarman [et al.] // *Journal of clinical microbiology*. – 2008. – T. 46, N 2. – C. 757-758. Doi: 10.1128/JCM.01729-07
59. Gray, K.J. Other bacteria and HIV disease / K.J. Gray, N. French // *Tropical doctor*. – 2004. – T. 34. – №. 4. – C. 206-208. Doi:10.1177/004947550403400407
60. Greenspan, D. Incidence of oral lesions in HIV-1-infected women: reduction with HAART/ D.Greenspan, S. J.Gange, J. A.Phelan, M. Navazesh, M. E. A. F. Alves, L. A. MacPhail [et al.] // *Journal of dental research*. – 2004. – T. 83. – №. 2. – C. 145-150. Doi: <https://doi.org/10.1177/154405910408300212>
61. Grossman, Z. Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys / Z. Grossman, M. Meier-Schellersheim, W.E. Paul, L. J. Picker // *Nature medicine*. – 2006. – T. 12, N 3. – C. 289-295. <https://doi.org/10.1038/nm1380>
62. Guaraldi, G. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population./ G. Guaraldi, G. Orlando, S. Zona, M. Menozzi, F. Carli, E. Garlassi [et al.]// *Clinical infectious diseases*. – 2011. – T. 53. – №. 11. – C. 1120-1126. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/cir627>
63. Gunthard, H. F. Antiretroviral treatment of adult HIV infection. Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel / H. F. Gunthard, J. A. Aberg, J. J. Eron, J. F. Hoy, A. Telenti, C. A. Benson, D. M. Burger, P. Cahn, J. E. Gallant, M. J. Glesby [et al.] // *JAMA*. – 2014. – T. 312. – C. 410–425.
64. Gupta, S.K. Improvement in HIV-related endothelial dysfunction using the anti-inflammatory agent salsalate: a pilot study / S.K. Gupta, R.M. Johnson, C. Saha, K.J. Mather, M.L. Greenwald, J.S. Waltz [et al.] // *Aids*. – 2008. – T. 22. – №. 5. – C. 653-655. Doi: 10.1097/QAD.0b013e3282f470d2
65. Gupta, S.K. Pentoxifylline, inflammation, and endothelial function in HIV-infected persons: a randomized, placebo-controlled trial / S.K. Gupta, D. Mi, M.P. Dube, C.K. Saha, R.M. Johnson, J.H. Stein [et al.] // *PloS one*. – 2013. – T. 8. – №. 4. Doi: 10.1371/journal.pone.0060852
66. Gutschmann, T. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. / T. Gutschmann, M. Muller, S.F. Carroll, R.C. MacKenzie, A. Wiese, U. Seydel // *Infection and immunity*. – 2001. – T. 69. – №. 11. – C. 6942-6950. doi: 10.1371/journal.pone.0118643
67. Han, W.M. CD4/CD8 ratio normalization rates and low ratio as prognostic marker for non-AIDS defining events among long-term virologically suppressed people living with HIV / W.M. Han, T. Apornpong, S.J. Kerr [et al.] // *AIDS Res Ther*. – 2018. – Vol. 15, N 1. – P. 13. Doi: 10.1186/s12981-018-0200-4
68. Hattab, S. Soluble biomarkers of immune activation and inflammation in HIV infection: impact of 2 years of effective firstline combination antiretroviral therapy /Hattab S, Guiguet M, Carcelain G, Fourati S, Guihot A, Autran B, et al.// *HIV medicine*. – 2015. – T. 16. – №. 9. – C. 553-562. Doi: <https://doi.org/10.1111/hiv.12257>
69. Hauser, A.B. Sevelamer carbonate reduces inflammation and endotoxemia in an animal model of uremia / Hauser A.B., Azevedo I.R., Gonçalves S., Stinghen A., Aita C., Pecoits-Filho R. // *Blood purification*. – 2010. – T. 30. – №. 3. – C. 153-158. Doi: 10.1159/000319850
70. Hazenberg, M.D. T-cell division in human immunodeficiency virus (HIV)-1 infection is mainly due to immune activation: a longitudinal analysis in patients before and during highly active antiretroviral therapy (HAART) / M. D. Hazenberg, J. W. C. Stuart, S. A. Otto, J. C. Borleffs, C. A. Boucher, R. J. de Boer [et al.]//*Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2000. – T. 95. – №. 1. – C. 249-255. PMID: 10607709
71. Hegde, M. C. Oral microflora: a comparative study in HIV and normal patients / M. C. Hegde, A. Kumar, G. Bhat, S. Sreedharan, // *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. – 2014. – T. 66. – №. 1. – C. 126-132. Doi:10.1007/s12070-011-0370-z
72. Hema, M.N. Low CD4/CD8 ratio is associated with non AIDS-defining cancers in patients on antiretroviral therapy: ANRS CO8 (Aproco/Copilote) prospective cohort study. / M.N. Hema, T. Ferry, M. Dupon, L. Cuzin, R. Verdon, R. Thiébaut [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – T. 11, N 8. – P. e0161594 Doi:10.1371/journal.pone.0161594 .
73. Hileman, C.O. Salsalate is poorly tolerated and fails to improve endothelial function in virologically suppressed HIV-infected adults / C.O. Hileman, T.L. Carman, B.M. Gripshover, M.

- O'Riordan, N.J. Storer, D.E. Harrill [et al.]// *Aids*. – 2010. – T. 24. – № 12. – C. 1958-1961. Doi: 10.1097/QAD.0b013e32833c3251
74. Hoenigl, M. (1→3)- β -d-Glucan: A Biomarker for Microbial Translocation in Individuals with Acute or Early HIV Infection? / M. Hoenigl, J. Pérez-Santiago, M. Nakazawa, M.F. de Oliveira, Y. Zhang, M.A. Finkelman, S. Letendre, D. Smith, S. Gianella // *Frontiers in immunology*. – 2016. – T. 7. – C. 404. Doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00404>
 75. Hsue, P.Y. Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific Tcell responses. / P. Y. Hsue, P. W. Hunt, E. Sinclair, B. Bredt, A. Franklin, M. Killian [et al.]// *Aids*. – 2006. – T. 20. – №. 18. – C. 2275-2283. Doi: 10.1097/QAD.0b013e3280108704
 76. Huber, S. Life, death, and miracles: Th17 cells in the intestine. / Huber S., Gagliani N., Flavell R.A. // *European journal of immunology*. – 2012. – T. 42, N 9. – C. 2238-2245. Doi: [Doi:10.1002/Eji.201242619](https://doi.org/10.1002/Eji.201242619)
 77. Humphrey, L. L. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis / L. L. Humphrey, R. Fu, K. Rogers, M. Freeman, M. Helfand/Mayo Clinic Proceedings. – Elsevier, 2008. – T. 83. – №. 11. – C. 1203-1212. Doi: <https://doi.org/10.4065/83.11.1203>
 78. Hunt, P. W. Impact of CD8+ T cell activation on CD4+ T cell recovery and mortality in HIV-infected Ugandans initiating antiretroviral therapy / P. W. Hunt, H. L. Cao, C. Muzoora, I. Ssewanyana, J. Bennett, N. Emenyonu [et al.]// *AIDS (London, England)*. – 2011. – T. 25. – №. 17. – C. 2123. Doi: 10.1097/QAD.0b013e32834c4ac1
 79. Hunt, P.W. HIV and inflammation: mechanisms and consequences. // *Current HIV/AIDS Reports*. – 2012. – T. 9. – №. 2. – C. 139-147. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11904-012-0118-8>
 80. Hunt, P.W. Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy / P.W. Hunt, J. Brenchley, E. Sinclair [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2008. - Vol.197, N. 4. – P. 126–133. Doi: 10.1086/524143
 81. Hunt, P.W. T cell activation is associated with lower CD4R T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy / P.W. Hunt, J.N. Martin, E. Sinclair, B. Bredt, E. Hagos, H. Lampiris [et al.]// *The Journal of infectious diseases*. – 2003. – T. 187. – №. 10. – C. 1534-1543. Doi: <https://doi.org/10.1086/374786>
 82. Insight Start Study Group. Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection // *N. Engl. J. Med.* - 2015. – T. 373, N 9. - C. 795–807.
 83. Jacobson, M.A. A Phase I, placebo-controlled trial of multi-dose recombinant human interleukin-12 in patients with HIV infection. / M. A. Jacobson, J. Spritzler, A. Landay, E. Chan, D. Katzenstein, B. Schock [et al.] // *Aids*. – 2002. – T. 16. – №. 8. – C. 1147-1154. Doi: 10.1097/00002030-200205240-00008
 84. Jain, V. Antiretroviral therapy initiated within 6 months of HIV infection is associated with lower T-cell activation and smaller HIV reservoir size / V. Jain, W. Hartogensis, P. Bacchetti, P.W. Hunt, H. Hatano, E. Sinclair [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2013. – T. 208. – №. 8. – C. 1202-1211. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jit311>
 85. Jiang W. Plasma levels of bacterial DNA correlate with immune activation and the magnitude of immune restoration in persons with antiretroviral-treated HIV infection / W. Jiang, M.M. Lederman, P. Hunt, S.F. Sieg, K. Haley, B. Rodriguez, [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2009. – T. 199. – №. 8. – C. 1177-1185. Doi: <https://doi.org/10.1086/597476>
 86. Johnston, R. Controversies in HIV cure research / R. Johnston, F. J. Barré-Sinoussi // *Int AIDS Soc.* – 2012. - Vol. 15, N 1. - P.16. Doi: 10.1186/1758-2652-15-16.
 87. Katsikis, P. D. The cytokine network of acute HIV infection: a promising target for vaccines and therapy to reduce viral set-point? / P. D. Katsikis, Y. M. Mueller, F. Villinger. // *PLoS pathogens*. – 2011. – T. 7. – №. 8.e1002055. Doi: 10.1371/journal.ppat.1002055
 88. Kaufmann, G. R. CD4 T-lymphocyte recovery in individuals with advanced HIV-1 infection receiving potent antiretroviral therapy for 4 years: the Swiss HIV Cohort Study / G. R. Kaufmann, L. Perrin, G. Pantaleo [et al.] // *Archives of internal medicine*. – 2003. – T. 163, N 18. – C. 2187-2195. Doi:10.1001/archinte.163.18.2187
 89. Kelesidis, T. Changes in inflammation and immune activation with atazanavir-, raltegravir-, darunavir-based initial antiviral therapy: ACTG 5260s / T. Kelesidis, T.T. Tran, J.H. Stein, T.T. Brown, C. Moser, H.J. Ribaudo [et al.]// *Clinical Infectious Diseases*. – 2015. – T. 61. – №. 4. – C. 651-660. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/civ327>
 90. Kitchens R. L. Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions / R. L. Kitchens, P. A. Thompson // *Journal of endotoxin research*. – 2005. – T. 11. – №. 4. – C. 225-229. <https://doi.org/10.1177/09680519050110040701>
 91. Klatt, N. Probiotic supplementation of ARV treatment during SIV infection of pigtail macaques results in enhanced GI tract CD4⁺ T cell frequency and immunological function// N. Klatt, L. Canary, X. Sun, C. Vinton, M. Perkins, D. Hazuda, J. Lifson, E. Haddad, J. Estes, J. Brenchley //

- 19th Conference on Retroviruses & Opportunistic Infections. Seattle, WA, USA. – 2012. – С. 5-8. http://www.natap.org/2012/CROI/croi_112.htm (дата обращения 21.02.2021).
92. Klatt, N. R. Loss of mucosal CD103⁺ DCs and IL-17⁺ and IL-22⁺ lymphocytes is associated with mucosal damage in SIV infection / N.R. Klatt, J.D. Estes, X. Sun, A.M. Ortiz, J.S. Barber, L.D. Harris, B. Cervasi, L.K. Yokomizo, L. Pan, C.L. Vinton, B. Tabb, L.A. Canary, Q. Dang, V.M. Hirsch, G. Alter, Y. Belkaid, J.D. Lifson, G. Silvestri, J.D. Milner, M. Paiardini, E.K. Haddad, J.M. Brechley // *Mucosal immunology*. – 2012. – Т. 5. – №. 6. – С. 646-657. Doi: <https://doi.org/10.1038/mi.2012.38>
 93. Klatt, N.R. Compromised gastrointestinal integrity in pigtail macaques is associated with increased microbial translocation, immune activation, and IL-17 production in the absence of SIV infection / N.R. Klatt, L.D. Harris, C.L. Vinton, H. Sung, J.A. Briant, B. Tabb [et al.] // *Mucosal immunology*. – 2010. – Т. 3, N 4. – С. 387-398. Doi: <https://doi.org/10.1038/mi.2010.14>
 94. Klatt, N.R. Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. / N.R. Klatt, N.T. Funderburg, J.M. Brechley // *Trends in microbiology*. – 2013. – Т. 21. – №. 1. – С. 6-13. *Trends in microbiology*. – 2013. – Т. 21, N 1. – С. 6-13.
 95. Kotler D. P. HIV infection and the gastrointestinal tract // *Aids*. – 2005. – Т. 19. – №. 2. – С. 107-117. DOI: 10.1097/00002030-200501280-00002
 96. Koutsounas, I. Markers of bacterial translocation in end-stage liver disease. /Koutsounas I., Kaltsa G., Siakavellas S.I., Bamias G. // *World journal of hepatology*. – 2015. – Т. 7. – №. 20. – С. 2264-2273. Doi: 10.4254/wjh.v7.i20.2264
 97. Kristoff, J. Early microbial translocation blockade reduces SIV-mediated inflammation and viral replication / J. Kristoff, G. Haret-Richter, D. Ma, R. M. Ribeiro, C. Xu, , E. Cornell, [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2014. – Т. 124. – №. 6. – С. 2802-2806. Doi:10.1172/JCI75090.
 98. Kuller, L.H. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection / L.H. Kuller, R. Tracy, W. Bellosso, S. De Wit, F. Drummond, H.C. Lane, B. Ledergerber, . Lundgren, J. Neuhaus, D. Nixon [et al.] // *PLoS medicine*. – 2008. – Т. 5. – №. 10, e203. Doi: 10.1371/journal.pmed.0050203
 99. Kuritzkes, D.R. Filgrastim prevents severe neutropenia and reduces infective morbidity in patients with advanced HIV infection: results of a randomized, multicenter, controlled trial. / D. R. Kuritzkes, D. Parenti, D. J. Ward, A. Rachlis, R. J. Wong, , K. P. Mallon [et al.] // *Aids*. – 1998. – Т. 12. – №. 1. – С. 65-74. Doi:10.1097/00002030-199801000-00008
 100. Lama, J. Host factors influencing susceptibility to HIV infection and AIDS progression / J. Lama, V. Planelles // *Retrovirology*. – 2007. – Т. 4. – №. 1. – С. 52. Doi: 10.1186/1742-4690-4-52.
 101. Lehmann, C. Longitudinal analysis of distribution and function of plasmacytoid dendritic cells in peripheral blood and gut mucosa of HIV infected patients / C. Lehmann, N. Jung, K. Förster, N. Koch, L. Leifeld, J. Fischer [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2014. – Т. 209. – №. 6. – С. 940-949. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jit612>
 102. Lévy, Y. Effects of recombinant human interleukin 7 on T-cell recovery and thymic output in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: results of a phase I/IIa randomized, placebo-controlled, multicenter study. / Y. Levy, I. Sereti, , G. Tambussi, J. P. Routy, J. D. Lelievre, J. F. Delfraissy [et al.] // *Clinical infectious diseases*. – 2012. – Т. 55. – №. 2. – С. 291-300. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/cis383>
 103. Levy, Y. Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment. / Y. Levy, C. Lacabartz, L. Weiss, J. P. Viard, C. Goujard, J. D. Lelièvre [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2009. – Т. 119. – №. 4. – С. 997-1007. Doi:10.1172/JCI38052
 104. Li, Q. Peak SIV replication in resting memory CD4⁺ T cells depletes gut lamina propria CD4⁺ T cells /Q. Li, L. Duan, J. D. Estes, Z. M. Ma, T. Rourke, Y. Wang [et al.] // *Nature*. – 2005. – Т. 434. – №. 7037. – С. 1148-1152. <https://doi.org/10.1038/nature03513>
 105. Li, Y. HIV infection and microbial diversity in saliva/ Y. Li, D. Saxena, Z. Chen, [et al.] // *Journal of clinical microbiology*. - 2014. - Vol. 52. - №. 5. - P. 1400-1411. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.02954-13>
 106. Lichtfuss, G.F. Biomarkers of immune dysfunction following combination antiretroviral therapy for HIV infection / G. F.Lichtfuss, J.Hoy, R.Rajasuriar, M.Kramski, S. M.Crowe, S. R. Lewin// *Biomarkers in medicine*. – 2011. – Т. 5. – №. 2. – С. 171-186. Doi: <https://doi.org/10.2217/bmm.11.15>
 107. Liu, J. Comparative analysis of immune activation markers of CD8⁺ T cells in lymph nodes of different origins in SIV-infected Chinese rhesus macaques / J. Liu, Q. Xiao, R. Zhou, Y. Wang, Q. Xian, T. Ma [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2016. – Т. 7. – С. 371. Doi: 10.3389 / fimmu.2016.00371
 108. Loke, P. Correlating cellular and molecular signatures of mucosal immunity that distinguish HIV controllers from noncontrollers / P. N. Loke, D. Favre, P. W. Hunt, J. M. Leung, B. Kanwar, J. N. Martin [et al.]// *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2010. – Т. 115. – №. 15. – С. e20-e32. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-257451>

109. Lozupone, C.A. Alterations in the gut microbiota associated with HIV-1 infection. C.A. Lozupone, M. Li, T.B. Campbell, S. C. Flores, D. Linderman, M. J. Gebert [et al.] // *Cell host & microbe*. – 2013. – T. 14. – №. 3. – C. 329-339. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.08.006>
110. Macpherson, A.J. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system / A.J. Macpherson, N.L. Harris // *Nat Rev Immunol*. – 2004. – Vol. 4, N. 6., P. 478-485. Doi: 10.1038/nri1373
111. Malamud D. The mouth: a gateway or a trap for HIV? / D. Malamud, S.M. Wahl // *AIDS* (London, England). – 2010. – Vol. 24. – №. 1. – C. 5. Doi: <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328333525f>.
112. Maldarelli, F. ART suppresses plasma HIV-1 RNA to a stable set point predicted by pretherapy viremia. / F. Maldarelli, S. Palmer, M.S. King, A. Wiegand, M.A. Polis, J. Mican, J.A. Kovacs, R.T. Davey, D. Rock-Kress, R. Dewar, S. Liu, J.A. Metcalf, C. Rehm, S.C. Brun, G.J. Hanna, D.J. Kempf, J.M. Coffin, J.W. Mellors // *PLoS Pathog*. – 2007. – T. 3, N4. Doi: 10.1371/journal.ppat.0030046.
113. Marchetti E. et al. Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome // *Nutrition & metabolism*. – 2012. – T. 9. – №. 1. – C. 88. Doi: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-9-88>
114. Marchetti, G. Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS / G. Marchetti, C. Tincati, G. Silvestri // *Clinical microbiology reviews*. – 2013. – T. 26. – №. 1. – C. 2-18. Doi: 10.1128/CMR.00050-12
115. Markowitz, M. The virologic and immunologic effects of cyclosporine as an adjunct to antiretroviral therapy in patients treated during acute and early HIV-1 Infection. / M. Markowitz, F. Vaida, C. Bradley Hare, D. Boden, H. Mohri, F. M. Hecht [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2010. – T. 201. – №. 9. – C. 1298-1302. Doi: <https://doi.org/10.1086/651664>
116. [Mascellino, M.T. Significant bacteriological findings in HIV-positive patients / M.T. Mascellino, G.M. De Sanctis, F. Iegri, P. De Gregoris, F. Sorice // *Bollettino dell'Istituto sieroterapico milanese*. – 1989. – T. 68. – №. 3. – C. 271-276. PMID: 2491436
117. Massanella, M. Raltegravir intensification shows differing effects on CD8 and CD4 T-cells in HIV-infected HAART-suppressed individuals with poor CD4 T-cell recovery / M. Massanella, E. Negro, J. Puig, M. C. Puertas, M. J. Buzón, N. Pérez-Alvarez [et al.] // *AIDS*. — 2012. — Vol. 26, N 18. — P. 2285–2293. Doi: 10.1097 / QAD.0b013e328359f20f
118. Mataftsi, M. HIV infection and periodontal diseases: an overview of the post-HAART era. / M. Mataftsi, L. Skoura, D. Sakellari // *Oral diseases*. – 2011. – T. 17. – №. 1. – C. 13-25. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2010.01727.x>
119. Matuzkova, A. Assessment of systemic inflammation in patients with HIV infection / A. Matuzkova, N. Pshenichnaya, E. Yagovkin, A. Suladze, L. Dosyagaeva, D. Kolpakov, A. Zhuravlev // *International journal of infection diseases*. – 2018. – N.73, T.S. – P.248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.04.3979>
120. Matuzkova, A. Markers of systemic inflammation in HIV-infected patients with different HIV RNA level / A. Matuzkova, N. Pshenichnaya, A. Suladze, T. Tverdokhlebova, L. Dosyagaeva, A. Zhuravlev // *International journal of infection diseases*. – 2019. – N.79, T.S1. – P.85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.214>.
121. Mc Hardy, I.H. HIV Infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota / Mc I.H. Hardy, X. Li, M. Tong, P. Ruegger, J. Jacobs, J. Borneman, P. Anton, J. Braun // *Microbiome*. – 2013. – T. 1. – №. 1. – C. 26. Doi: <https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-26>
122. McKibben, R.A. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy / R.A. McKibben, P. W.Hunt, J. N.Martin, E.Sinclair, B.Bredt, E.Hagos, H.Lampiris, S. G. Deeks // *The Journal of infectious diseases*. – 2003. – T. 187. – № 10. – C. 1534-1543. Doi: <https://doi.org/10.1086/374786>
123. Meier, A. MyD88-dependent immune activation mediated by human immunodeficiency virus type 1-encoded Toll-like receptor ligands / A. Meier, G. Alter, N. Frahm, H. Sidhu, B. Li, A. Bagchi [et al.] // *Journal of virology*. – 2007. – T. 81. – №. 15. – C. 8180-8191. Doi: 10.1128 / JVI.00421-07
124. Micci, L. Interleukin-21 combined with ART reduces inflammation and viral reservoir in SIV-infected macaques / L. Micci, E.S. Ryan, R. Fromentin, S.E. Bosinger, J.L. Harper, T. He [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2015. – T. 125. – №. 12. – C. 4497-4513. Doi: 10.1172/JCI81400
125. Miedema, F. Immune Activation and Collateral Damage in AIDS Pathogenesis. / F. Miedema, K. Tesselaar, D. V. Baarle, J. Borghans, M.Hazenberg, R. J. De Boer // *Frontiers in immunology*. – 2013. – T. 4. – C. 298. Doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00298>
126. Milanés-Guisado, Y. Absolute CD4+ T cell count overstate immune recovery assessed by CD4+/CD8+ ratio in HIV-infected patients on treatment / Y. Milanés-Guisado, A. Gutiérrez-Valencia, M. Trujillo-Rodríguez [et al.] // *PLoS One*. – 2018. Vol.13, N 10. Doi:10.1371/journal.pone.0205777.

127. Miro, J. Randomized clinical trial with immune-based therapy in patients with primary HIV-1 infection / J. M. Miro, M. Lopez-Diequez, M. Plana, T. Pumarola, M. Brunet, M. Tuset [et al.] // 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Montreal. – 2009. – Abstract 531.
128. Mocroft, A. Normalisation of CD4 counts in patients with HIV-1 infection and maximum virological suppression who are taking combination antiretroviral therapy: an observational cohort study / A. Mocroft, A. Phillips, J. Gatell [et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol. 370, N 9585. – P.407–413. Doi: 10.1016/S0140-6736(07)60948-9
129. Mussini, C. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. / C. Mussini, P. Lorenzini, A. Cozzi-Lepri, G. Lapadula, G. Marchetti, E. Nicastrì [et al.] // *Lancet HIV*. – 2015. – Vol.2, N 3. – P. 98–106. Doi: 10.1016/S2352-3018(15)00006-5.
130. Musyoki S., Level of CD8 T lymphocytes activation in HIV-infected pregnant women: in the context of CD38 and HLA-DR activation markers /Musyoki S., Mining S., Nyongesa P. // *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*. – 2014. – T. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/715279>
131. Mutlu, E.A. A compositional look at the human gastrointestinal microbiome and immune activation parameters in HIV infected subjects / E.A. Mutlu, A. Keshavarzian, J. Losurdo, G. Swanson, B. Siewe, C. Forsyth, A. French, P. Demarais, Y. Sun, L. Koenig, S. Cox, P. Engen, P. Chakradeo, R. Abbasi, A. Gorenz, C. Burns, A. A. Landay // *PLoS pathogens*. – 2014. – T. 10. – №. 2. Doi: 10.1371/journal.ppat.1003829
132. Naeger, D.M. Cytomegalovirus-specific T cells persist at very high levels during long-term antiretroviral treatment of HIV disease / D. M. Naeger, J. N. Martin, E. Sinclair, P. W. Hunt, D. R. Bangsberg, F. Hecht // *PloS one*. – 2010. – T. 5. – №. 1.- e8886. Doi: 10.1371/journal.pone.0008886
133. Nazli, A. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation / A. Nazli, O. Chan, W.N. Dobson-Belaire, M. Ouellet, M.J. Tremblay, S.D. Gray-Owen [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2010. – T. 6. – №. 4. – e1000852. Doi: 10.1371 / journal.ppat.1000852
134. Neuhaus, J. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection / J. Neuhaus, D. R. Jacobs Jr, J. V. Baker, A. Calmy, D. Duprez, A. La Rosa [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2010. – T. 201. – №. 12. – C. 1788-1795. Doi: <https://doi.org/10.1086/652749>
135. Notermans, D.W. Immune reconstitution after 2 years of successful potent ART in previously untreated HIV type 1-infected adults / D.W. Notermans, N.G. Pakker, D. Hamann [et al.] // *J. Infect. Dis*. – 1999. – T.180, N. 4. – P. 1050-1056. Doi: 10.1086/315013
136. O'Brien, M. Aspirin attenuates platelet activation and immune activation in HIV-1-infected subjects on antiretroviral therapy: a pilot study/ M. O'Brien, E. Montenont, L. Hu, M.A. Nardi, V. Valdes, M. Merolla, G. Gettenberg, K. Cavanagh, J.A. Aberg, N. Bhardwaj, J.S. Berger // *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. – 2013. – T. 63. – №. 3. – C. 280. Doi: 10.1097/QAI.0b013e31828a292c
137. O'Brien, M. Spatiotemporal trafficking of HIV in human plasmacytoid dendritic cells defines a persistently IFN-alpha-producing and partially matured phenotype / M. O'Brien, O. Manches, R. L. Sabado, S. J. Baranda, Y. Wang, I. Marie [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2011. – T. 121. – №. 3. – C. 1088-1101. Doi: 10.1172 / JCI44960.
138. Okoye, A.A. CD4+ T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. / A. A. Okoye, L. J. Picker // *Иммунологические обзоры*. – 2013. – T. 254, N 1. – C. 54-64. Doi:10.1111/imr.12066.
139. Ortiz, A.M. IL-21 and probiotic therapy improve Th17 frequencies, microbial translocation, and microbiome in ARV-treated, SIV-infected macaques / A.M. Ortiz, Z.A. Klase, S.R. DiNapoli, I. Vujkovic-Cvijin, K. Carmack, M. R. Perkins [et al.] // *Mucosal immunology*. – 2016. – T. 9. – №. 2. – C. 458-467. Doi: <https://doi.org/10.1038/mi.2015.75>
140. Paiardini, M. HIV-associated chronic immune activation / M. Paiardini, M. Müller-Trutwin // *Immunological reviews*. – 2013. – T. 254, N 1. – C. 78-101. <https://doi.org/10.1111/imr.12079>
141. Palmer, S. Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy / S. Palmer, F. Maldarelli, A. Wiegand, B. Bernstein, G.J. Hanna, S.C. Brun, D.J. Kempf, J.W. Mellors, J.M. Coffin, M.S. King // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2008. – Vol. 105, N 10. – P. 3879–3884. Doi: 10.1073/pnas.0800050105.
142. Pandrea, I. Antibiotic and antiinflammatory therapy transiently reduces inflammation and hypercoagulation in acutely SIV-infected pigtailed macaques / I. Pandrea, C. Xu, J. L. Stock, D. N. Frank, D. Ma, B. B. Policicchio [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2016. – T. 12. – №. 1. Doi: doi: 10.1371/journal.ppat.1005384
143. Pandrea, I. Coagulation biomarkers predict disease progression in SIV-infected nonhuman primates / I. Pandrea, E. Cornell, C. Wilson, R.M. Ribeiro, D. Ma, J. Kristoff, C. Xu, G.S. Haret-Richter, A. Trichel, C. Apetrei, A. Landay, R. Tracy // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2012. – T. 120. – №. 7. – C. 1357-1366. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-414706>

144. Pandrea, I. Cutting edge: experimentally induced immune activation in natural hosts of simian immunodeficiency virus induces significant increases in viral replication and CD4⁺ T cell depletion / I. Pandrea, T. Gaufin, J.M. Brechley, R. Gautam, C. Monjure, A. Gautam, C. Coleman, A.A. Lackner, R.M. Ribeiro, D.C. Douek, C. Apetrei // *The Journal of Immunology*. – 2008. – T. 181. – №. 10. – C. 6687-6691. Doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.10.6687>
145. Paton, N.I. Effects of hydroxychloroquine on immune activation and disease progression among HIV-infected patients not receiving antiretroviral therapy: a randomized controlled trial / N.I. Paton, R.L. Goodall, D.T. Dunn, S. Franzen, Y. Collaco-Moraes, B.G. Gazzard, I.G. Williams, M.J. Fisher, A. Winston, J. Fox [et al.] // *Jama*. – 2012. – T. 308. – №. 4. – C. 353-361. Doi: [10.1001/jama.2012.6936](https://doi.org/10.1001/jama.2012.6936)
146. Pe'rez-Santiago, J. Gut Lactobacillales are associated with higher CD4 and less microbial translocation during HIV infection / J. Pérez-Santiago, S. Gianella, M. Massanella, C. A. Spina, M. Y. Karris, S. R. Var [et al.] // *AIDS (London, England)*. – 2013. – T. 27, N 12. – C. 1921–1931. Doi: [10.1097/qad.0b013e3283611816](https://doi.org/10.1097/qad.0b013e3283611816)
147. Pelsers, M.M. Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility / M.M. Pelsers, Z. Namiot, W. Kisieleski, A. Namiot, M. Januszkiewicz, W.T. Hermens, J.F. Glatz // *Clinical biochemistry*. – 2003. – T. 36. – №. 7. – C. 529-535. Doi: [10.1016/S0009-9120\(03\)00096-1](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(03)00096-1)
148. Pettersen, F.O. An exploratory trial of cyclooxygenase type 2 inhibitor in HIV-1 infection: downregulated immune activation and improved T cell-dependent vaccine responses / F.O. Pettersen, E.A. Torheim, A.E. Dahm, I.S. Aaberge, A. Lind, M. Holm, E.M. Aandahl, P.M. Sandset, K. Tasken, D. J. Kvale // *Journal of virology*. – 2011. – T. 85. – №. 13. – C. 6557-6566. Doi: [10.1128/JVI.00073-11](https://doi.org/10.1128/JVI.00073-11)
149. Piconi, S. Hydroxychloroquine drastically reduces immune activation in HIV-infected, antiretroviral therapy-treated immunologic nonresponders / S. Piconi, S. Parisotto, G. Rizzardini, S. Passerini, R. Terzi, B. Argentero, P. Meraviglia, A. Capetti, M. Biasin, D. Trabattini, M. Clerici // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2011. – T. 118. – №. 12. – C. 3263-3272. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-329060>
150. Puertas, M.C. Lack of concordance between residual viremia and viral variants driving de novo infection of CD4⁺T cells on ART / M.C. Puertas, M. Noguera-Julian, M. Massanella [et al.] // *Retrovirology*. – 2016. – Vol. 13, N 1. – P. 51. Doi: [10.1186/s12977-016-0282-9](https://doi.org/10.1186/s12977-016-0282-9)
151. Rajasuriar, R. Impact of antiretroviral therapy (ART) timing on chronic immune activation/inflammation and end-organ damage. / R. Rajasuriar, E. Wright, S. R. Lewin // *Current Opinion in HIV and AIDS*. – 2015. – T. 10. – №. 1. – C. 35-42. Doi: [10.1097/COH.0000000000000118](https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000118)
152. Rallon, N. Central memory CD4 T cells are associated with incomplete restoration of the CD4 T cell pool after treatment-induced long-term undetectable HIV viraemia / N. Rallón, J. M. Sempere-Ortells, V. Soriano, J. M. Benito // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2013. – T. 68, N 11. – C. 2616-2625. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt245>
153. Redd, A.D. C-reactive protein levels increase during HIV-1 disease progression in Rakai, Uganda, despite the absence of microbial translocation / A.D. Redd, K.P. Eaton, X. Kong, O. Laeyendecker, T. Lutalo, M.J. Wawer, R.H. Gray, D. Serwadda, T.C. Quinn // *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. – 2010. – T. 54. – №. 5. – C. 556. Doi: [10.1097 / QAI.0b013e3181e0cdea](https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181e0cdea)
154. Redd, A.D. Microbial translocation, the innate cytokine response, and HIV-1 disease progression in Africa / A.D. Redd, D. Dabito, J.H. Bream, B. Charvat, O. Laeyendecker, N. Kiwanuka, T. Lutalo, G. Kigozi, A.A. Tobian, J. Gamiel, J.D. Neal, A.E. Oliver, J.B. Margolick, N. Sewankambo, S.J. Reynolds, M.J. Wawer, D. Serwadda, R.H. Gray, T.C. Quinn // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – T. 106. – №. 16. – C. 6718-6723. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0901983106>
155. Rizzardini, G.P. Treatment of primary HIV-1 infection with cyclosporin A coupled with HAART / G.P. Rizzardini, A. Harari, B. Capiluppi, G. Tambussi, K. Ellefsen, D. Ciuffreda [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2002. – T. 109. – №. 5. – C. 681-688. Doi: [10.1172/JCI14522](https://doi.org/10.1172/JCI14522)
156. Rosado-Sánchez, I. A lower baseline CD4/CD8 T-cell ratio is independently associated with immunodiscordant response to antiretroviral therapy in HIV-infected subjects // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2017. - Vol. 61. - N. 8. - P. e00605-17 Doi: [10.1128/AAC.00605-17](https://doi.org/10.1128/AAC.00605-17)
157. Rossol, M. LPS-induced cytokine production in human monocytes and macrophages / M. Rossol, H. Heine, U. Meusch [et al.] // *Crit. Rev. Immunol.* 2011. № 31 (5). P. 379–446.
158. Routy, J.P. Assessment of chloroquine as a modulator of immune activation to improve CD4 recovery in immune nonresponding HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy / J.P. Routy, J.B. Angel, M. Patel, C. Kanagaratham, D. Radzioch, I. Kema, [et al.] // *HIV medicine*. – 2015. – T. 16. – №. 1. – C. 48-56. Doi: <https://doi.org/10.1111/hiv.12171>
159. Rudy, B.J. Immune reconstitution but persistent activation after 48 weeks of antiretroviral therapy in youth with pre-therapy CD4⁺ > 350 in ATN 061 / B.J. Rudy, B.G. Kapogiannis, C.

- Worrell, K Squires, J Bethel, S Li [et al.]// Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). – 2015. – T. 69. – №. 1. – C. 52. Doi: 10.1097/QAI.0000000000000549
160. Ryder, M.I. Periodontal management of HIV-infected patients /Periodontology 2000. – 2000. – T. 23. – C. 85-93. Doi: 10.1034/j.1600-0757.2000.2230108.x
 161. S. Pasquereau, A. Kumar, and G. Herbein, “Targeting TNF and TNF receptor pathway in HIV-1 infection: from immune activation to viral reservoirs,” Virus, vol. 9, no. 4, 2017. <https://doi.org/10.3390/v9040064>
 162. Sachdeva, R.K., Effect of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors on cytokine, chemokine, and immunoglobulin profiles in serum and genital secretions of HIV-infected women./ R.K. Sachdeva, A. Wanchu, R. Bagga, N. Malla, M. Sharma.// Journal of Interferon & Cytokine Research. – 2010. – T. 30. – №. 5. – C. 299-310. <https://doi.org/10.1089/jir.2009.0056>
 163. Sahu, G.K. Potential implication of residual viremia in patients on effective antiretroviral therapy // AIDS Res Hum Retroviruses. – 2015. - Vol. 31, N 1. - P. 25–35. Doi: 10.1089/aid.2014.0194.
 164. Sainz, T. The CD4/CD8 ratio as a marker T-cell activation, senescence and activation/exhaustion in treated HIV-infected children and young adults / T. Sainz, S. Serrano-Villar, L. Diaz [et al.] // Aids. – 2013. - Vol. 27, N 9. - P. 1513–1516. **Doi:** 10.1097/QAD.0b013e32835faa72
 165. Saleh, S. CCR7 ligands CCL19 and CCL21 increase permissiveness of resting memory CD4⁺ T cells to HIV-1 infection: a novel model of HIV-1 latency / S. Saleh, A. Solomon, F. Wightman [et al.] // Blood. – 2007. - Vol. 110, N. 13. – P. 4161–4164. Doi: 10.1182/blood-2007-06-097907.
 166. Sandler, N.G. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection / N.G. Sandler, H. Wand, A. Roque, M. Law, M.C. Nason, D.E. Nixon [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2011. – T. 203. – №. 6. – C. 780-790. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq118>
 167. Sandler, N.G. Sevelamer does not decrease lipopolysaccharide or soluble CD14 levels but decreases soluble tissue factor, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, and oxidized LDL cholesterol levels in individuals with untreated HIV infection / N.G. Sandler, X. Zhang, R.J. Bosch, N.T. Funderburg, A.I. Choi, J.K. Robinson [et al.] // The Journal of infectious diseases. – 2014. – T. 210. – №. 10. – C. 1549-1554. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu305>
 168. Sankaran, S. Rapid onset of intestinal epithelial barrier dysfunction in primary human immunodeficiency virus infection is driven by an imbalance between immune response and mucosal repair and regeneration / S. Sankaran, M.D. George, E. Reay, M. Guadalupe, J. Flamm, T. Prindiville, S. Dandekar // Journal of virology. – 2008. – T. 82. – №. 1. – C. 538-545. Doi: 10.1128 / JVI.01449-07
 169. Saxena D, Li Y, Yang L, et al. Human microbiome and HIV/ D. Saxena, Y. Li, L. Yang, Z. Pei, M. Poles, W. R. Abrams, D. Malamud //Current HIV/AIDS Reports. – 2012. – T. 9. – №. 1. – C. 44-51. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11904-011-0103-7>
 170. Schmidt-Westhausen, A. Oral enterobacteriaceae in patients with HIV infection. /A. Schmidt-Westhausen, F.J. Fehrenbach, P.A. Reichart // Journal of oral pathology & medicine. – 1990. – T. 19. – №. 5. – C. 229-231. Doi: 10.1111/j.1600-0714.1990.tb00831.x.
 171. Sereti, I. Decreases in colonic and systemic inflammation in chronic HIV infection after IL-7 administration / I. Sereti, J.D. Estes, W.L. Thompson, D.R. Morcock, M.A. Fischl, T. Croughs [et al.]// PLoS pathogens. – 2014. – T. 10. – №. 1.e1003890. Doi: 10.1371/journal.ppat.1003890
 172. Sereti, I. Gut mucosa T lymphocyte restoration in chronically HIV+patients treated with recombinant interleukin-7 / I. Sereti, J. Estes, W. Thompson, M. Fischl, T. Croughs, S. Beq, M. Yao, R. Boulassel, M. Lederman, J.P. Routy // Proceedings of the 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. – 2012. Abstr. 94 http://www.natap.org/2012/CROI/croi_113.htm (дата обращения 08.11.2020)
 173. Sereti, I. IL-7 administration drives T cell-cycle entry and expansion in HIV-1 infection. / I. Sereti, R. M. Dunham, J. Spritzler, E. Aga, M. A. Proschan, K. Medvik [et al.] // Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2009. – T. 113. – №. 25. – C. 6304-6314. Doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-186601>
 174. Serrano-Villar, S. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8⁺ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. / S. Serrano-Villar, T.Sainz, S.A. Lee, P. W. Hunt, E. Sinclair, B. L. Shacklett [et al.] // PLoS Pathog. 2014. - Vol.10, N 5. – P. e1004078 Doi: 10.1371 / journal.ppat.1004078.
 175. Sharifzadeh, A. Oral microflora and their relation to risk factors in HIV+ patients with oropharyngeal candidiasis /Sharifzadeh A., Khosravi A.R., Shokri H., F. Asadi Jamnani, M. Hajiabdolbaghi, I. Ashrafi Tamamif // Journal de mycologie medicale. – 2013. – T. 23. – №. 2. – C. 105-112. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2013.02.001>
 176. Singh, T. Inflammatory markers in population studies of aging/T. Singh, A.B. Newman // Ageing research reviews. – 2011. – T. 10. – №. 3. – C. 319-329. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.11.002>

177. Smeaton, L. Cyclosporin A provides no sustained immunologic benefit to persons with chronic HIV-1 infection starting suppressive antiretroviral therapy: results of ACTG 5138/ M. M. Lederman, L. Smeaton, K. Y. Smith, B. Rodriguez, M. Pu, H.Wang//JID 2006, 194:167785. Doi:<https://doi.org/10.1086/509261>
178. Sokoya, T. HIV as a cause of immune activation and immunosenescence / T. Sokoya, H.C. Steel, M. Nieuwoudt, T.M. Rossouw // Mediators of inflammation. – 2017. – T. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6825493>
179. Somsouk, M. The immunologic effects of mesalamine in treated HIV-infected individuals with incomplete CD4R T cell recovery: a randomized crossover trial / M. Somsouk, R.M. Dunham, M. Cohen, R. Albright, M. Abdel-Mohsen, T. Liegler, [et al.] // PloS one. – 2014. – T. 9. – № 12. Doi: 10.1371/journal.pone.0116306
180. Stiksrud, B. Reduced levels of D-dimer and changes in gut microbiota composition after probiotic intervention in HIV-infected individuals on stable ART / B. Stiksrud, P. Nowak, F.C. Nwosu, D. Kvale, A. Thalme, A. Sonnerborg, [et al.]// JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. – 2015. – T. 70. – №. 4. – C. 329-337. Doi: 10.1097/QAI.0000000000000784
181. Sugimoto, K. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis / K. Sugimoto, A. Ogawa, E. Mizoguchi, Y. Shimomura, A. Andoh, A.K. Bhan, R.S. Blumberg, R.J. Xavier, A. Mizoguchi // The Journal of clinical investigation. – 2008. – T. 118. – №. 2. – C. 534-544. Doi: 10.1172/JCI33194
182. Tavel, J.A. Effects of intermittent IL-2 alone or with peri-cycle antiretroviral therapy in early HIV infection: the STALWART study. / J.A. Tavel, INSIGHT STALWART Study Group // PloS one. – 2010. – T. 5. – №. 2. Doi: 10.1371/journal.pone.0009334
183. Temprano ANRS 12136 Study Group. A trial of early antiretrovirals and isoniazid preventive therapy in Africa //New England Journal of Medicine. – 2015. – T. 373, N 9. – C. 808-822.
184. Thaïss, C.A. The interplay between the innate immune system and the microbiota / C.A. Thaïss, M. Levy, J. Suez, E. Elinav // Current opinion in immunology. – 2014. – T. 26. – C. 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.10.016>
185. Tincati, C. Gut barrier structure, mucosal immunity and intestinal microbiota in the pathogenesis and treatment of HIV infection / C. Tincati, D.C. Douek, G. Marchetti // AIDS research and therapy. – 2016. – T. 13. – №. 1. – C. 19. Doi: 10.1186/s12981-016-0103-1
186. Tincati, C. Impaired gut junctional complexes feature late-treated individuals with suboptimal CD4+ T-cell recovery upon virologically suppressive combination antiretroviral therapy / C. Tincati, E. Merlini, P. Braidotti, G. Ancona, F. Savi, D. Tosi [et al.] // AIDS. - 2016. – T. 30. – №. 7. – C. 991-1003. Doi: <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001015>
187. V. Appay and D. Sauce, “Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences,” The Journal of Pathology, vol. 214, no. 2, pp. 231–241, 2008. <https://doi.org/10.1002/path.2276>
188. Valdez, H. Limited immune restoration after 3 years' suppression of HIV-1 replication in patients with moderately advanced disease / H. Valdez, E. Connick, K.Y. Smith, M.M. Lederman, R.J. Bosch, R.S. Kim [et al.]// Aids. – 2002. – T. 16. – №. 14. – C. 1859-1866. Doi:10.1097/00002030-200209270-00002
189. van der Sluis, R.M. Dendritic cell-induced activation of latent HIV-1 provirus in actively proliferating primary T lymphocytes / R.M. van der Sluis RM, T. van Montfort, G. Pollakis [et al.] // PLoS Pathog. – 2013. - Vol. 9, N3. Doi: 10.1371/journal.ppat.1003259.
190. Vázquez-Castellanos, J.F. Altered metabolism of gut microbiota contributes to chronic immune activation in HIV-infected individuals / J.F. Vázquez-Castellanos, S. Serrano-Villar, A. Latorre, A. Artacho, M.L. Ferrús, N. Madrid, A. Vallejo, T. Sainz, J. Martínez-Botas, S. Ferrando-Martínez, M. Vera, F. Dronda, M. Leal, J. Del Romero, S. Moreno, V. Estrada, M.J. Gosalbes, A. Moya [et al.] // Mucosal immunology. – 2015. – T. 8. – №. 4. – C. 760-772. Doi: <https://doi.org/10.1038/mi.2014.107>
191. Vesterbacka, J. Kinetics of microbial translocation markers in patients on efavirenz or lopinavir/r based antiretroviral therapy / J. Vesterbacka, P. Nowak, B. Barqasho, S. Abdurahman, J. Nystrom, S. Nilsson [et al.] // PloS one. – 2013. – T. 8. – №. 1. – C. e55038
192. Villar-Garcia, J. Effect of probiotics (*Saccharomyces boulardii*) on microbial translocation and inflammation in HIV-treated patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial / J. Villar-Garcia, J.J. Hernandez, R. Guerri-Fernandez, A. Gonzalez, E. Lerma, A. Guelar [et al.] // JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. – 2015. – T. 68. – №. 3. – C. 256-263. Doi: 10.1097/QAI.0000000000000468
193. Vujkovic-Cvijin, I. Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism / I. Vujkovic-Cvijin, R.M. Dunham, S. Iwai, M.C. Maher, R.G. Albright, M.J. Broadhurst [et al.] // Science translational medicine. – 2013. – T. 5, N 193. – C. 193ra91. Doi: 10.1126/scitranslmed.3006438

194. Whitney, J.B. Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys. / J.B. Whitney, A.L. Hill, S. Sanisetty [et al.] // *Nature*. – 2014. – Vol. 512, N. 24. – P. 74–77. Doi: 10.1038 / nature13594
195. Williams, B. Microbiome alterations in HIV infection a review / B. Williams, A. Landay, R. M. Presti // *Cellular microbiology*. – 2016. – Т. 18. – №. 5. – С. 645–651. Doi: <https://doi.org/10.1111/cmi.12588>
196. World Health Organization. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV, ISBN 978 92 4 150956 5 (NLM classification: WC 503.2); september 2015 // URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf.
197. Zhang, L.T. Translocation of microbes and changes of immunocytes in the gut of rapid- and slow-progressor Chinese rhesus macaques infected with SIVmac239. / L.T. Zhang, R.R. Tian, H.Y. Zheng, G.Q. Pan, X.Y. Tuo, H.J. Xia, X.S. Xia, W. Pang, Y.T. Zheng. // *Immunology*. – 2016. – Т. 147. – №. 4. – С. 443–452. <https://doi.org/10.1111/imm.12574>
198. Аниховская, И.А. Эндотоксиновый компонент патогенеза хронических вирусных заболеваний / И.А. Аниховская, А.А. Кубатиев, Г.Р. Хасанова, М.Ю. Яковлев // *Физиология человека*. – 2015. – Т. 41. – №. 3. – С. 118–126.
199. Бабик, Р.К. Этиологическая характеристика вирусных кишечных инфекций у детей / Р.К. Бабик // *Человек. Спорт. Медицина*. – 2010. – № 24 (200). – С. 35–37.
200. Бакулина Л. С. О лечении фарингомикоза (Обзор литературы) / Л. С. Бакулина, Т. А. Машкова, А. И. Неровный, А. С. Лобеева, И. Ю. Жданова // *Российская оториноларингология*. – 2017. – №. 1. – С. 114–120.
201. Бойчук, С.В. Различная чувствительность продуктивно инфицированных ВИЧ-1 и неинфицированных клеток к апоптозу. / С.В. Бойчук, А.В. Иванова, И.Г. Мустафин, М.В. Макарова, П.Д. Дунаев и др. // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. – 2008. – N 4. – С. 7–9.
202. Боковикова, Т.Н. Новый препарат галавит: методы анализа и стандартизации. / Т.Н. Боковикова, В.Л. Багирова, Е.П. Черникова. // *Фарматека*. – 1999. – N2. – С.53–55.
203. Бондаренко, В. М. Определение эндотоксина грамотрицательных бактерий в крови человека / В. М. Бондаренко, В.Г.Лиходед, М.Ю.Яковлев // *Журнал Микробиологии*.-2002.- №2.-С.83-89.
204. Бондаренко, В.М. Диагностика, лечение и профилактика эндотоксинемии / В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед. // *Лечение и профилактика*. - 2012. – №. 2. – С. 70–76.
205. Бусленко, А.О. Изменение состава микрофлоры кишечника при экспериментальной клебсиеллезной инфекции у лабораторных мышей и ее терапии различными иммуномодулирующими препаратами / А.О. Бусленко, Н.Ю. Пшеничная, А.В. Алешукина // *Врач-аспирант*. – 2015. – № 71 (4.1). – С. 139–144.
206. Бусленко, А.О. Местный цитокиновый профиль у взрослых пациентов с острыми кишечными инфекциями и его коррекция с применением иммуномодулирующей терапии / А.О. Бусленко, А.В.Алешукина, Н.Ю. Пшеничная, С.А. Хуказова, О.Д. Костенко, Г.В. Гопаца, М.И. Малышева // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы* - 2017. - № 4. - С. 58–64.
207. Бусленко, А.О. Острые кишечные инфекции у взрослых: оценка состояния интестинальной микрофлоры и эффективности аминокислоты галактина натрия в составе их комплексной терапии / О.А Бусленко, Н.Ю. Пшеничная, А.В. Алешукина [и др.] // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. – 2016. – № 4. – С. 57 – 64.
208. Веселов А. В., Козлов Р. С. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2016. – Т. 18. – №. 2. – С. 3–87.
209. Воронцов Д.В. , Матузкова А.Н., Саухат С.Р. Формирование, оценка и контроль приверженности диспансеризации и лечению у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Практическое пособие, 2016 г. Москва, издательство КРЕДО-2016, 42 стр.
210. Донецкая Э.Г.-А. Клиническая микробиология: Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. – М. :ГЕОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил. (Библиотека врача-специалиста).
211. Зорина, О.А. Микробиоценоз полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта / О.А. Зорина, А.А. Кулаков, А.И. Грудянов// *Стоматология* – 2011. – № 1. – С. 73 – 78.
212. Игнатов П.Е., Имунитет и инфекция / П.Е. Игнатов. – М.: Время, 2002. – С.97–104.
213. Козлов, В.К. Цитокинотерапия: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность: Руководство для врачей / В.К. Козлов. // СПб.: Альтер Эго, 2010. – С. 11–70.
214. Коробкова, Л.И. Роль иммуномодулятора Галавит в онкологической и хирургической практике / Л.И. Коробкова // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2004. – Т. 3. – №. 3. – С.87–92.

215. Крюков, А.И. Клинико-микробиологическая характеристика дисбиотических изменений слизистой оболочки полости рта и ротоглотки / А.И. Крюков, Н.Л. Кунельская, А.В. Гуров, Г.Н. Изотова, А.Е. Старостина, А.С. Лапченко // Медицинский совет. – 2016. – №. 6.
216. Кузнецова М. В. Эпидемиолого-микробиологическая характеристика культур *Candida albicans*, циркулирующих в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов / М. В. Кузнецова, И.П. Чарушина, А.В. Максимова, С.Ю. Баландина, В.А. Демаков, И.В. Фельдблюм // Клиническая лабораторная диагностика. - 2017. - №4. – С. 246-250. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/epidemiologo-mikrobiologicheskaya-harakteristika-kultur-candida-albicans-tsirkuliruyuschih-v-statsionare-dlya-vich-infitsirovannyh> (дата обращения: 31.08.2020).
217. Латышева, Т.В. Вторичные иммунодефициты. Возможности использования отечественного иммуномодулятора галавит. / Т.В. Латышева, Н.Х. Сетдикова, К.С. Манько // Цитокины и воспаление. – 2005. Т. 4. – N 3. - С. 95–99.
218. Лучшев, В.И. Применение галавита у больных острой кишечной инфекцией на кафедре инфекционных болезней, тропической медицины и эпидемиологии РГМУ / В.И. Лучшев, Л.И. Созданова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 127. – С. 16–17.
219. Мавзютов, А.Р. Характер изменений уровня липополисахарид-связывающего белка при различных инфекционных процессах и дисбиозах. / А.Р. Мавзютов, Г.А. Мавзютова, К.Р. Бондаренко, С.Е. Сендерович, Р.Г. Назмутдинова, Р.Т. Мурзабаева, О.З. Кузовкина, А.О. Акбашева, Д.Н. Дубровская // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2011. - № 2. - С. 66-72.
220. Матузкова, А.Н. Клинико-диагностическое значение оценки показателей системного воспаления у больных с ВИЧ-инфекцией / А.Н. Матузкова, Н.Ю. Пшеничная, А.Г. Суладзе, Л.И. Досягаева, Т.И. Твердохлебова, Э.А. Яговкин // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии». – 2018. - Т. 10, N.3. - С. 65-72. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2018-10-3-64-71>
221. Матузкова, А.Н. Маркеры системного воспаления у больных с ВИЧ-инфекцией с различным уровнем концентрации РНК ВИЧ в крови: диагностическая значимость и сравнительный анализ / А.Н. Матузкова, Н.Ю. Пшеничная, А.Г. Суладзе, Л.И. Досягаева, Т.И. Твердохлебова // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2018. - N. 4, - С.56-62.
222. Матузкова, А.Н. Микробиота ротоглотки при ВИЧ-инфекции: тенденции и проблемы в эпоху АРВТ А.Н. Матузкова, Н.Ю. Пшеничная, А.В. Алешукина, А.А. Рындич, А.Г. Суладзе, Т. И. Твердохлебова, А.С. Журавлев // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2020. - Т. 10, N.1. - С. 98-107.
223. Матузкова, А.Н. Системный воспалительный ответ у больных ВИЧ-инфекцией и возможности его коррекции / А.Н. Матузкова, Н.Ю. Пшеничная, А.В. Алешукина, А.А. Рындич, А.Г. Суладзе, Л.И. Досягаева, А.Ю. Буравлев, Т. И. Твердохлебова, А.С. Журавлев // Русский медицинский журнал. - 2019. - Т. 27. N. 10. - С. 12-16.
224. Международные этические руководящие принципы для исследований в области здоровья с участием людей, четвертое издание. Женева. Совет международных научно-медицинских организаций (СМНМО): 2016.
225. Меняйло, М. Е. Роль интерлейкина-8 в непосредственной регуляции функциональной активности Т-лимфоцитов / М. Е. Меняйло, В.В. Малащенко, В.А. Шмаров, Н.Д. Газатова, О.Б. Мелашенко, А.Г. Гончаров, Г.В. Селедцова, В.И. Селедцов // Медицинская иммунология. - 2017. - №5. С. 529-536. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-interleykina-8-v-neposredstvennoy-regulyatsii-funktsionalnoy-aktivnosti-t-limfotsitov> (дата обращения: 13.04.2020).
226. Москалёв, А. В. Роль хемокинов в развитии противовирусного иммунного ответа / А. В. Москалёв, А. С. Рудой, В. Я. Апчел // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. – №. 3. – С. 183-188.
227. Нагоев, Б.С. Галавит в терапии острых кишечных инфекций / Б.С. Нагоев, Р.П. Князев, Р.В. Лютов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 127. – С. 18–21.
228. Нарзуллаев Н. У., Сулейманов С. Ф., Вохидов У. Н. Показатели микробиоценоза ротоглотки у больных с ВИЧ-позитивным и негативным статусом // Российская ринология. – 2013. – Т. 21. – №. 2. – С. 43-43.
229. Национальная ассоциация специалистов по профилактике, диагностике и лечению ВИЧ-инфекции. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых. 2017г. <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/schema/899> Дата обращения 10.01.2020г.
230. Нугманова Ж.С. ВИЧ-инфекция и старение (обзор) /Ж.С. Нугманова, Б.А. Рамазанова // Вестник КазНМУ. - 2015. - №4. - С. 67-72.
231. Олейник А.Ф. Причины иммунологической неэффективности антиретровирусной терапии у пациентов с ВИЧ-инфекцией / А.Ф. Олейник, В.Х. Фазылов // Казанский мед. ж.— 2014. — Т. 95, N 4. — С.581-588.

232. Олейник, А. Ф. Значение коморбидности при ВИЧ-инфекции / А. Ф. Олейник, В. Х. Фазылов // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2017. – Т. 18, N 1., С. 101-108.
233. Перегуд, Д.И. Иммуномодулятор галавит ослабляет проявление синдрома отмены морфина у крыс: роль нитрергической системы мозга. / Д.И. Перегуд, М.В. Онуфриев, Л.К. Егорова [и др.] // Нейрохимия. – 2005. – Т. 22. – № 3. – С. 187–194.
234. Покровский, А.В. Прогностическое значение провоспалительных цитокинов при ингаляционном применении галавита в комплексном лечении ХОБЛ / А.В. Покровский, Л.А. Мхитарова, В.Н. Царёв // Дагестанской государственной медицинской академии. – 2014. – Т. 1. – № 10. – С. 19.
235. Покровский, В.В. Рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции и связанных с ней заболеваний, химиопрофилактике заражения ВИЧ / В.В. Покровский, О.Г. Юрин, А.В. Кравченко, В.В. Беляева, В.В. Буравцова, М.О. Деулина, Т.Н. Ёрмак, О.С. Ефремова, В.Г. Канестри, Н.В. Козырина, Н.Н. Ладная, Р.С. Нарсия, В.И. Шахгильдян, У.А. Куимова, А.В. Покровская, А.А. Попова, О.Н. Хохлова, Е.Е. Воронин, Л.Ю. Афолина, В.Н. Зимина // Эпидемиол. и инфекц. болезни. Актуал. вопр. 2019; №4 (приложение). 87 с.
236. Полищук, И.С. Изменение микробиома ротоглотки у людей с ВИЧ-инфекцией / И.С. Полищук, А.В. Алешукина, А.Н. Матузкова, А.Г. Суладзе // Проблемы медицинской микологии. – 2018. - Т.20, N. 2. - С.103-104
237. Пузырева, Л. В. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее / Пузырева, Л. В. Сафонов А.Д. // Инфекция и иммунитет. - 2016. - №2. - С.103-108. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/geneticheskiiy-polimorfizm-tsitokinov-proshloe-i-budushee> (дата обращения: 21.02.2021).
238. Пузырева, Л.В. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее / Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. // Инфекция и иммунитет. - 2016. - Т. 6. - № 2. - С. 103-108.
239. Пшеничная, Н.Ю. Патент на изобретение RUS№2697392 от 14.08.2019. Способ прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции у больных, получающих антиретровирусную терапию / Н.Ю. Пшеничная, А.Н. Матузкова, А.В. Алешукина, А.Г. Суладзе, А.А. Рындич // Официальный бюллетень Федеральной службы по интеллектуальной собственности (Роспатент) «Изобретения. Полезные модели». – 2019. - №23.
240. Романцева, Н.Э. Галавит в комплексном лечении туберкулеза в сочетании с ВИЧ-инфекцией. / Н.Э. Романцева, Л.А. Шовкун // International Journal on Immunorehabilitation. – 2010. – Т. 12. – №2. – С. 125.
241. Романцева, Н.Э. Патент РФ на изобретение. №2383342. Способ лечения туберкулеза легких у больных ВИЧ-инфекцией / Н.Э. Романцева Е.Ф. Соболева, Л.А. Шовкун, Е.В. Бекетова, С.А. Быков, // Официальный бюллетень Федеральной службы по интеллектуальной собственности (Роспатент) «Изобретения. Полезные модели» - 2010. - №3. <https://findpatent.ru/patent/238/2383342.html>
242. Романцов, М. Г. Подходы к лечению поражений печени в практике клинициста / М.Г. Романцов, Т.В. Сологуб, А.А. Шульдяков, М.Н. Бизенкова, Т.В. Антонова, С.А. Васильев, А.Н. Смагина, Коваленко А.Л. // Фундаментальные исследования. - 2011. - Т.3, N 9. - С. 488-495.
243. Романцов, М.Г. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью / М.Г. Романцов, О.Г. Шульдякова, А.Л. Коваленко // Журнал «Фарматека». – 2004. – № 1. – С. 29–33.
244. Самуилова, Д. Ш. Липополисахарид-связывающий белок: основные функции и клиническое значение / Д. Ш. Самуилова, У. Л. Боровкова // Клиническая физиология кровообращения. – 2013. – №. 4. – С. 5-9.
245. Селимова, Л.М. Цитокины при инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) / Л.М. Селимова, Л.Б. Калнина, Л.В. Серебровская, Л.А. Иванова, А.Н. Гуляева, Д.Н. Носик // Вопросы вирусологии. - 2016. - Т. 61. - № 1. - С. 39-41.
246. Серебренникова, С. Н. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса / Серебренникова С. Н., Семинский И. Ж., Семенов Н. В., Гузовская Е. В. // Сиб. мед. журн. (Иркутск). - 2012. - №8. С.5-7. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/interleykin-1-interleykin-10-v-regulyatsii-vospalitelnogo-protssesa> (дата обращения: 13.04.2020).
247. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13. – №. 3. – С. 18-41.
248. Сологуб, Т.В. Новые возможности противовирусной терапии хронического гепатита С с включением отечественного иммуномодулирующего препарата Галавит. / Т.В. Сологуб, Н.А. Семеняко // Профилактическая и клиническая медицина. – 2009. – № 1. – С. 167–171.
249. Сологуб, Т.В. Иммуномодуляторы в комплексной терапии ОРВИ: возможности применения препарата Галавит / Т.В. Сологуб, О.Ю. Осинцев // Русский медицинский журнал. – 2013. – Т. 21. – №. 3. – С.144.
250. Сотниченко С.А. Особенности продукции цитокинов при ВИЧ-инфекции // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 5. – С. 13-15; URL: <http://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=10310> (дата обращения: 21.02.2021).

251. Хаитов, Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. Учебное пособие. / Р.М. Хаитов. - 2013. - 280 с.
252. Хасанова, Г.Р. Варианты течения и прогрессирования ВИЧ-инфекции. / Г.Р. Хасанова, Л.Б. Акчурина, В.А. Анохин // Инфекционные болезни. - 2013. - Т. 11. - № 1. - С. 72-77.
253. Хасанова, Г.Р. Значение уровня растворимого рецептора CD14 для прогноза прогрессирования ВИЧ-инфекции / Г.Р. Хасанова, В.А. Анохин, Ф.И. Нагимова // Практическая медицина. - 2014. - Т.78, N 2 - С. 110-114.
254. Хасанова, Г.Р. К вопросу о патогенезе ВИЧ-инфекции: роль активации иммунной системы в прогрессировании заболевания/ Г.Р. Хасанова, И.Г. Мустафин, В.А. Анохин // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2012. - № 3. - С. 47-52.
255. Хасанова, Г. Р. Кишечный фактор прогрессирования ВИЧ-инфекции// Г. Р. Хасанова, О. И. Биккинина, В. А. Анохин, И. А. Аниховская, М. Ю. Яковлев//Успехи современной биологии. - 2020. - Т. 140. - №. 3. - С. 278-288.
256. Хасанова, Г.Р. Микробная транслокация и системный воспалительный ответ при ВИЧ-инфекции / Г.Р. Хасанова, О.И. Биккинина, В.А. Анохин //Саратовский научно-медицинский журнал. - 2013. - Т. 9. - № 3. - С. 508-512.
257. Хасанова, Г.Р. Нарушение барьерной функции стенки кишки и микробная транслокация при ВИЧ-инфекции// Журнал инфектологии. - 2014. - Т. 4. - №. 3. - С. 35-41.
258. Хасанова, Г.Р. Нарушения микробиоценоза кишечника у больных ВИЧ-инфекцией / Г.Р. Хасанова, В.А. Анохин, О.И. Биккинина, Е.Н. Шахбазова, Е.Ю. Котляр, Ф.И. Нагимова // Казанский медицинский журнал. - 2013. - Т. 94, N 1. - С. 34-39.
259. Хасанова, Г.Р. Системный воспалительный ответ и прогрессирование ВИЧ-инфекции / Г.Р. Хасанова, О.И. Биккинина, Л.Б. Акчурина, В.А. Анохин, И.И. //Ахметов Вестник современной клинической медицины. 2013. - Т. 6. - № 3. - С. 21-27.
260. Цветикова, Л. Н. Роль фактора некроза опухоли- α в развитии оксидативного стресса и воспаления / Л. Н. Цветикова, Д. А. Атякшин, Н. В. Лобеева //Научно-медицинский вестник центрального Черноземья. - 2015. - №. 61. - С. 20-23.
261. Циклаури, В.Т. Влияние галавита на фагоцитарную активность клеточного иммунитета у онкологических больных. / В.Т. Циклаури, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, С.С. Соловьев, Е.Г. Матякин, З.Г. Кадагидзе // Российский биотерапевтический журнал. - 2012. - Т. 11. - № 2. - С. 61.
262. Чигаева, Е. В. Оценка биомаркеров иммунной активизации у больных ВИЧ-инфекцией / Е. В. Чигаева, Н.Ю. Пшеничная, А.Н. Матузкова, А.Б. Стасева, С.Н. Иванова, Т.И. Твердохлебова // Российский иммунологический журнал. - 2018. - Т. 12 (21), N.4. - С. 791-793.
263. Шмагель, Н. Г. Клинические аспекты неэффективности высокоактивной антиретровирусной терапии / Н. Г. Шмагель, К. В. Шмагель, В. А. Черешнев // Инфекционные болезни. - 2011. - Т. 9, N 1. - С. 5-10.
264. Шмагель, Н. Г. Системное воспаление и повреждение кишечного барьера при эффективном лечении ВИЧ-инфекции/ Н. Г. Шмагель, К. В. Шмагель, Л. Б. Королевская, Е. В. Сайдакова, В. А. Черешнев //Клиническая медицина. - 2016. - Т. 94. - №. 1. С.47-51
265. Шмагель, К. В. Активация иммунитета при ВИЧ-инфекции/ К. В. Шмагель, Н. Г. Шмагель Н. Г., В. А. Черешнев //Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19. - №. 5. С. 489-504
266. Шмойлов, Д.К. Показатели гуморального антиэндотоксинового иммунитета при некоторых инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии / Д.К. Шмойлов, Т.Н. Одинец, И.З. Каримов, А.С. Мидикари, М. В. Горовенко // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2015. - Т. 20. - №. 5. С. 32-36.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Форма письменного информированного согласия пациента

Название исследования:

«Клинико-иммунологический и вирусологический профиль больных ВИЧ-инфекцией с разным уровнем эффективности комплексной терапии»

Название организации, проводящей исследование:

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»

Роспотребнадзора

ФИО главного исследователя: Матузкова Анна Николаевна

Название исследовательского центра:

Южный окружной центр Роспотребнадзора по профилактике и борьбе со СПИДом

Адрес исследовательского центра: г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, 119

Номер пациента: _____

Приглашаем Вас принять участие в исследовании по изучению клинико-иммунологического и вирусологического профиля больных ВИЧ-инфекцией с разным уровнем эффективности комплексной терапии. Пожалуйста, найдите время, чтобы внимательно прочитать приведенную здесь информацию и, если посчитаете нужным, обсудите ее с друзьями, родственниками и Вашим лечащим врачом (участковым врачом или врачом общей практики). Если Вам что-то непонятно или Вы хотите получить более подробную информацию, обратитесь с вопросами к доктору, проводящему исследование, или другим сотрудникам исследовательского центра. Подумайте не спеша, чтобы решить, хотите Вы участвовать в этом исследовании или нет. Проведение этого научного исследования врачом и лечебным учреждением организуется ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора.

Почему проводится это исследование?

Данное исследование проводится с целью совершенствования терапии больных ВИЧ-инфекцией на основе комплексной оценки клинико-иммунологических и вирусологических характеристик пациентов в современный период развития эпидемии на Юге России.

Что мне нужно будет делать?

Если Вы согласны участвовать в этом исследовании, Ваш доктор уточнит с Вами историю Вашего основного заболевания. Кроме того, Вам будет выполнен общий врачебный осмотр, чтобы определить, подходите ли Вы для включения в это исследование. Врач сообщит Вам, в какую группу исследования Вы будете распределены после рандомизации (процедуры случайного распределения участников эксперимента по группам): в основную группу или группу сравнения. Для группы сравнения клиническим протоколом исследования предусмотрен один визит, для основной группы – два визита (второй визит необходимо планировать через 7 недель после первого).

Для основной группы при первом визите и для группы сравнения при однократном визите:

Вам нужно будет сдать кровь (приблизительно 20 мл) в рамках регулярного визита для сдачи анализов, однократно, натошак из вены, с помощью современной одноразовой вакуумной системы – вакутейнера (стерильной пробирки, соединенной с иглой). Использование вакутейнера делает процедуру забора крови практически безболезненной, в отличие от обычной, и практически полностью безопасной (исключает возможность внешнего заражения). В редких случаях возможен повторный забор крови.

Все процедуры получения образцов крови будут проводиться в процедурном кабинете исследовательского центра, куда будут приглашаться участники исследования. Забор всех клинических образцов будет производиться только квалифицированными медицинскими работниками.

Одновременно у Вас будут взяты мазки со слизистой ротоглотки.

Перед проведением забора материала рекомендуется придерживаться следующих правил:

- в течение двух часов не принимать пищу, не пить и не чистить зубы;
- очистить носовые ходы от скоплений слизи.

Мазки будут брать при помощи стерильных проволочных петель с накрученным ватным тампоном. Забор материала со слизистой ротоглотки будет производиться при помощи стерильного шпателя для прижатия корня языка. Стерильной петлей проведут по небным дужкам, задней стенке глотки (исключено прикосновение петли к языку, зубам и стенкам ротовой полости).

В лаборатории будет производиться посев отобранного материала на различные питательные среды.

Несоблюдение подготовки перед взятием мазка со слизистой ротоглотки на микрофлору может быть причиной недостоверных результатов анализа.

Только для основной группы после сдачи анализов и заполнения всей необходимой документации Вам будет назначен препарат **Аминодигидрофалазиндион натрия (Галавит®)** по схеме по 1 таблетке 4 раза в день в течение 10 дней. Затем по 1 таблетке 4 раза в день через 3 суток курсом до 3-х недель.

ВНИМАНИЕ! *Препарат Аминодигидрофалазиндион натрия (Галавит®) противопоказан при беременности и лактации.*

После завершения курса препарата Аминодигидрофалазиндион натрия (Галавит®) (через 4 недели после окончания приема препарата) необходимо будет пройти повторное клиничко-лабораторное обследование в том же объеме, что и при первом визите.

Сколько еще пациентов участвуют в исследовании?

В это исследование планируется включить около 100 пациентов.

Каков предполагаемый риск в связи с участием в исследовании?

Никакого физического риска, связанного с забором образцов крови и мазков нет. В редких случаях могут наблюдаться обычные для процедуры взятия венозной крови симптомы (дискомфорт, умеренная боль в месте укола, отек, синяк и инфицирование). Средняя длительность процедуры 10-15 мин.

При приеме препарата Аминодигидрофалазиндион натрия (Галавит®) в редких случаях возможны аллергические реакции.

Какова польза от участия в исследовании?

Ваше участие в исследовании позволит провести комплексную оценку клиничко-иммунологических, микробиологических и вирусологических характеристик необходимых для разработки методов патогенетической терапии ВИЧ-инфекции, направленных на купирование системного и местного воспаления.

Какие выплаты будут производиться по данному исследованию?

Оплата Вашего участия в данном исследовании не предусмотрена.

К кому следует обращаться при возникновении вопросов по исследованию?

В любое время Вы можете задать любые интересующие Вас вопросы по данному исследованию Вашему доктору: Матузковой Анне Николаевне

(Ф.И.О. врача-исследователя)

по тел. 8-(863) 234-89-67.

В дополнение к этому, если у Вас возникнут вопросы относительно проведения клинических исследований в общем или данного исследования в частности, или относительно Ваших прав как добровольного участника исследования, Вы можете связаться с представителем Независимого этического комитета: Яговкиным Эдуардом Александровичем

(ФИО представителя и/или название Этического Комитета)

по телефону 8 (863) 234-91-83.

Если Вы полагаете, что Вам нанесен ущерб в связи с участием в данном исследовании, Вам следует обратиться к доктору: Матузковой Анне Николаевне по тел. 8-(863) 234-89-67 или Суладзе Александру Георгиевичу по тел. 8-(863) 240-32-35

Должен ли я оставаться в исследовании?

Ваше участие в этом исследовании добровольное. Если Вы решите участвовать в нем, Вас попросят подписать и выдадут на руки экземпляр данной формы информированного согласия. Вы можете отказаться от участия в этом исследовании в любое время. О таком своем решении Вы должны сообщить Вашему врачу, проводящему исследование. Ваш отказ от участия в исследовании не отразится на предоставлении Вам медицинской помощи сейчас или в дальнейшем.

Кто будет иметь доступ к медицинской и персональной информации о Вас, собранной в ходе этого исследования?

Если Вы решите участвовать в исследовании, врач и другой персонал, отвечающий за проведение исследования, будут осуществлять сбор медицинской и личной информации о Вас, как предусмотрено протоколом исследования. Лица, работающие во ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, а также представители контролирующих инстанций, таких как Независимый Этический Комитет, занимающихся этическими аспектами исследований, или представители регулирующих органов, будут иметь доступ к информации, имеющейся в данном исследовательском центре, в целях проверки надлежащего выполнения этого исследования. Все эти лица, ознакомившиеся с данной информацией в исследовательском центре, будут соблюдать конфиденциальность.

После окончания Вашего участия в этом исследовании, никакую новую информацию о Вас не будут собирать, и не будут пополнять уже имеющиеся письменные данные о Вас или базы данных. ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора будут использоваться все медицинские данные, собранные до окончания Вашего участия в исследовании.

Приложение 2. Заявление пациента о согласии

Экземпляр этой Формы согласия (подписанный и датированный) необходимо выдать пациенту

Я подтверждаю, что я прочитал(а) и полностью понимаю информацию, которую содержит данная форма информированного согласия на участие в исследовании «Клинико-иммунологический и вирусологический профиль больных ВИЧ-инфекцией с разным уровнем эффективности комплексной терапии».

Я подтверждаю, что в процессе получения моего согласия мне было разъяснено данное исследование и его процедуры.

Я подтверждаю, что имел(а) возможность задать вопросы по этому исследованию и получил(а) удовлетворившие меня ответы и объяснения.

Мне было предоставлено достаточно времени и возможностей, чтобы внимательно прочитать эту информацию, обсудить ее с другими людьми и принять решение относительно моего участия в этом исследовании.

Я согласен/согласна принять участие в этом исследовании.

Я получил/а на руки экземпляр данной формы информированного согласия.

Для женщин с возможностью к деторождению:

Я подтверждаю, что на данный момент я не беременна.

Подпись пациента _____ **Дата** _____

Фамилия, имя, отчество _____
пациента
(вписывается пациентом
разборчиво)

Я подтверждаю, что полностью разъяснил(а) вышеупомянутому пациенту характер, цель, процедуры, возможный риск и потенциальную пользу этого исследования.

Подпись врача-
исследователя, _____ **Дата** _____
получающего согласие

Фамилия, имя отчество _____
врача-исследователя,
получающего согласие
(вписывается врачом
разборчиво)

Приложение 3. Индивидуальная регистрационная карта участника исследования

Критерии не включения:

1. беременность
2. кормление грудью
3. туберкулез
4. клинические проявления сопутствующих хронических или оппортунистических заболеваний

Внутренний код пациента (ФИО или № карты) _____

Дата рождения: _____

Дата первого ВИЧ+иммуноблота _____

Код заражения ВИЧ _____

Предполагаемый год, месяц инфицирования ВИЧ _____

Дата постановки клинического диагноза (постановки на ДУ) _____

Место проживания _____

Пол: ☐ мужской ☐ женский

Возрастная группа

☐ 18- 25 лет; ☐ 25-35 лет; ☐ 35-45 лет; ☐ 45-60 лет; ☐ свыше 60 лет.

Социальная категория:

☐ работающий ☐ работающий пенсионер

☐ учащийся (студент); ☐ пенсионер по возрасту; ☐ инвалид; ☐ безработный;

☐ работающий неофициально ☐ временно не работающий ☐ другое.

Производственные вредности в течение последних 12 мес.

Да Нет

Частота употребления спиртных напитков за последние 4 недели (подчеркнуть)

Как часто в течение последних 30 дней пациент употреблял хоть какой-нибудь напиток, содержащий алкоголь: пиво, вино, водка, иные крепкие напитки или алкогольные коктейли

Ежедневно	Почти каждый день	3-4 раза в неделю	1 раз в неделю	2-3 раза за эти 30 дней	1 раз за эти 30 дней	Не употреблял вообще

Сведения об употреблении инъекционных наркотических средств

Никогда	
Успешная реабилитация (год)	
Употребляет (дата последней инъекции)	

Результаты клинико-лабораторного обследования

Индекс массы тела _____

		До лечения галавитом		После лечения галавитом	
		дата	результат	дата	результат
Иммунологические показатели					
CD45+CD3+	%				
	абс.				
CD45+CD3+CD4+	%				
	абс.				
покоящиеся наивные Т-клетки CD4+CD45RA+ CD45RO-	%				
	абс.				
Т-клетки памяти CD4+ CD45RA-CD45RO+	%				
	абс.				
Активированные Т-клетки памяти CD4+CD45RA+CD45RO+	%				
	абс.				
CD45+CD3+CD8+	%				
	абс.				
ИРИ					
Содержание дубль-позитивных Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+) абс.	%				
	абс.				
Содержание NK-лимфоцитов (CD45+CD3- CD16+CD56+)	%				
	абс.				
Содержание В-лимфоцитов (CD45+CD3-CD19)	%				
	абс.				
CD3+/CD8+/HLA-DR	%				
	абс.				
CD3+/CD8+/38+/HLA-DR активные цитотоксические CD8	%				
	абс.				
CD3/4+/45RA+/62L Т-хелперы памяти	%				
	абс.				
Вирусная нагрузка ВИЧ копий/мл					
Концентрация РНК ВГС (ме/мл)					
Концентрация ДНК ВГВ					
ОАК					
Гемоглобин (г/л)					
Эритроциты ($10^{12}/л$)					
Лейкоциты					
Лимфоциты					
ЦП (у.е.)					
Тромбоциты					
СОЭ					
Маркеры системного воспаления в крови					
ИЛ-1b					
ФНОa					
ИЛ-6					
ИЛ-8					
ИЛ-10					

ИФНа				
ИФNg				
LPS-связывающий белок (LBP)				
Тест на прокальцитонин (PCT)				
Бактериологические показатели, характеризующие состав и наличие изменений микрофлоры слизистых				
Слизистая ротоглотки				

АРВТ

АРВП	Дата начала АРВТ	Дата смены схемы АРВТ 1	Дата смены схемы АРВТ 2	Дата смены схемы АРВТ 3
НИОТ				
никавир 400 мг (2 таб.) 2 раза в сутки				
ABC 300 мг 2 раза в день или 600 мг 1 раз в сутки				
ZDV 300 мг 2 раза в сутки				
ЗТС 150 мг 2 раза в сутки или 300 мг 1 раз в сутки				
d4T 30 мг 2 раза в сутки				
ddI 0,4 г 1 раз в сутки				
TDF 300 мг 1 раз в сутки				
FTC 200 мг 1 раз в сутки				
ННИОТ				
EFV 600 мг 1 раз в сутки				
ETR 200 мг 2 раза в сутки				
RPV 25 мг 1 раз в день				
NVP 200 мг 2 раза в день				
ИП				
ATV 400 мг 1 раза в сутки во время еды				
FPV 1400 мг 2 раза в сутки				
ИП/г				
LPV/г 400/100 мг 2 раза в день				
ATV/г (ATV300 мг + 100 мг RTV)				
DRV/г (DRV 800 мг +100 мг RTV)				
DRV/г (DRV 1200 мг +200 мг RTV)				
SQV/г (2000мг+200 мг RTV)				
FPV/г (1400 мг + 200 мг RTV) 1 раза в сутки				
ИИ				
RAL 400 мг 2 раза в сутки				
DTG 50 мг 1 раз в сутки				

Количество CD4 при начале АРВТ

более 500 кл/мкл	
350-500 кл/мкл	
200-350 кл/мкл	
50-199 кл/мкл	
менее 50 кл/мкл	

Уровень вирусной нагрузки при начале АРВТ (копий в 1 мл)

более 100 000 копий/мл	
менее 100 000 копий/мл	
Менее 10 000 копий/мл	

Вирусологический рецидив после начала АРВТ и достижения неопределяемого уровня РНК ВИЧ

Не был зарегистрирован	
Был (указать дату)	
Дата исследования резистентности ВИЧ	

Причины замены АРВТ

	смена схемы АРВТ 1	смена схемы АРВТ 2	смена схемы АРВТ 3
Вирусологическая			
Иммунологическая			
Клиническая			
заменялись препараты из-за непереносимости			
Для оптимизации терапии			
Отсутствие препаратов			
Другая (указать какая)			

	дата	Нет
Отмена препаратов		
Из них из-за отказа пациента		
возобновляли лечение после перерыва		

Диагноз**Стадии ВИЧ-инфекции**

	дата	
1		
2		
3		
4А прогрессирование		
4А ремиссия		
4Б прогрессирование		
4Б ремиссия		
4В прогрессирование		
4В ремиссия		
5		

Вторичные и сопутствующие заболевания в анамнезе

Хронические заболевания полости рта (указать какие)	
Хронические заболевания ЛОР-органов (указать какие)	
Пневмоцистная пневмония (ПЦП)	
Токсоплазмоз головного мозга	
Проявления ЦМВ-инфекции (указать какие)	
Проявления ВЭБ-инфекции (указать какие)	
Кандидоз	
Туберкулез	
Атипичный микобактериоз (МАС)	
Простой герпес	
Опоясывающий герпес (герпес зостер)	
Пневмонии бактериальной этиологии	
Воспалительный синдром восстановления иммунитета (ВСВИ)	
Хронический гепатит С	
Хронический гепатит В	
Другие (указать какие)	