

Д.Г. Живиця

**СИРОВАТКОВИЙ РІВЕНЬ ІЛ-10 ТА ІЛ-17 У ХВОРИХ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ З ТЯЖКОЮ ІМУНОСУПРЕСІЄЮ**

Запорізька медична академія післядипломної освіти

*У дослідженні проаналізовані зміни сироваткових рівнів ІЛ-17 та ІЛ-10 у хворих на ВІЛ-інфекцію залежно від ступеня імуносупресії і проведення високоактивної антиретровірусної терапії. Обстежено 70 хворих на ВІЛ-інфекцію. Серед досліджуваних хворих 44 пацієнти отримували ВААРТ.*

*Сироватковий вміст ІЛ-10 підвищувався на всіх стадіях ВІЛ-інфекції незалежно від ступеня імуносупресії. У хворих на ВІЛ-інфекцію зі значним ступенем імунодефіциту ( $CD4 < 200$ ) відмічалось підвищення вмісту ІЛ-17. На фоні ВААРТ має місце нормалізація вмісту ІЛ-17, а сироватковий вміст ІЛ-10 залишається підвищеним лише у пацієнтів з тяжкою імуносупресією.*

**Ключові слова:** ВІЛ-інфекція, ІЛ-17, ІЛ-10, ВААРТ,  $CD4$ -лімфоцит.

Щодня в Україні реєструються тисячі нових випадків зараження ВІЛ-інфекцією, реальне поширення хвороби в країні набагато більше за офіційні дані [1]. За останні 5 років кількість випадків ВІЛ-інфікування в Україні зросла в 20 разів [2, 3]. Добре відомо, що зниження числа  $CD4$ -лімфоцитів при ВІЛ-інфекції підвищує ризик опортуністичних інфекцій, злоякісних новоутворень і інших захворювань, віднесених до діагностичних критеріїв СНІДу [4].

В імунопатогенезі ВІЛ-інфекції різні цитокіни відіграють неоднозначну роль: як позитивну в плані її стримування, так і негативну внаслідок посилення реплікації вірусу і порушення регуляції імунітету [5].

Субпопуляція Т-хелперів 17 (Тх17) є найважливішою і найбільшою субпопуляцією  $CD4$ -лімфоцитів. Вони відіграють ключову роль у боротьбі проти мікробної транслокації, стимулюють проліферацію епітеліальних клітин, продукцію антибактерійних дефензимів і рекрутинг нейтрофілів для елімінації бактерій і їх продуктів [6].

Основний ефекторний цитокін Тх17 – це інтерлейкін 17 (ІЛ-17). Цей цитокін стимулює запальну реакцію, активує рекрутинг нейтрофілів, а також діє на макрофаги, підвищує їх активність і виживання.

Крім того, ІЛ-17 відіграє значну роль у продукції і секреції антимікробних пептидів й інших прозапальних цитокінів [7].

Протизапальний цитокін ІЛ-10, основними продуцентами якого є регуляторні Т-хелпери (Тreg), відіграє дві регулюючі ролі у вродженому і адаптивному імунітеті. Він пригнічує підвищену активність макрофагів і дендритних клітин, викликає проліферацію цитотоксичних Т-лімфоцитів, активізує 13 типів клітин. Важливим ефектом ІЛ-10 є здатність пригнічувати активність прозапальних цитокінів, таких як ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-17 [8].

Метою нашого дослідження була оцінка змін сироваткових рівнів ІЛ-17 та ІЛ-10 у хворих на ВІЛ-інфекцію залежно від ступеня імуносупресії і проведення високоактивної антиретровірусної терапії.

**Пацієнти і методи**

Під спостереженням знаходилось 70 хворих на ВІЛ-інфекцію, які перебували на обліку в Запорізькому обласному СНІД-центрі. Середній вік хворих склав 34 роки (від 23 до 47). Жінок було 30, чоловіків – 40. У 25 пацієнтів діагностовано I-II клінічну стадію ВІЛ-інфекції, у 22 – III клінічну стадію, у 23 – IV клінічну стадію (відповідно до класифікації ВООЗ, 2006). Середній строк перебування на диспансерному обліку з моменту виявлення ВІЛ-інфекції склав 5 років (від 1 до 10 років). Серед досліджуваних хворих 44 пацієнти отримували ВААРТ протягом 1-5 років.

Залежно від ступеня імунодефіциту (за рівнем  $CD4$ -лімфоцитів) і наявності чи відсутності ВААРТ хворі були розподілені на чотири групи: 1 група – 28 пацієнтів з рівнем  $CD4$ -лімфоцитів  $>200$  мкл<sup>-1</sup>, які отримували ВААРТ; 2 група – 15 пацієнтів з рівнем  $CD4$ -лімфоцитів  $<200$  мкл<sup>-1</sup>, які отримували ВААРТ; 3 група – 15 пацієнтів з рівнем  $CD4$ -лімфоцитів  $>200$  мкл<sup>-1</sup>, які не отримували ВААРТ; 4 група – 10 пацієнтів з рівнем  $CD4$ -лімфоцитів  $<200$  мкл<sup>-1</sup>, які не отримували ВААРТ.

Кількість  $CD4$ -лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл на проточному цитофлуориметрі COULTER® EPICS® XL (Beckman Coulter, США).

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначення концентрації ІЛ-17 та ІЛ-10 у сироватці крові проводилося за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем Вектор-Бест (Росія). Кров одержували ранком, натще. Відразу проводилося центрифугування, сироватка заморожувалася при  $-40^{\circ}\text{C}$  і зберігалася до проведення аналізу. Кожна сироватка заморожувалася і розморожувалася тільки один раз. Строк зберігання не перевищував 2 місяців.

Контрольну групу склали 11 ВІЛ-негативних практично здорових осіб віком 25-45 років.

Статистична обробка отриманих даних проводилася з використанням програмного забезпечення STATISTICA 6.0 (STATSOFT). Дані представлені у вигляді Ме (IQR),

де Ме – медіана, IQR – інтерквартильний розмах. При порівнянні декількох незалежних груп використовували дисперсійний аналіз Краскела-Уоліса. Для порівняння двох незалежних груп використовували U критерій Мана-Уїтні. Розходження вважали статистично значимими при  $p < 0,05$ . Для проведення кореляційного аналізу використовували ранговий метод Спірмена.

### Результати досліджень та їх обговорення

Зміни сироваткового рівня ІЛ-10 і ІЛ-17 у хворих на ВІЛ-інфекцію залежно від ступеня імуносупресії і проведення ВААРТ представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Вміст ІЛ-17 та ІЛ-10 у хворих з різною кількістю CD4-лімфоцитів залежно від проведення ВААРТ

Показник	Контрольна група (n=10)	ВААРТ		без ВААРТ		p, Краскела-Уоліса
		CD4>200 (n=28)	CD4<200 (n=15)	CD4>200 (n=15)	CD4<200 (n=10)	
ІЛ-10 (пг/мл)	0,1 (0-0,8)	0,1 (0-0,9)	1,75 (0-5,56)*	5,98 (1,04-12,6)*	6,7 (4,7-10,0)*	<0,01
ІЛ-17 (пг/мл)	0,47 (0,1-1,4)	0,1 (0-0,9)	0,28 (0-1,42)	0,1 (0-1,7)	1,2 (0,7-3,0)*	0,021

Примітка: \* – значиме розходження з контрольною групою за критерієм Мана-Уїтні ( $P < 0,05$ )

Показники сироваткового рівня ІЛ-10 значимо підвищувалися у хворих з ВІЛ-інфекцією без ВААРТ, в середньому в 60 разів порівняно з контрольною групою, але не відрізнялися у хворих з різною кількістю CD4-лімфоцитів. Вміст ІЛ-17 був значимо підвищений (в 2 рази) в групі хворих на ВІЛ-інфекцію з тяжкою імуносупресією (кількість CD4-лімфоцитів менше  $200 \text{ мкл}^{-1}$ ), які не отримували ВААРТ. У пацієнтів з кількістю CD4-лімфоцитів більше  $199 \text{ мкл}^{-1}$  концентрація ІЛ-17 не відрізнялася від контрольної групи.

При проведенні кореляційного аналізу між показниками клітинної ланки імунітету і вмістом цитокінів у сироватці крові хворих з ВІЛ-інфекцією була виявлена значима зворотна кореляція середньої сили ( $R = -0,49$ ;  $p < 0,05$ ) між вмістом ІЛ-17 і кількістю CD4-лімфоцитів.

У хворих на ВІЛ-інфекцію, які отримували ВААРТ, незалежно від ступеня імуносупресії вміст сироваткового ІЛ-17 не відрізнявся від контрольної групи, в тому числі і при кількості CD4-лімфоцитів менше  $200 \text{ мкл}^{-1}$ . Сироватковий рівень ІЛ-10 був значимо підвищений на фоні ВААРТ лише при тяжкій імуносупресії, але ступінь підвищення його була в чотири рази менше, ніж у хворих на ВІЛ-інфекцію, які ВААРТ не отримували (1,75 (0-5,56) пг/мл і 6,7 (4,7-10,0) пг/мл, відповідно).

Таким чином, нами зафіксований дисбаланс співвідношення сироваткових концентрацій ІЛ-10 та ІЛ-17 у хворих з ВІЛ-інфекцією. Зокрема, значне підвищення вмісту прозапального цитокіну ІЛ-17 відзначене у хворих з тяжким ступенем імуносупресії. Паралельно виявлене значиме підвищення сироваткового рівня протизапального цитокіну ІЛ-10, основними продуцентами якого є регуляторні Т-хелпери, на всіх стадіях ВІЛ-інфекції незалежно від ступеня імуносупресії.

Виявлено, що високоактивна антиретровірусна терапія має значний вплив на баланс сироваткових цитокінів ІЛ-17 та ІЛ-10. Зокрема, на фоні ВААРТ відбувається повна нормалізація вмісту прозапального цитокіну ІЛ-17, що свідчить про пригнічення системної імунної активації у цих хворих. Концентрація ІЛ-10 також нормалізується в більшості хворих на ВІЛ-інфекцію, і рівень цього цитокіну залишається підвищеним лише у пацієнтів з тяжкою імуносупресією.

Результати дослідження можна пояснити таким чином. У хворих на ВІЛ-інфекцію відмічається істотне зменшення субпопуляції Тх17, у тому числі у лімфоїдних тканинах, асоційованих зі слизовими оболонками (шлунково-кишкового тракту, дихальних шляхів). Саме тут Тх17 виконують дуже важливу функцію контролю локальної мікрофлори і пригнічення її

транслокації (з кишечника) у внутрішнє середовище організму. Провідну роль при цьому відіграє локальна секреція ІЛ-17, який також підтримує активну проліферацію гастроінтестинальних ентероцитів, що є активним захисним механізмом [9].

Пригнічення функції Тх17, за рахунок їх ушкодження ВІЛ, призводить до порушення цілісності епітелію слизових і транслокації мікроорганізмів та їх токсинів безпосередньо у кров з подальшим системним розповсюдженням. Як результат має місце системна імунна активація, яка призводить до вибуху реплікації ВІЛ у Т-хелперах з подальшим різким зниженням кількості CD4-лімфоцитів і прогресуванням захворювання. При цьому у хворих можуть розвиватися різні опортуністичні інфекції, зокрема бактерійні і грибові, при яких Тх17 відіграють важливу захисну роль. Відповідно має місце підвищення продукції низки цитокінів Тх17, зокрема ІЛ-17, вже не тільки локально на слизових оболонках, а також підвищується концентрація у сироватці крові.

Призначення ВААРТ призводить до пригнічення вірусної реплікації, підвищення кількості Т-хелперів, у тому числі Тх17, що відновлює їх функцію на слизових оболонках. Наслідком цього є зменшення транслокації мікрофлори та пригнічення системної імунної активації, що відображається у зниженні вмісту прозапальних цитокінів (у т.ч. ІЛ-17). Слідом за цим відбувається зниження активності протизапальних реакцій, що проявляється зниженням сироваткового вмісту ІЛ-10. Крім того, підвищений вміст ІЛ-17 і ІЛ-10 у сироватці крові хворих на ВІЛ-інфекцію може розглядатися як маркер системної імунної активації у пацієнтів з тяжкою імуносупресією. Розробка і застосування паралельно ВААРТ імунomodуляторів з блокадою або активацією секреції конкретних цитокінів може підвищити ефективність лікування пацієнтів на пізніх стадіях ВІЛ-інфекції.

### Висновки

1. У хворих на ВІЛ-інфекцію зі значним ступенем імунodefіциту (CD4-лімфоцити < 200 мкл<sup>-1</sup>), які не отримують високоактивну антиретровірусну терапію, відмічається підвищення вмісту ІЛ-17 у сироватці крові.

2. Сироватковий вміст ІЛ-10 підвищується на всіх стадіях ВІЛ-інфекції незалежно від ступеня імуносупресії.

3. На фоні ВААРТ відбувається повна нормалізація вмісту прозапального цитокіну ІЛ-17, сироватковий вміст ІЛ-10 також нормалізується в більшості хворих на ВІЛ-інфекцію, і рівень цього цитокіну залишається підвищеним лише у пацієнтів з тяжкою імуносупресією.

### Література

1. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2012. Stockholm: ECDC; 2013. – Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/hiv-aids-surveillance-report-2012-20131127.pdf>
2. United Nations Programme on HIV/AIDS. Global Report: UNAIDS report on the Global AIDS Epidemic 2012. – Geneva: UNAIDS, 2012.
3. ВІЛ-інфекція в Україні: Інформаційний бюлетень № 41. – К., 2014. – 95 с.
4. Бартлетт Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции / Дж. Бартлетт, Дж. Галант. П. Фал – М.: Р. Валент, 2012. – 528 с.
5. Catalfamo M. The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of HIV infection / M. Catalfamo, C. Le Saout, H.C. Lane // Cytokine Growth Factor Rev. – 2012. – Vol. 23, N 4-5. – P. 207-214.
6. Schwartz S. Interleukin-17 is a potent immuno-modulator and regulator of normal human intestinal epithelial cell growth / S. Schwartz, J.F. Beaulieu, F.M. Ruehmele // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – Vol. 337. – P. 505-509.
7. Crome S.Q. Translational Mini-Review Series on Th17 Cells: Function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease / S.Q. Crome, A.Y. Wang, M.K. Levings // J. Translat. Immunology. – 2009. – Vol. 159. – P. 109-119.
8. Trinchieri G. Interleukin-10 production by effector T cells: Th1 cells show self control / G. Trinchieri // J. Exp. Med. – 2007. – Vol. 204, N 2. – P. 239-243.
9. Brenchley J.M. Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections / J.M. Brenchley, M. Paiardini, K.S. Knox // Blood. – 2008. – Vol. 112. – P. 2826-2835.

### IL-10 AND IL-17 SERUM LEVEL IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH SEVERE IMMUNODEFICIENCY

D.H. Zhyvytsia

**SUMMARY.** We analyzed IL-17 and IL-10 serum levels in HIV-infected patients degree of immunodeficiency and treatment. We observed 70 patients with HIV infection. Among the patients studied 44 patients on antiretroviral therapy. HIV infection is marked increase in the concentration of IL-10 non dependent degree of immunodeficiency. In patients with severe immunodeficiency (CD4<200) serum level of IL-17 is increase. Finally, we found that highly active anti-retroviral therapy (HAART) induced a significant decrease in IL-10 levels but without normalization at severe immunodeficiency (CD4<200) and full normalization IL-17 level.

**Key words:** HIV-infection, IL-17, IL-10, HAART, CD4-cell.

Отримано 21.09.2014 р.