

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ВИЧ- ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ДИСКОРДАНТНЫМ ОТВЕТОМ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Королевская Л.Б.¹, Сайдакова Е.В.¹, Шмагель Н.Г.², Шмагель К.В.¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

² Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Пермь, Россия

Резюме. Дискордантный ответ на антиретровирусную терапию у ВИЧ-инфицированных пациентов характеризуется неэффективным восстановлением численности CD4⁺Т-лимфоцитов. Роль регуляторных Т-клеток в развитии дискордантного ответа на лечение остается малопонятной как из-за отсутствия специфических и надежных маркеров регуляторных Т-клеток, так и из-за неоднородности их популяции. В настоящей работе нами были обследованы ВИЧ-инфицированные пациенты с подавленной на фоне антиретровирусной терапии репликацией вируса (уровень ВИЧ менее 50 копий в мл крови), ответивших (n = 22) и не ответивших (n = 19) приростом численности CD4⁺Т-лимфоцитов на фоне более чем двухлетнего приема вирусологически эффективной терапии. Контрольную группу обследованных составили неинфицированные добровольцы (n = 23). Субпопуляционный состав CD4⁺Т-лимфоцитов и регуляторных Т-клеток был исследован методом многоцветной проточной цитометрии. Было установлено, что у инфицированных ВИЧ больных с неэффективным восстановлением иммунитета на фоне проводимого лечения по сравнению с ВИЧ-позитивными субъектами, дающими стандартный ответ на антиретровирусную терапию, абсолютное число CD4⁺Т-лимфоцитов, так же как и входящих в их состав регуляторных Т-клеток, было снижено во всех субпопуляциях различной степени зрелости: наивных клетках, лимфоцитах центральной памяти, клетках эффекторной памяти и терминально дифференцированных эффекторах. Это отличало их от пациентов, дающих эффективный ответ на лечение, у которых дефицит регуляторных Т-лимфоцитов был выявлен только среди наивных клеток и клеток центральной памяти. Важно отметить, что у зараженных ВИЧ больных с дискордантным ответом на терапию процентное содержание регуляторных Т-клеток эффекторной памяти — лимфоцитов, обладающих наибольшей супрессорной активностью — было существенно повышено по сравнению с таковым в остальных субпопуляциях CD4⁺Т-лимфоцитов. По-видимому, несмотря на дефицит регуляторных Т-лимфоцитов, размер пула этих клеток у больных с дискордантным ответом на лечение является достаточным для контроля над активацией CD4⁺Т-лимфоцитов. В то же время численности регуляторных Т-клеток может не хватать для подавления избыточной активации иммунокомпетентных клеток, не относящихся к популяции CD4⁺Т-лимфоцитов. Этим можно

Адрес для переписки:

Королевская Лариса Борисовна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-83-34.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Address for correspondence:

Korolevskaya Larisa B.
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural
Branch, Russian Academy of Sciences
614081, Russian Federation, Perm, Golev str., 13.
Phone: 7 (342) 280-83-34.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Образец цитирования:

Л.Б. Королевская, Е.В. Сайдакова, Н.Г. Шмагель, К.В. Шмагель «Субпопуляционный состав регуляторных Т-клеток периферической крови у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 2. С. 281–290.
doi: 10.15789/1563-0625-RTC-1770

© Королевская Л.Б. и соавт., 2020

For citation:

L.B. Korolevskaya, E.V. Saidakova, N.G. Shmagel, K.V. Shmagel “Regulatory T cell subsets in peripheral blood of HIV-infected patients with discordant response to antiretroviral therapy”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2020, Vol. 22, no. 2, pp. 281–290.
doi: 10.15789/1563-0625-RTC-1770

DOI: 10.15789/1563-0625-RTC-1770

частично объяснить повышенный уровень иммунной активации у больных с дискордантным ответом на терапию по сравнению с таковым у лиц, стандартно отвечающих на лечение.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, антиретровирусная терапия, дискордантный ответ, регуляторные Т-лимфоциты, наивные Т-клетки, Т-клетки центральной памяти, Т-клетки эффекторной памяти

REGULATORY T CELL SUBSETS IN PERIPHERAL BLOOD OF HIV-INFECTED PATIENTS WITH DISCORDANT RESPONSE TO ANTIRETROVIRAL THERAPY

Korolevskaya L.B.^a, Saidakova E.V.^a, Shmagel N.G.^b, Shmagel K.V.^a

^a Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

^b Perm Regional Center for Protection against AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation

Abstract. The discordant immunologic response to antiretroviral therapy in HIV-infected patients is characterized by ineffective recovery of CD4⁺T cell counts. The role of regulatory T cells in discordant response to the treatment remains poorly understood both due to the lack of specific and reliable markers of regulatory T cells and their subset's heterogeneity. In the present work, we studied two groups of HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy for more than two years and thus having their viral load suppressed (less than 50 copies of HIV per ml of blood): those who responded (n = 22) and did not respond (n = 19) to the treatment with an increase in their CD4⁺T cell counts. The control group consisted of uninfected volunteers (n = 23). The CD4⁺T lymphocyte subset composition was examined by flow cytometry. It was shown that in HIV-infected patients with ineffective immune recovery compared with subjects having a standard response to antiretroviral therapy, the absolute counts of regulatory T cells, as well as CD4⁺T lymphocytes, was reduced in all maturational subsets: naïve cells, central memory, effector memory, and terminally differentiated effectors. That differed immunological nonresponders from patients with a standard response to the treatment, which had a shortage only in naïve and central memory regulatory T cell subsets. It is important to note that in HIV-infected patients with a discordant response to therapy, the proportion of effector memory regulatory T cells, that possess the most prominent suppressive capacity, was significantly increased compared with that in other CD4⁺T lymphocyte subsets. Apparently, despite of regulatory T cell deficiency, in HIV-infected patients with a discordant response to the treatment, the regulatory T cell pool size is big enough to control CD4⁺T lymphocyte activation. Nevertheless, the number of regulatory T cells may not be sufficient to suppress the over-activation of immunocompetent cells that are not in the CD4⁺T lymphocyte subset. This can partly explain the increased cell activation level in patients with a discordant response to therapy as compared with those who have a standard response to the treatment.

Keywords: HIV-infection, antiretroviral therapy, discordant immunological response, regulatory T cells, naïve T lymphocytes, central memory T cells, effector memory T cells

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 17-54-30006).

Введение

Инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) характеризуется прогрессивным опустошением пула CD4⁺T-лимфоцитов. Назначение антиретровирусной терапии (АРТ) приводит к подавлению репликации вируса и последующему увеличению численности CD4⁺T-лимфоцитов в крови больного (стандартный ответ на лечение) [3]. Вместе с тем у 20-30% ВИЧ-инфицированных пациентов развивается дискордантный ответ на АРТ, при ко-

тором, несмотря на эффективное подавление вирусной нагрузки, отмечается низкая способность к восстановлению числа периферических CD4⁺T-клеток [10, 17]. При этом у пациентов с дискордантным ответом на АРТ по сравнению с больными, стандартно отвечающими на лечение, дефицит CD4⁺T-лимфоцитов более выражен [14].

Регуляторные Т-клетки (Treg) представляют собой субпопуляцию CD4⁺T-лимфоцитов. Они выполняют важную функцию поддержания ауто-толерантности и иммунного гомеостаза [25, 30]. Однако их роль при ВИЧ-инфекции и особенно при развитии дискордантного ответа на терапию остается малопонятной. Большинство исследо-

ваний построено на оценке корреляционных связей между относительным или абсолютным числом Treg в крови пациентов и общепринятыми для характеристики заболевания параметрами: числом CD4⁺T-лимфоцитов, уровнем вирусной нагрузки, показателями активации клеток [8, 13, 15, 20]. При этом представленные разными авторами данные крайне противоречивы, что может быть связано как с неоднородностью популяции Treg, так и с отсутствием надежных и специфичных маркеров для их идентификации [16, 25].

Существуют две большие популяции Treg – тимические и периферические клетки [21]. Важным их отличием является экспрессия изоформ поверхностной молекулы CD45. Почти все тимические Treg несут фенотип наивных клеток (CD45RA⁺), а популяция периферических Treg – клеток памяти (CD45RO⁺) [25]. Известно, что мишенью ВИЧ являются не все субпопуляции CD4⁺T-лимфоцитов: вирус избирательно инфицирует T-клетки эффекторной памяти [6, 11]. Регуляторные T-клетки входят в состав пула CD4⁺T-лимфоцитов и, следовательно, могут быть заражены ВИЧ [19]. Кроме того, они могут разделять фенотипические характеристики субпопуляций конвенциональных CD4⁺T-лимфоцитов. Исходя из этого, оценка субпопуляционного состава Treg представляет собой несомненный интерес. Следует отметить, что среди пациентов с дискордантным ответом на лечение такие исследования ранее не проводились.

Целью настоящей работы была оценка субпопуляционного состава регуляторных T-клеток у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на лечение.

Материалы и методы

План и проведение работы были одобрены этическим комитетом Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (рег. № комитета IRB00008964). Каждый участник исследования подписал информированное согласие. Были обследованы ВИЧ-инфицированные пациенты (n = 41) и неинфицированные, относительно здоровые добровольцы (n = 23). Все ВИЧ-зараженные больные до начала лечения имели уровень CD4⁺T-клеток в крови менее 200 мкл⁻¹ и находились на АРТ более двух лет. Исходя из эффективности ответа на лечение, пациенты были разделены на две группы: 1) субъекты с числом периферических CD4⁺T-лимфоцитов более 350 мкл⁻¹ (стандартный ответ на терапию, n = 22) и 2) больные с количеством CD4⁺T-клеток крови менее 350 мкл⁻¹ (дискордантный ответ на лечение, n = 19).

Забор венозной крови проводили натощак в пробирки, покрытые ЭДТА. Плазму крови от-

деляли от форменных элементов центрифугированием. Вирусную нагрузку ВИЧ определяли посредством разветвленной ДНК-гибридизации набором “Versant HIV-1 RNA 3,0 assay b” на анализаторе Versant 440 (Siemens, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Численность CD4⁺T-лимфоцитов в периферической крови оценивали с использованием коммерческого набора Immunocytometry Systems (BDIS) Simultest™ (Becton Dickinson, США) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Мононуклеарные клетки выделяли путем центрифугирования двукратно разведенной фосфатно-солевым буферным раствором Дульбекко (DPBS, Gibco, США) периферической крови в градиенте плотности Диаколл (1,077 г/мл, Диаэм, Россия). Выделенные клетки собирали, дважды отмывали раствором DPBS, подсчитывали в камере Горяева, после чего подвергали контролируемому замораживанию в жидком азоте в среде, содержащей 90% термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, Южная Америка) и 10% диметилсульфоксида (AppliChem, Германия) до момента использования. Перед проведением иммунофенотипирования клетки размораживали. Подсчет жизнеспособных клеток (окраска трипановым синим) проводили на приборе Vi-CELL XR Cell Counter (Beckman Coulter, США) с использованием программного обеспечения Vi-CELL XR 2.04 (Beckman Coulter, США).

Идентификацию субпопуляций T-лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре Fortessa (Becton Dickinson, США) с использованием моноклональных антител, специфичных к поверхностным молекулам CD3-AF700, CD25-BUV395, CD127-BV786, CCR7-PE-Cy7 (Becton Dickinson, США), CD45RA-BV650 (Biolegend, США), CD4-Qdot605, внутриклеточной молекуле FOXP3-PE (eBioscience™, США) и витального красителя LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain Kit (Invitrogen, США). Среди CD4⁺T-лимфоцитов выявляли наивные клетки (CD45RA⁺CCR7⁺), клетки центральной (CD45RA⁻CCR7⁺) и эффекторной (CD45RA⁻CCR7⁻) памяти и терминально-дифференцированные эффекторы (CD45RA⁺CCR7⁻). В каждой субпопуляции определяли регуляторные T-клетки, к которым относили лимфоциты с фенотипом CD25⁺CD127^{low}FoxP3⁺. Рассчитывали относительные и абсолютные величины.

Полученные данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов (25-й и 75-й процентиля) либо средних величин и их ошибки. Достоверность различий определяли на основе критерия U Манна–Уитни и t-критерия Стьюдента.

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ СУБЪЕКТОВ

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE EXAMINED SUBJECTS

Характеристики Characteristics	ВИЧ-инфицированные пациенты HIV infected patients		Здоровые добровольцы Healthy controls 3
	Стандартный ответ на АРТ Standard response to ART 1	Дискордантный ответ на АРТ Discordant response to ART 2	
Число обследованных Number examined subjects	22	19	23
Возраст (годы) Age (years)	37,5 (32,8-42,0)*	39 (34-42)	32 (28-39)
Мужчины, абс. число (%) Men, abs. count (%)	10 (45)	9 (47)	8 (35)
Характеристика ВИЧ-инфекции HIV infection characteristics			
Половой путь передачи ВИЧ, абс. число (%) Sexual HIV transmission route, abs. count (%)	21 (95)	19 (100)	–
Длительность инфекции (годы) Infection duration (years)	9 (6-13)	6 (4-13)	–
Продолжительность АРТ (годы) ART duration (years)	5,1 (3,3-6,9)	4,3 (2,2-8,2)	–
Уровень ВИЧ в крови (копии/мл) HIV viral load (copies/ μ l)	< 50**	< 50	–
Численность CD4 ⁺ Т-клеток до АРТ (мкл ⁻¹) CD4 ⁺ T cells before ART (μ l ⁻¹)	160 (80-193) $p_{1-2} < 0,01$	66 (30-150)	–
Численность CD4 ⁺ Т-клеток на момент исследования (мкл ⁻¹) CD4 ⁺ T cells at the study (μ l ⁻¹)	532 (424-652) $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$	268 (207-298) $p_{2-3} < 0,001$	885 (772-1262)

Примечание. ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; АРТ – антиретровирусная терапия. * – указаны медианы и интерквартильные размахи; статистические расчеты выполнены по методу Манна–Уитни; ** – предел чувствительности тест-системы.

Note. HIV, human immunodeficiency virus; ART, antiretroviral therapy. *, medians and interquartile ranges are shown; statistics was done by Mann–Whitney method; **, limit of detection.

Результаты

Субъекты всех обследованных групп не отличались между собой по возрасту и половому составу (табл. 1). Среди ВИЧ-инфицированных больных преобладал половой путь заражения вирусом. К моменту обследования пациенты со стандартным и дискордантным ответом на АРТ не различались по длительности инфекции и продолжительности лечения. Концентрация ВИЧ в крови пациентов составила менее 50 копий/мл (предел чувствительности тест-системы), что свидетельствовало о вирусологической эффек-

тивности АРТ. Абсолютное количество CD4⁺Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных субъектов обеих групп было существенно снижено по сравнению с соответствующим показателем здоровых добровольцев. Так как критерием разделения пациентов на группы была численность периферических CD4⁺Т-лимфоцитов, более глубокий дефицит этих клеток был установлен у лиц с дискордантным ответом на АРТ.

Оценка абсолютного числа CD4⁺Т-лимфоцитов среди наивных элементов, клеток центральной, эффекторной памяти и терминально-дифференцированных эффекторов показала

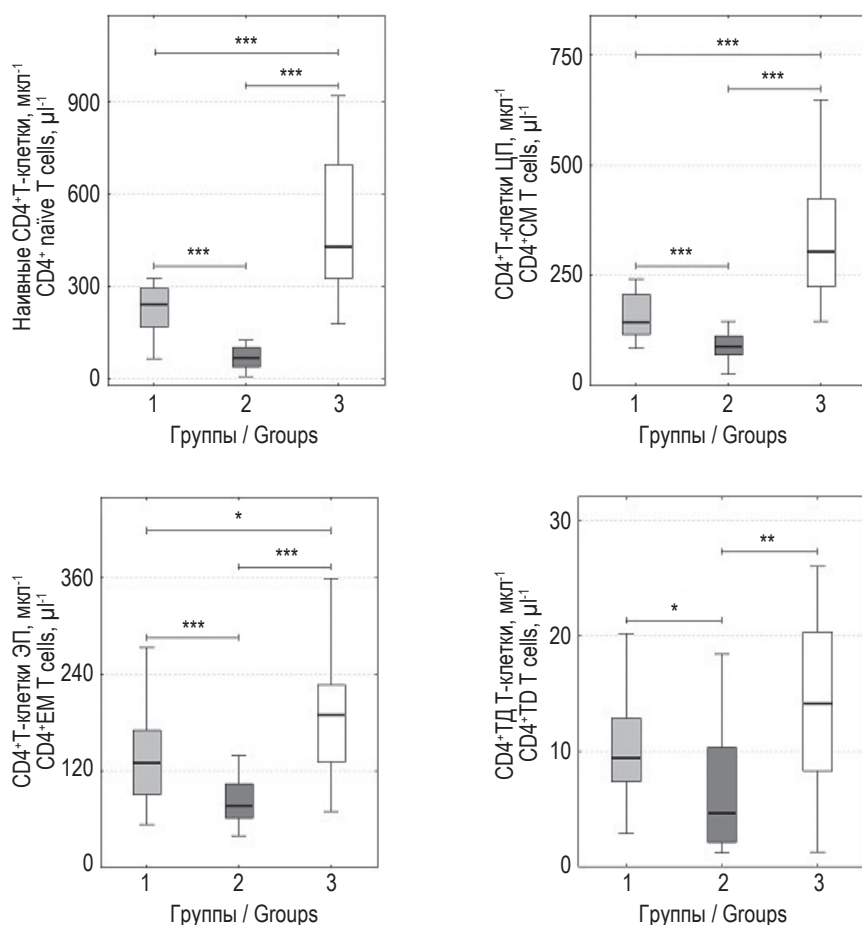


Рисунок 1. Субпопуляционный состав CD4⁺Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов и здоровых добровольцев

Примечание. Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные интервалы (прямоугольники) и 10-90% размахи (вертикальные отрезки) абсолютного количества клеток крови. Группы: 1 – ВИЧ-инфицированные пациенты со стандартным ответом на антиретровирусную терапию; 2 – ВИЧ-инфицированные больные с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию; 3 – здоровые доноры. Субпопуляции клеток: ЦП – центральной памяти; ЭП – эффectorной памяти; ТД – терминально-дифференцированные. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (тест Манна–Уитни).

Figure 1. CD4⁺T cell subsets in HIV infected patients and healthy controls

Note. Medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes), and 10-90% percentiles (whiskers) are shown. Groups: 1, HIV infected patients with standard response to antiretroviral therapy; 2, HIV infected patients with discordant response to antiretroviral therapy; 3, healthy controls. T cell subsets: CM, central memory; EM, effector memory; TD, terminally differentiated. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ (Mann–Whitney U-test).

следующее. У ВИЧ-инфицированных пациентов было установлено статистически значимое снижение численности клеток во всех субпопуляциях по сравнению с соответствующими показателями здоровых лиц (рис. 1). При этом у пациентов с дискордантным ответом на АРТ дефицит CD4⁺Т-клеток в каждой из субпопуляций был более выражен, чем в обеих группах сравнения.

При анализе численности Treg среди субпопуляций CD4⁺Т-лимфоцитов различной степени зрелости были получены следующие данные (рис. 2). У ВИЧ-инфицированных субъектов со стандартным ответом на АРТ и здоровых людей

статистически значимые различия были установлены только при сравнении абсолютного количества Treg, несущих фенотип наивных элементов и клеток центральной памяти. При этом у больных с неэффективным восстановлением иммунитета на фоне АРТ численность Treg во всех субпопуляциях клеток была статистически значимо снижена, как по сравнению со здоровыми добровольцами, так и пациентами со стандартным ответом на лечение. Таким образом, у пациентов с дискордантным ответом на терапию абсолютное число регуляторных Т-клеток, как и CD4⁺Т-лимфоцитов, понижено среди наивных

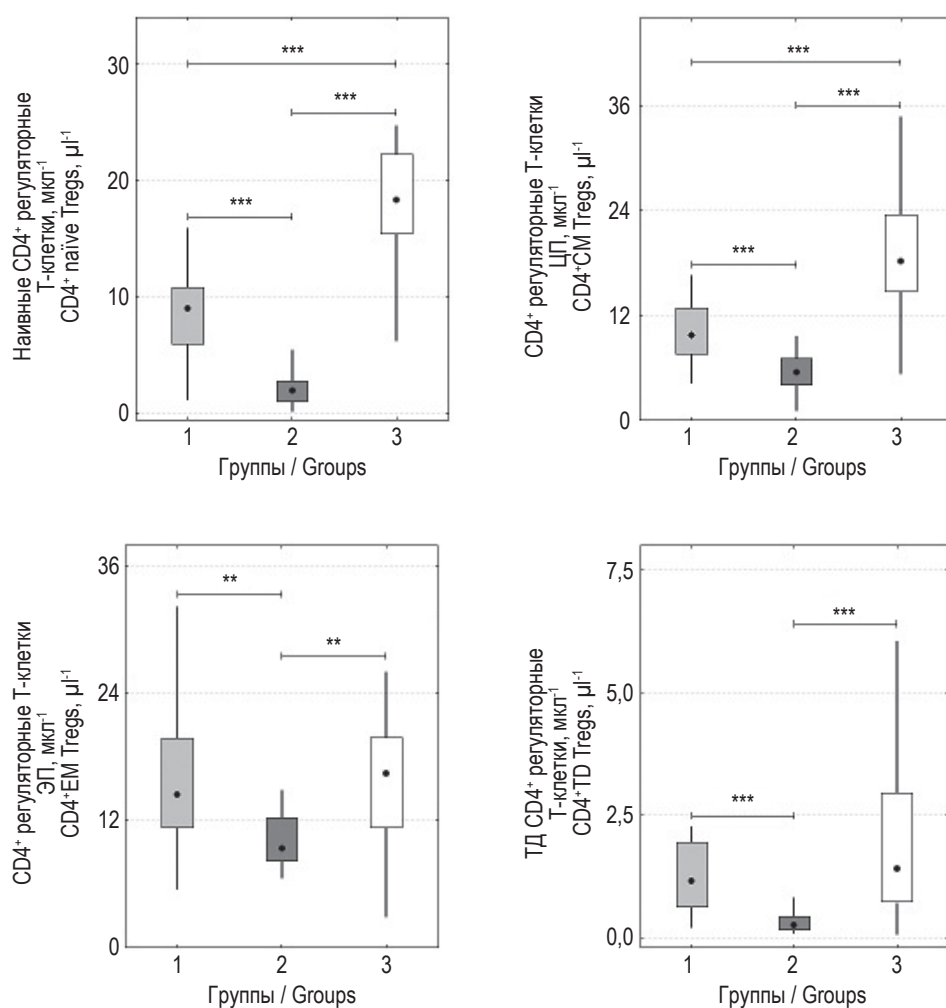


Рисунок 2. Субпопуляционный состав регуляторных Т-клеток у ВИЧ-инфицированных пациентов и здоровых добровольцев

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Regulatory CD4⁺T cell subsets in HIV infected patients and healthy controls

Note. As for Figure 1.

элементов, клеток памяти и терминально-дифференцированных эффекторов.

Изменение процентного содержания Treg среди CD4⁺T-клеток различной стадии дифференцировки было следующим (рис. 3). У здоровых добровольцев минимальная доля Treg была выявлена в субпопуляции наивных лимфоцитов. В процессе созревания клеток относительное количество Treg в каждой последующей субпопуляции постепенно увеличивалось, достигая максимального значения среди терминально-дифференцированных элементов. У ВИЧ-инфицированных пациентов, так же как у здоровых людей, доля регуляторных клеток в субпопуляции наивных элементов оказалась наименьшей. Статистически значимые различия содержания Treg среди лимфоцитов данной субпопуляции были установле-

ны только при сравнении показателей в группах больных со стандартным ответом на АРТ и здоровых лиц ($p < 0,05$). У зараженных субъектов, независимо от эффективности ответа на лечение, процент Treg значительно увеличивался среди CD4⁺T-клеток центральной памяти по сравнению с его уровнем среди наивных элементов. При этом у больных обеих клинических групп относительное количество Treg в субпопуляции лимфоцитов центральной памяти было сопоставимо с соответствующим значением, выявленным у здоровых добровольцев ($p > 0,05$).

Основные различия между субъектами обследованных групп были установлены на уровне клеток эффекторной памяти: при ВИЧ-инфекции в данной субпопуляции CD4⁺T-лимфоцитов существенно возрастает доля регуляторных клеток.

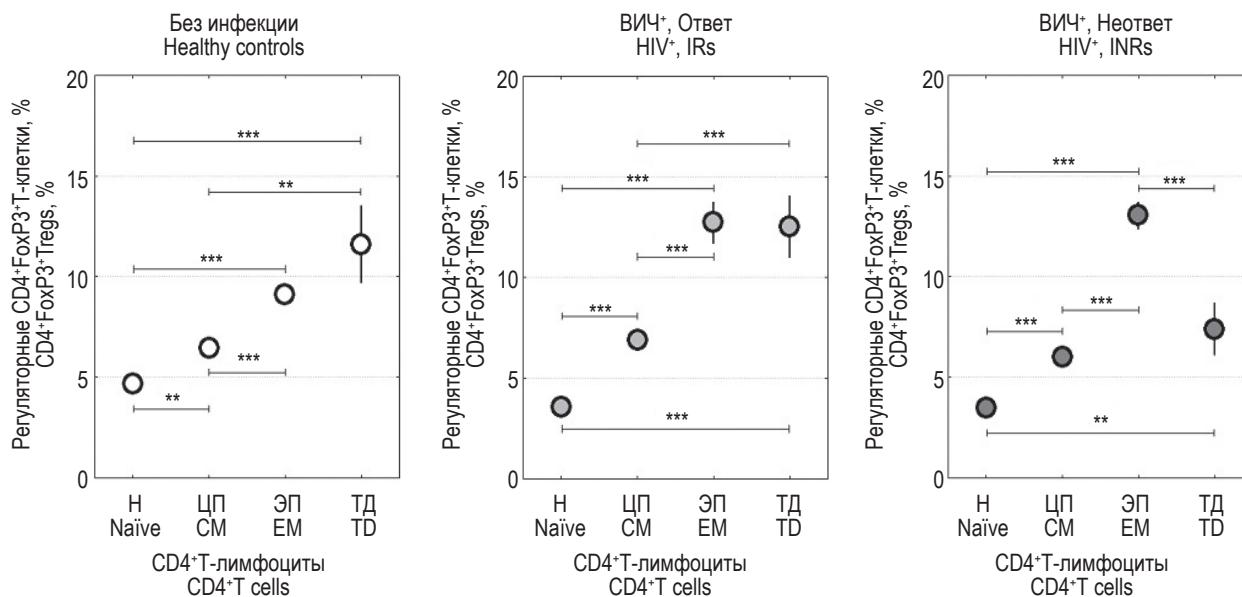


Рисунок 3. Доля регуляторных клеток в субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов

Примечание. Представлены средние величины (кружки) и их ошибки (вертикальные отрезки). Группы: Без инфекции – здоровые добровольцы; ВИЧ⁺, Ответ – ВИЧ-инфицированные пациенты со стандартным ответом на антиретровирусную терапию; ВИЧ⁺, Неответ – ВИЧ-инфицированные больные с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию. Субпопуляции клеток: Н – наивные; ЦП – центральной памяти; ЭП – эффекторной памяти; ТД – терминально-дифференцированные. **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$ (t-критерий Стьюдента).

Figure 3. Regulatory T cell frequencies in CD4⁺T lymphocyte subsets

Note. Means (circles) and standard errors (whiskers) are shown. Groups: HIV⁺, IRs, HIV infected patients with standard response to antiretroviral therapy; HIV⁺, INRs, HIV infected patients with discordant response to antiretroviral therapy. T cell subsets: Tregs, regulatory T cells; CM, central memory; EM, effector memory; TD, terminally differentiated. **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$ (Student's t-test).

Так, у больных со стандартным ответом на лечение относительное количество Treg среди CD4⁺T-клеток эффекторной памяти существенно превышало соответствующий показатель здоровых добровольцев ($p < 0,01$). При этом у пациентов с дискордантным ответом на АРТ содержание Treg эффекторной памяти было сопоставимо с таковым, выявленным у субъектов, стандартно отвечающих на лечение ($p > 0,05$), но статистически значимо превышало их уровень, установленный в группе здоровых лиц ($p < 0,001$). Более того, у ВИЧ-позитивных больных, независимо от эффективности ответа на АРТ, доля Treg среди T-клеток эффекторной памяти была сопоставима с таковой, обнаруженной у здоровых добровольцев среди терминально-дифференцированных элементов. Следует также отметить, что только у пациентов с дискордантным ответом на АРТ относительное число Treg в субпопуляции терминально-дифференцированных лимфоцитов существенно снижалось по сравнению с их уровнем среди клеток эффекторной памяти ($p < 0,001$). Более того, если у здоровых людей доля терминально-дифференцированных Treg повышалась относительно их количества среди клеток эффекторной памяти, то у больных, стан-

дартно отвечающих на лечение, относительное содержание Treg в обеих субпопуляциях почти не менялось. Вместе с тем при сравнении доли Treg среди терминально-дифференцированных элементов статистически значимые различия были выявлены только между показателями в группах ВИЧ-зараженных пациентов ($p < 0,02$). Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что при ВИЧ-инфекции среди CD4⁺T-лимфоцитов эффекторной памяти существенно повышена доля регуляторных T-клеток, а наличие дискордантного ответа на АРТ сопровождается значительным снижением их относительного количества в субпопуляции терминально-дифференцированных эффекторов.

Обсуждение

Роль регуляторных T-клеток при ВИЧ-инфекции и особенно при дискордантном ответе на лечение остается малопонятной. Ряд исследователей связывает низкие темпы восстановления численности CD4⁺T-лимфоцитов на фоне проводимой АРТ с уровнем Treg в крови пациентов [12, 20, 24]. Однако данные работы построены на оценке связей между показателями дискор-

дантного ответа на терапию и числом клеток с фенотипическими признаками Treg. Вместе с тем представленные на сегодняшний день данные литературы показывают, что популяция регуляторных клеток крайне неоднородна [16, 21]. Основным источником Treg является тимус, где под влиянием аутоантигенов формируется функционально зрелая популяция клеток. После выхода из тимуса Treg мигрируют на периферию, где осуществляют контроль за аутоиммунными реакциями [4, 21, 26]. Регуляторные клетки могут быть также генерированы за пределами тимуса из наивных предшественников, стимулированных чужеродными антигенами [21, 25, 29]. Популяция периферических Treg обеспечивает толерантность во взаимоотношениях «мать – плод» и, обладая выраженными супрессорными свойствами, играет важную роль в контроле над иммунной активацией и воспалением [7, 8]. Как и конвенциональные CD4⁺T-лимфоциты, Treg можно разделить по фенотипическим признакам на функционально отличные субпопуляции – покоящиеся, активированные, наивные элементы, клетки памяти [5, 18].

В настоящей работе мы показали, что у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на АРТ по сравнению с субъектами, стандартно отвечающими на лечение, абсолютное число Treg, так же как и CD4⁺T-лимфоцитов, было снижено во всех субпопуляциях различной степени зрелости: наивных клеток, клеток центральной, эффекторной памяти и терминально-дифференцированных эффекторов. Вместе с тем доля Treg эффекторной памяти была существенно повышена по сравнению с таковой в остальных субпопуляциях CD4⁺T-лимфоцитов.

Увеличение доли Treg среди CD4⁺T-клеток может быть связано с более высокой их жизнеспособностью по сравнению с конвенциональными CD4⁺T-лимфоцитами [9]. Кроме того, повышенный запрос на Treg эффекторной памяти – ос-

новные клетки с выраженными супрессорными свойствами [22] – обусловлен, по-видимому, необходимостью постоянного контроля над персистирующей иммунной активацией, отмечаемой у ВИЧ-инфицированных больных [2]. Следует отметить, что результативность проявления супрессорных свойств Treg в значительной мере зависит от их соотношения с «отвечающими» клетками-мишенями [1]. Исходя из этого, именно относительное количество Treg будет иметь значение при подавлении активации CD4⁺T-клеток, абсолютное число которых существенно сокращается при ВИЧ-инфекции. Подтверждением этому может быть наличие у ВИЧ-инфицированных лиц, как правило, более высокого уровня активации CD8⁺T-лимфоцитов, чем CD4⁺T-клеток [14].

Необходимо отметить, что Treg проявляют супрессивную активность не только в отношении CD4⁺T-клеток, но в том числе и среди CD8⁺T-лимфоцитов и клеток врожденного иммунитета [23, 28]. Важным является то, что размер популяций названных выше клеток значительно превосходит численность самих регуляторных T-лимфоцитов. Следовательно, уменьшение абсолютного количества Treg предполагает снижение способности подавления клеток-мишеней других популяций. Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что при ВИЧ-инфекции размер пула регуляторных T-клеток, по-видимому, является достаточным для контроля над активацией CD4⁺T-лимфоцитов, но в то же время его может не хватать для сдерживания избыточной активации иммунокомпетентных клеток, не относящихся к популяции CD4⁺T-лимфоцитов. Этим частично можно объяснить повышенный уровень активации CD8⁺T-лимфоцитов и клеток врожденного иммунитета у больных с дискордантным ответом на АРТ по сравнению с таковым у лиц, стандартно отвечающих на лечение [14, 27].

Список литературы / References

1. Angin M., Kwon D. S., Streeck H., Wen F., King M., Rezai A., Law K., Hongo T.C., Pyo A., Piechocka-Trocha A., Toth I., Pereyra F., Ghebremichael M., Rodig S.J., Milner D.A. Jr., Richter J.M., Altfeld M., Kaufmann D.E., Walker B.D., Addo M.M. Preserved function of regulatory T cells in chronic HIV-1 infection despite decreased numbers in blood and tissue. *J. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 205, no. 10, pp. 1495-1500.
2. Appay V., Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J. Pathol.*, 2008, Vol. 214, no. 2, pp. 231-241.
3. Autran B., Carcelain G., Li T.S., Gorochov G., Blanc C., Renaud M., Durali M., Mathez D., Calvez V., Leibowitch J., Katlama C., Debre P. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy. *Immunol. Lett.*, 1999, Vol. 66, no. 1-3, pp. 207-211.
4. Baecher-Allan C., Hafler D.A. Human regulatory T cells and their role in autoimmune disease. *Immunol. Rev.*, 2006, Vol. 212, pp. 203-216.
5. Bi X., Suzuki Y., Gatanaga H., Oka S. High frequency and proliferation of CD4⁺ FOXP3⁺ Treg in HIV-1-infected patients with low CD4 counts. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 1, pp. 301-309.
6. Brenchley J.M., Price D.A., Douek D.C. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe? *Nat. Immunol.*, 2006, Vol. 7, no. 3, pp. 235-239.

7. Chevalier M.F., Weiss L. The split personality of regulatory T cells in HIV infection. *Blood*, 2013, Vol. 121, no. 1, pp. 29-37.
8. Eggena M.P., Barugahare B., Jones N., Okello M., Mutalya S., Kityo C., Mugenyi P., Cao H. Depletion of regulatory T cells in HIV infection is associated with immune activation. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 7, pp. 4407-4414.
9. Fritzsching B., Oberle N., Eberhardt N., Quick S., Haas J., Wildemann B., Krammer P.H., Suri-Payer E. Cutting edge: in contrast to effector T cells, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells are highly susceptible to CD95 ligand- but not to TCR-mediated cell death. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 175, no. 1, pp. 32-36.
10. Gaardbo J.C., Hartling H.J., Gerstoft J., Nielsen S.D. Incomplete immune recovery in HIV infection: mechanisms, relevance for clinical care, and possible solutions. *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, Vol. 2012, 670957. doi: 10.1155/2012/670957.
11. Grossman Z., Meier-Schellersheim M., Paul W.E., Picker L.J. Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. *Nat. Med.*, 2006, Vol. 12, no. 3, pp. 289-295.
12. Horta A., Nobrega C., Amorim-Machado P., Coutinho-Teixeira V., Barreira-Silva P., Boavida S., Costa P., Sarmiento-Castro R., Castro A.G., Correia-Neves M. Poor immune reconstitution in HIV-infected patients associates with high percentage of regulatory CD4⁺ T cells. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 2, e57336. doi: 10.1371/journal.pone.0057336.
13. Jiao Y., Fu J., Xing S., Fu B., Zhang Z., Shi M., Wang X., Zhang J., Jin L., Kang F., Wu H., Wang F.S. The decrease of regulatory T cells correlates with excessive activation and apoptosis of CD8⁺ T cells in HIV-1-infected typical progressors, but not in long-term non-progressors. *Immunology*, 2009, Vol. 128, no. 1 Suppl., pp. e366-e375.
14. Lederman M.M., Calabrese L., Funderburg N.T., Clagett B., Medvik K., Bonilla H., Gripshover B., Salata R.A., Taeye A., Lisgaris M., McComsey G.A., Kirchner E., Baum J., Shive C., Asaad R., Kalayjian R.C., Sieg S.F., Rodriguez B. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J. Infect. Dis.*, 2011, Vol. 204, no. 8, pp. 1217-1226.
15. Lim A., Tan D., Price P., Kamarulzaman A., Tan H.Y., James I., French M.A. Proportions of circulating T cells with a regulatory cell phenotype increase with HIV-associated immune activation and remain high on antiretroviral therapy. *AIDS*, 2007, Vol. 21, no. 12, pp. 1525-1534.
16. Liston A., Gray D.H. Homeostatic control of regulatory T cell diversity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014, Vol. 14, no. 3, pp. 154-165.
17. Massanella M., Negredo E., Clotet B., Blanco J. Immunodiscordant responses to HAART – mechanisms and consequences. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2013, Vol. 9, no. 11, pp. 1135-1149.
18. Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Parizot C., Taflin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochov G., Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity*, 2009, Vol. 30, no. 6, pp. 899-911.
19. Moreno-Fernandez M.E., Zapata W., Blackard J.T., Franchini G., Chougnet C.A. Human regulatory T cells are targets for human immunodeficiency virus (HIV) infection, and their susceptibility differs depending on the HIV type 1 strain. *J. Virol.*, 2009, Vol. 83, no. 24, pp. 12925-12933.
20. Piconi S., Trabattoni D., Gori A., Parisotto S., Magni C., Meraviglia P., Bandera A., Capetti A., Rizzardini G., Clerici M. Immune activation, apoptosis, and Treg activity are associated with persistently reduced CD4⁺ T-cell counts during antiretroviral therapy. *AIDS*, 2010, Vol. 24, no. 13, pp. 1991-2000.
21. Plitas G., Rudensky A.Y. Regulatory T cells: differentiation and function. *Cancer Immunol. Res.*, 2016, Vol. 4, no. 9, pp. 721-725.
22. Rosenblum M.D., Way S.S., Abbas A.K. Regulatory T cell memory. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 16, no. 2, pp. 90-101.
23. Rueda C.M., Jackson C.M., Chougnet C.A. Regulatory T-cell-mediated suppression of conventional T-cells and dendritic cells by different cAMP intracellular pathways. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 216. doi: 10.3389/fimmu.2016.00216.
24. Saison J., Ferry T., Demaret J., Maucourt Boulch D., Venet F., Perpoint T., Ader F., Icard V., Chidiac C., Monneret G., Lyon H.I.V. Cohort Study Association between discordant immunological response to highly active anti-retroviral therapy, regulatory T cell percentage, immune cell activation and very low-level viraemia in HIV-infected patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 2014, Vol. 176, no. 3, pp. 401-409.
25. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. FOXP3⁺ regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 7, pp. 490-500.
26. Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 2008, Vol. 133, no. 5, pp. 775-787.
27. Stiksrud B., Aass H.C.D., Lorvik K.B., Ueland T., Troseid M., Dyrhol-Riise A.M. Activated dendritic cells and monocytes in HIV immunological nonresponders: HIV-induced interferon-inducible protein-10 correlates with low future CD4⁺ recovery. *AIDS*, 2019, Vol. 33, no. 7, pp. 1117-1129.
28. Weiss L., Piketty C., Assoumou L., Didier C., Caccavelli L., Donkova-Petrini V., Levy Y., Girard P.M., Burgard M., Viard J.P., Rouzioux C., Costagliola D.; ANRS 116 SALTO study group. Relationship between regulatory

T cells and immune activation in human immunodeficiency virus-infected patients interrupting antiretroviral therapy. *PLoS ONE*, 2010, Vol. 5, no. 7, e11659. 10.1371/journal.pone.0011659.

29. Yadav M., Stephan S., Bluestone J.A. Peripherally induced tregs – role in immune homeostasis and autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 232. doi: 10.3389/fimmu.2013.00232.

30. Yamaguchi T., Wing J.B., Sakaguchi S. Two modes of immune suppression by Foxp3(+) regulatory T cells under inflammatory or non-inflammatory conditions. *Semin. Immunol.*, 2011, Vol. 23, no. 6, pp. 424-430.

Авторы:

Королевская Л.Б. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Сайдакова Е.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Шмагель Н.Г. — д.м.н., врач-иммунолог, Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Пермь, Россия

Шмагель К.В. — д.м.н., заведующий лабораторией экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Authors:

Korolevskaya L.B., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Saidakova E.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shmagel N.G., PhD, MD (Medicine), Clinical Immunologist, Perm Regional Center for Protection against AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation

Shmagel K.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Поступила 27.05.2019
Отправлена на доработку 13.09.2019
Принята к печати 09.01.2020

Received 27.05.2019
Revision received 13.09.2019
Accepted 09.01.2020