

УДК 616-097-022:578-06:616-002.5(571.63)

С.А. Сотниченко¹, Е.В. Маркелова², Л.Ф. Скляр²¹ Краевой клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД (690016 г. Владивосток, ул. Борисенко, 50),² Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ, СОЧЕТАННАЯ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ, В ПРИМОРСКОМ КРАЕ: ВЫЯВЛЕНИЕ, КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ, ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, туберкулез, цитокины.

Представлены результаты диспансерного наблюдения за 106 больными с сочетанием ВИЧ-инфекции и туберкулеза с учетом эпидемиологических, клинико-лабораторных данных, а также результаты иммунологических исследований на разных этапах заболевания. Установлен иммунодефицит Т-клеточного типа на всех стадиях ВИЧ-инфекции, зарегистрирована тесная отрицательная корреляционная связь между уровнем нагрузки ВИЧ и абсолютным содержанием Т-лимфоцитов (в т.ч. Т-хелперов) на IVB и V стадиях болезни. Отмечалось значительное увеличение уровня провоспалительных цитокинов. Гиперцитокинемия коррелировала с тяжестью персистирующей инфекции. По мере прогрессирования заболевания отмечен разнонаправленный характер динамики уровня иммуноглобулинов.

Распространение ВИЧ-инфекции привело к росту заболеваемости туберкулезом в большинстве стран мира, как экономически благополучных, так и слаборазвитых. Это связано с тем, что независимо от социального статуса и материальной обеспеченности, ВИЧ-инфекция приводит к нарушению функций иммунитета, что, в свою очередь, становится причиной заболевания туберкулезом [6, 9]. Как известно, туберкулез начинает активизироваться в условиях иммунодефицита, а элементарное недоедание и стресс способствуют его распространению [1, 2]. Значимость проблемы туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией для России связана с неблагоприятным прогнозом дальнейшего его распространения, что обусловлено высокой инфицированностью населения микобактериями туберкулеза и широким распространением ВИЧ-инфекции на отдельных территориях [3, 8]. Из 10929 зарегистрированных ВИЧ-инфицированных в Дальневосточном федеральном округе на 31.12.2008 г. на Приморский край пришелся 7801 случай (71,4%). Показатель пораженности составил 291,1 на 100 тыс. населения, что ниже среднего показателя по Российской Федерации (303,9 на 100 тыс. населения). Анализ выявляемости ВИЧ-инфекции среди населения края с 1989 по 2008 г. показал, что нарастание эпидемического процесса началось с 2000 г., когда было выявлено в 13 раз больше ВИЧ-инфицированных лиц, чем в 1999 г., и в 8 раз больше, чем за предыдущие 10 лет. По числу случаев туберкулеза, сочетанного с ВИЧ-инфекцией, Приморский край также занимает первое место в округе. Сложность данной проблемы обусловлена трудностями выявления туберкулеза на фоне иммунодефицита, так как он приобретает иное течение и обычными

методами часто не распознается, а также необходимостью междисциплинарного подхода [9, 13]. Риск смерти больных ВИЧ-инфекцией от активного туберкулеза в 3–7 раз выше по сравнению с пациентами без ВИЧ-инфекции [4, 5]. Поэтому остро стоит вопрос об организации своевременной и адекватной противотуберкулезной помощи пациентам с ВИЧ-инфекцией.

Целью данной работы был анализ результатов диспансерного наблюдения за больными с сочетанием ВИЧ-инфекции и туберкулеза с учетом эпидемиологических, клинико-лабораторных данных, а также изучение характера иммунологических нарушений на разных стадиях ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом.

Материал и методы. Обследовано 106 пациентов в возрасте от 19 до 53 лет (в среднем — $27,3 \pm 3,3$ г.), 85% мужчин. В соответствии с классификацией В.И. Покровского [8], IА стадия ВИЧ-инфекции была диагностирована у 7 (6,6%), III стадия — у 14 (13,2%), IVA стадия — у 36 (34%), IVB стадия — у 24 (22,6%), IVB стадия — у 20 (18,9%) и V стадия — у 5 (4,7%) больных. Диагноз туберкулеза устанавливался на основании комплексного клинико-рентгенологического, бактериоскопического и бактериологического исследований. Легочные формы туберкулеза диагностированы у 99 (93,4%), внелегочные — у 7 (6,6%) человек. Среди легочных форм преобладали инфильтративный (37 пациентов — 37,4%) и диссеминированный (28 пациентов — 28,3%) туберкулез. Очаговый процесс обнаружен у 15 (15,2%), фиброзно-кавернозный — у 10 (10,1%) и милиарный — у 9 (9,1%) больных. У 2 человек с изолированным внелегочным туберкулезом наблюдалось поражение периферических лимфатических узлов. При сочетанном легочном и внелегочном туберкулезе в 5 случаях диагностирован милиарный процесс. Все больные с милиарным, а также 3 человека с диссеминированным и 2 — с инфильтративным туберкулезом легких находились на V стадии ВИЧ-инфекции.

Кластеры дифференцировки (Cluster of Differentiation — CD) Т-лимфоцитов (CD3⁺) и их субпопуляций (CD4⁺, CD8⁺) определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител фирмы Ю test (США). О состоянии гуморального иммунитета судили по концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, определяемых иммуноферментным методом. Параллельно спектрометрически изучали уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). В ходе обследования изучали содержание интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли-α (ФНОα) в сыворотке крови

Таблица 1

Количество пациентов с различными формами туберкулеза при ВИЧ-инфекции

Всего	Очаговая		Инфильтративная		Фиброзно-кавернозная		Диссеминированная		Милярная		Экссудативный плеврит		Внелегочная		Излеченная	
	абс.	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
1065	179	16,8	520	48,8	103	9,7	145	13,6	49	4,6	46	4,3	22	2,1	1	0,1

Таблица 2

Стадии ВИЧ-инфекции у пациентов с выявленным туберкулезом

Всего	Не установлена		II		III		IVA		IVБ		IVВ		V	
	абс.	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
1065	206	19,3	35	3,3	173	16,2	204	19,2	276	26	142	13,3	29	2,7

с использованием диагностических наборов R&D Diagnostics Inc. (США) с чувствительностью 1 пг/мл. Для этого периферическую кровь (5 мл) забирали шприцем из локтевой вены, центрифугировали при 3000 об./мин на холоде в течение 10 мин. Сыворотку разливали по 0,5 мл в эпиндорфы, замораживали и хранили до использования при -76°C . Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Все больные до начала и на момент исследования не получали противовирусной терапии. Контролем послужили данные обследования 50 практически здоровых лиц того же возраста и пола (доноров).

Результаты исследования обрабатывались с использованием программы «Биостат». Проверку нормальности выборок проводили с помощью оценок коэффициентов асимметрии и эксцесса, а также критериев χ^2 и Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении переменных проверку гипотезы о равенстве выборочных средних выполняли с использованием t-критерия Стьюдента для зависимых и независимых выборок. В случае отсутствия согласия данных с нормальным распределением для оценки различий между зависимыми и независимыми выборками применяли непараметрические критерии Вилкоксона и Манна-Уитни соответственно. Степень зависимости между различными параметрами внутри исследуемых групп оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследования. За период регистрации ВИЧ-инфекции в Приморском крае на 31.12.2008 г. зарегистрировано 1065 случаев сочетанной инфекции (ВИЧ и туберкулез), что составило 13,7% от всех зарегистрированных больных ВИЧ-инфекцией. Сочетанная инфекция стала выявляться с 2000 г., когда в крае был зарегистрирован рост числа ВИЧ-инфицированных. Наибольшее число случаев сочетанной инфекции выявлено в 2006–2007 гг.: 2003 г. – 75, 2004 г. – 110, 2005 г. – 79, 2006 г. – 136, 2007 г. – 232 и 2008 г. – 212 случаев. Причем в 2006 г. частота регистрации увеличилась в 1,72 раза по сравнению с 2005 г., в 2007 г. – в 1,7 раза по сравнению с 2006 г., а в 2008 г. произошло снижение на 8,6% по сравнению с 2007 г. Из всех больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом было 757 мужчин (71,1%) и 308 женщин (28,9%). Первич-

но был выявлен туберкулез, а затем ВИЧ-инфекция у 237 (22,2%), первично выявлена ВИЧ-инфекция, а затем туберкулез – у 413 (38,8%) человек. В 415 случаях (39%) ВИЧ-инфекция и туберкулез были диагностированы одновременно. Необходимо отметить, что в 2007 г. произошел рост среди сочетанной инфекции второй группы по первичности выявления (ВИЧ-инфекция, а затем туберкулез) на 18,5%. Так, в 2006 г. из 136 случаев сочетанной инфекции группа, где ВИЧ-инфекция выявлена раньше туберкулеза, составляла 36,8% (50 случаев), а в 2007 г. соответственно из 232 – 54,3% (126 случаев). Эта тенденция продолжилась и в 2008 г., когда из 212 случаев сочетанной инфекции выявлено 113 случаев (53,3%), при которых туберкулез установлен на фоне ВИЧ-инфекции. У подавляющего большинства пациентов с сочетанием ВИЧ-инфекции и туберкулеза (861 человек – 80,8%) заражение ВИЧ произошло парентеральным путем посредством употребления инъекционных наркотиков. Половым путем заразились ВИЧ 80 человек (7,5%). В 6 наблюдениях (0,6%) установлен вертикальный путь передачи этой инфекции. У 118 человек (11,1%) путь инфицирования не установлен. Наибольшее количество больных (40%) зарегистрировано в возрасте 31–40 лет. Наименьшее количество наблюдений (0,1%) пришлось на возраст 18–20 лет. В возрастных диапазонах 41–50 и 21–30 лет зарегистрировано 23,8 и 21% заболевших соответственно. Старше 50 лет были 5,4% пациентов. В крае также зарегистрировано 6 детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией и туберкулезом.

В большинстве случаев с ВИЧ-инфекцией сочетался инфильтративный туберкулез. Далее в порядке убывания следовали диссеминированные, очаговые, кавернозные и другие формы (табл. 1). Сочетанная с туберкулезом ВИЧ-инфекция чаще диагностировалась в поздних (IVБ–V) стадиях (табл. 2). При этом в 2008 г. установлено максимальное количество случаев туберкулеза (86,3%) на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Показатели иммунограммы в анализируемых группах достоверно отличались от показателей здоровых лиц. Установлен иммунодефицит Т-клеточного типа на всех стадиях ВИЧ-инфекции, сопровождающийся уменьшением клеток, которые несли маркеры CD3 и CD4, а также снижением иммунорегуляторного индекса. Данные показатели в группах сравнения

Таблица 3

Иммунологические показатели у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, в зависимости от клинической стадии

Параметр	Доноры	Стадия ВИЧ-инфекции					
		IIA	III	IVA	IVB	IVB	V
CD3 ⁺ , %		64,2±0,7	52,4±1,5 ¹	55,3±1,9 ¹	44,8±1,8 ¹	51,5±2,3 ¹	33,9±2,9 ¹
CD4 ⁺ , %		38,5±0,9	36,5±3,1	29,1±2,7 ¹	21,7±1,8 ¹	22,6±1,7 ¹	15,2±2,7 ¹
CD8 ⁺ , %		30,2±0,6	23,5±1,5 ¹	26,6±1,8 ¹	22,9±0,9 ¹	24,6±1,7 ¹	23,8±1,9 ¹
CD4 ⁺ /CD8 ⁺		1,55±0,3	1,6±0,1	1,1±0,3	0,95±0,1 ¹	0,92±0,1 ¹	0,63±0,1 ¹
ЦИК, усл. ед.		26,0±0,4	39,5±4,6 ¹	41,5±3,9 ¹	46,8±4,1 ¹	55,4±7,3 ¹	55,5±2,8 ¹
Иммуноглобулины, г/л	A	2,6±0,1	5,5±2,1 ¹	5,4±0,9 ¹	5,1±1,0 ¹	7,9±1,5 ¹	8,1±0,5 ¹
	M	0,9±0,1	2,2±0,1 ¹	2,3±1,5 ¹	6,3±1,8 ¹	7,5±1,6 ¹	9,3±2,1 ¹
	G	9,8±0,2	25,2±2,1 ¹	29,9±1,3 ¹	26,8±2,4 ¹	27,4±3,1 ¹	28,1±2,3 ¹

¹ Разница с группой контроля статистически значима.

незначительно отличались друг от друга за исключением групп IVB и V стадий ВИЧ-инфекции. Так, на IIA стадии абсолютное содержание CD3⁺-лимфоцитов статистически значимо отличалось от показателя на V стадии болезни. Количество CD4⁺-лимфоцитов на IIA стадии ВИЧ-инфекции достоверно превышало таковое на IVB и V стадиях (табл. 3).

Известно, как минимум, два основных механизма гибели CD4⁺-клеток: в результате прямого цитотоксического действия вируса, а также за счет того, что эти клетки, инфицированные ВИЧ, становятся мишенью для цитотоксических (CD8⁺) лимфоцитов [10, 11]. Количество последних в группах сравнения достоверно не различалось. Тем не менее корреляционный анализ содержания иммунокомпетентных клеток в зависимости от уровня вирусной нагрузки показал наличие существенных различий в состоянии иммунной системы больных. Зарегистрирована тесная отрицательная корреляционная связь между уровнем вирусной нагрузки и содержанием CD3⁺- CD4⁺-клеток на IVB ($r=-0,77$ и $r=-0,69$ соответственно) и на V ($r=-0,57$ и $r=-0,72$ соответственно) стадиях болезни. Аналогичная корреляция в этих группах отмечена и по содержанию CD8⁺-клеток. Уменьшение содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD4 и CD8, свидетельствует об ухудшении функции ответа на антиген и, по указанию отдельных авторов [11, 12], число копий РНК обратно пропорционально уровню этих маркеров, что подтверждают и наши исследования.

Одновременно у больных данных групп отмечалось значительное увеличение уровня провоспалительных цитокинов (рис.). Гиперцитокинемия коррелировала с тяжестью персистирующей инфекции. В IVB и V стадиях ВИЧ-инфекции содержание ФНО α в сыворотке крови больных превышало нормальные показатели почти в 20 раз и составляло 71,8±7,7 и 88,2±11,4 пг/мл соответственно (4,27±1,23 пг/мл у здоровых). Известно, что ФНО- α способствует вирусной репликации и, следовательно, гибели CD4⁺-иммуноцитов. Кроме того, ФНО α подает сигнал смерти через рецептор ФНО α I типа (p55) и Fas-антиген (Apo-1, CD95⁺), инициирующий каскад реакций, приводящих к апоптозу CD4⁺-клеток [14]. Уровень сыворо-

точного ИЛ-6 на IVB и V стадиях ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом, в 10 раз превышал норму: 30,9±4,3 и 35,7±3,7 пг/мл соответственно (3,35±0,32 пг/мл у здоровых). Высокий уровень ИЛ-6 свидетельствует о выраженности острофазного ответа и об ослаблении функциональной активности Т-хелперов 1-го типа, что, как было показано Л.П. Сизякиной и др. [7], способствует прогрессии ВИЧ-инфекции.

По мере прогрессирования заболевания отмечен разнонаправленный характер изменений уровня иммуноглобулинов. В бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции наблюдалась гиперпродукция иммуноглобулинов, особенно по уровню иммуноглобулина G. С ростом вторичных проявлений ВИЧ-инфекции (IVA, IVB, IVB стадии) еще больше нарастала концентрация основных классов иммуноглобулинов. При IVB и IVB стадиях регистрировались преимущественно дермореспираторные проявления заболевания и содержание сывороточного иммуноглобулина A достоверно отличалось от показателей IIA и III стадий. В терминальной V стадии концентрация иммуноглобулинов продолжала оставаться достоверно выше контрольных данных. Зарегистрирован высокий уровень ЦИК во всех стадиях заболевания, и их содержание значимо отличалось от контроля (табл. 3).

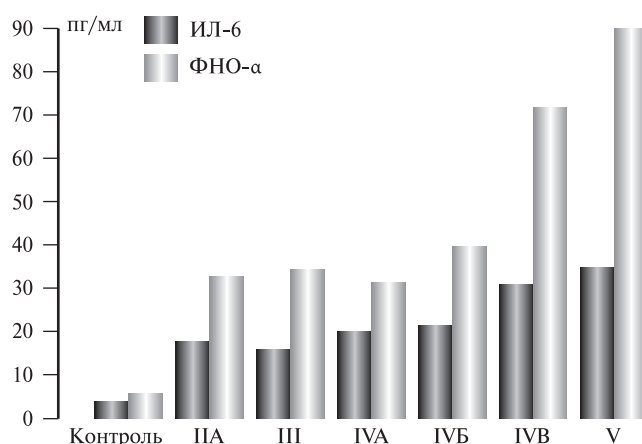


Рис. Содержание сывороточных цитокинов у ВИЧ-инфицированных на различных стадиях болезни, сочетанной с туберкулезом.

Необходимо отметить выраженный разброс индивидуальных значений иммуноглобулинов и ЦИК при ВИЧ-инфекции, ассоциированной с туберкулезом. У большинства (65,7–78,7%) пациентов наблюдалось их повышенное содержание, а у других – нормальное и даже пониженное. Эти данные, вероятно, свидетельствуют о превалировании клеточных реакций с включением аутоиммунного компонента. По всей видимости, реагирование на вирусные, грибковые и бактериальные патогены при ВИЧ-инфекции во многом определяются как генетическими, так и фенотипическими особенностями организма, формированием разнонаправленных связей. Анализ взаимосвязей между различными классами иммуноглобулинов, проведенный на разных стадиях заболевания у обследуемых больных, выявил корреляции между ними на II и IV клинических стадиях. В терминальной стадии выявлена достоверная связь между уровнями иммуноглобулинов G и A ($r=+0,33$), G и M ($r=+0,28$) и недостоверная между A и M ($r=+0,17$). Корреляционный анализ между показателями концентрации иммуноглобулинов и количества $CD4^+$ - и $CD8^+$ -лимфоцитов выявил достоверные обратные взаимосвязи между иммуноглобулином G и $CD4^+$ -клетками ($r=-0,32$) и между иммуноглобулином G и $CD8^+$ -клетками ($r=-0,44$).

Обсуждение полученных данных. Таким образом, эпидемиологическая ситуация по сочетанному с ВИЧ-инфекцией туберкулезу обосновывает необходимость внедрения статистического учета лиц с данной патологией. Если учесть, что ВИЧ-инфекция начала распространяться быстрыми темпами на территории Приморья только с 1999 г., а средняя продолжительность ее течения до наступления стадий, на которых развивается туберкулез в форме вторичного заболевания, составляет 6–10 лет, следует ожидать, что число случаев туберкулеза среди данного контингента больных начнет резко увеличиваться через 1–4 года, что, в свою очередь, приведет к ухудшению ситуации по туберкулезу в целом. Высокая антигенная стимуляция патогенами оппортунистических инфекций разобщает важные взаимосвязи между эффекторными звеньями иммунного ответа, возникающими на антигены ВИЧ. В V стадии образуются уже обратные, слабые взаимосвязи между показателями клеточного и гуморального иммунитета. Снижение абсолютного числа Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов сопровождается гиперпродукцией иммуноглобулинов, что является свидетельством преобладания гуморального ответа, который не в состоянии обеспечить защиту от ВИЧ и оппортунистических инфекций. Нарушение цитокиновой регуляции, проявляющееся повышенным уровнем ИЛ-6 и ФНО α , дезорганизует иммунную систему, что ослабляет дифференцировку и активность цитотоксических Т-лимфоцитов и их участие в противовирусном и антибактериальном иммунитете.

Литература

1. Белозеров Е.С., Змушко Е.И. ВИЧ-инфекция. 2-е изд. СПб.: Питер, 2003. 368 с.

2. Бутыльский А.Н., Кузник Б.И., Розенберг В.Я. Динамика показателей иммунитета у больных в различных стадиях ВИЧ-инфекции // *Мед. иммунология*. 2005. Т. 7, № 2–3. С. 153–154.
3. Карачунский М.А. Туберкулез при ВИЧ-инфекции // *Проблемы туберкулеза*. 2000. № 1. С. 47–52.
4. Некрасов С.П. Оказание противотуберкулезной помощи больным ВИЧ-инфекцией в Приморском крае // *Пробл. туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией: мат. науч.-практ. конф.* М., 2007. С. 38–39.
5. Пантелеев А.М., Иванов А.К., Виноградова Е.Н. Применение регионарной лимфотропной терапии в лечении туберкулеза легких у ВИЧ-инфицированных лиц // *Проблемы туберкулеза*. 2002. № 12. С. 26–28.
6. Сельцовский А.П., Юшук Н.Д., Поляков С.В. Социально-экономические последствия распространения ВИЧ-инфекции в России. М., 2002. 56 с.
7. Сизякина Л.П., Андреева И.И. Возможности и перспективы клинической иммунологии как мультидисциплинарной науки // *Росс. аллергологический журнал*. 2008. № 1, прил. 1. С. 268–269.
8. Фролова О.П., Якубовяк В., Кравченко А.В. и др. Рекомендации по снижению заболеваемости туберкулезом среди населения с высокой распространенностью ВИЧ-инфекции. М., 2004. 104 с.
9. Aliyu M.H., Salihu H.M. Tuberculosis and HIV coinfection – a symbiotic relationship // *European journal of medicine*. 2004. Vol. 115. P. 685–697.
10. Borrow P., Evans C., Oldstone M. Virus-induced immunosuppression: immune system-mediated destruction of virus-infected dendritic cells results in generalized immune suppression. // *S. Virol.* 1995. Vol. 65, No. 2. P. 1059–1070.
11. De Martino M., Rossi M.E. Different meaning of CD38 molecule expression on CD4 cells of children perinatally infected with HIV type 1 infection surviving longer than five years // *Pediatr. Res.* 1998. Vol. 43. P. 752–758.
12. Ferbas J. Perspectives on the role of CD8+ cell suppressor factors and cytotoxic T lymphocytes during HIV infection // *AIDS Res. Hum. Retrovir.* 1998. Vol. 14, suppl. 2. P. 153–160.
13. Govor O.V. A study of the trend in basic epidemiological indicators for tuberculosis in Primorye // *European Respiratory Journal*. 2004. Vol. 24, suppl. 48. P. 194.
14. Saile Mih B., Ramodori F. J. Apoptosis // *Mediana Viral Join*. 2003. Vol. 69, No. 1. P. 50–58.

Поступила в редакцию 27.03.2009.

HIV INFECTION ASSOCIATED WITH TUBERCULOSIS IN PRIMORSKIY KRAI: DETECTION, CLINICAL COURSE AND IMMUNE MECHANISMS OF PATHOGENESIS

S.A. Sotnichenko¹, E.V. Markelova², L.F. Sklyar²

¹ Regional Clinical Centre of Prevention and Fight against AIDS (50 Borisenko St. Vladivostok 690016 Russia), ² Vladivostok State Medical University (2 Ostryakov Av. Vladivostok 690950 Russia)

Summary – The paper provides results of regular medical check-up of 106 patients with HIV infection associated with tuberculosis and gives consideration to epidemiological, clinical and laboratory data as well as immunological examinations conducted at various stages of the disease. The studies allowed revealing T-cell immunodeficiency at all the HIV infection stages and close negative correlation between the HIV load level and absolute T-lymphocyte content (including T-helpers) at IVB and V stages. There was considerable increase in proinflammatory cytokine level. The hypocytokinaemia correlated with the severity of the persistent infection. As far as the disease aggravated, there was differently directed character of dynamics of immunoglobulin level.

Key words: HIV-infection, tuberculosis, cytokines.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 123–126.