

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АНТИТЕЛ К ГАММА-ИНТЕРФЕРОНУ И CD4 НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

**А. В. Стрыгин<sup>1,2</sup>, А. О. Стрыгина<sup>1,2</sup>, Е. И. Морковин<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Волгоградский государственный медицинский университет,  
<sup>2</sup>Волгоградский медицинский научный центр

В данной работе представлены результаты исследования влияния препарата антител к гамма-интерферону и CD4 на клинико-лабораторные показатели, характеризующие состояние иммунной системы у ВИЧ-инфицированных пациентов. Обнаружено, что в сочетании со стандартной антиретровирусной терапией препарат антител способствовал увеличению количества CD3+ и CD4+ клеток, а также стимулировал секрецию гамма-интерферона и интерлейкинов IL-2 и IL-4.

*Ключевые слова:* антитела, препарат на основе антител, ВИЧ, иммунный статус.

## EFFECTS OF HUMAN $\gamma$ -INTERFERON AND CD4 GLYCOPROTEIN ANTIBODIES ON THE IMMUNE SYSTEM INDICES IN HIV-INFECTED PATIENTS

**A. V. Strygin<sup>1,2</sup>, A. O. Strygina<sup>1,2</sup>, E. I. Morkovin<sup>1,2</sup>**

Volgograd State Medical University,  
SI Volgograd Medical Scientific facility

The present article provides the findings of the study of the impact of human  $\gamma$ -interferon and CD4 glycoprotein antibodies on the immune system of HIV-infected patients. The combined administration of the standard antiretroviral therapy and the antibodies has been found to result in an increase in CD3+ and CD4+ cells. These changes were associated with the stimulation of  $\gamma$ -interferon, IL-2 and IL-4 secretion.

*Key words:* antibodies, antibody-based medicine, HIV, immune status.

Подавление репликации вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) при помощи антиретровирусной терапии (АРВТ) и увеличение ее доступности позволили улучшить прогноз у ВИЧ-инфицированных пациентов [6, 7, 14, 15], однако смертность от оппортунистических инфекций (ОИ) остается достаточно высокой. В ряде клинических исследований была продемонстрирована необходимость прекращения первичной и вторичной специфической профилактики ОИ из-за высокого риска побочных эффектов [8]. Кроме того, излишняя нагрузка лекарственными средствами увеличивает потенциал лекарственной токсичности, риск лекарственных взаимодействий, выработку резистентности у микроорганизмов, что увеличивает стоимость лечения [9, 10, 12, 13]. Необоснованное назначение профилактических препаратов приводит к снижению комплаентности пациентов вследствие полипрагмазии и лекарственной непереносимости [8].

В последние годы накоплены факты, демонстрирующие свойства инновационных отечественных препаратов на основе антител облегчать течение различных вирусных инфекций, что позволяет допустить их применение в качестве средств профилактики и лечения у ВИЧ-инфицированных в составе комбинированной терапии [1, 2, 3, 4, 5, 16].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Обоснование возможности применения препарата антител к  $\gamma$ -интерферону и гликопротеину CD4 (ПАТ) в комплексной терапии ВИЧ-инфекции на основании клинико-лабораторных показателей состояния иммунной системы.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические и лабораторные исследования проводились в Волгоградском государственном медицинском университете на базе ГКУЗ «Волгоградский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» в период с 2012 по 2016 г. Работа выполнялась в рамках рандомизированного плацебо-контролируемого проспективного исследования в параллельных группах. Проведение исследования было одобрено Региональным Независимым Этическим Комитетом (ГУ Волгоградский Медицинский Научный Центр) (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (ONRP)): протоколы № 63-2012 от 26 октября 2012 г. и №82-2014 от 20 июня 2014 г.). Исследование включало 76 ВИЧ-инфицированных пациентов (возраст от 18 до 47 лет, 37 % женщин) с ВИЧ-инфекцией, рандомизация которых на группы в соответствии со схемой терапии проводилась по таблице случайных чисел (табл.).

### Исследуемые группы

Схема терапии	Количество
АРВТ	20
АРВТ + ПАТ	19
ПАТ	18
Плацебо*	19

\*Для данных пациентов предполагалось исключение из исследования при обнаружении клинически значимых признаков ухудшения состояния.

В работу не включались пациенты с тяжелыми поражениями печени, вирусным гепатитом С, тяжелыми сопутствующими заболеваниями в стадии обострения, беременные женщины, а также лица, принимающие внутривенно наркотические средства. В случае невыполнения рекомендаций по регулярному приему препарата и своевременному обследованию, а также при нежелании больного продолжать лечение, он исключался из исследования.

Продолжительность исследования составляла 3 месяца. Лечение пациентов осуществлялось в соответствии со стандартами терапии ВИЧ-инфекции, предполагающими применение двух нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы — зидовудин (300 мг, 2 р./сут.) и ламивудин (150 мг 2 р./сут.) — и нуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы — эфавиренз (600 мг 1 р./сут.). Препарат антител к  $\gamma$ -интерферону и гликопротеину CD4 (ПАТ) назначался 2 раза в день сублингвально до еды по две таблетки на прием до полного растворения.

Изучение состояния иммунной системы пациентов проводилось до начала приема препаратов и по окончании курса. Оценивали субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови (CD3, CD4, CD8) и концентрацию цитокинов (IL-2, IL-4,  $\gamma$ -INF). Фенотипирование циркулирующих лимфоцитов выполняли с помощью проточного цитофлуорометра FACSCount (Becton Dickinson, США). Концентрацию цитокинов определяли с использованием тест-систем «BioSource» (Invitrogen,

США) и многоканального анализатора BioRad (США). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения Statsoft Statistica 8.0 и GraphPad Prism 5.0. Достоверность различий оценивалась при помощи двухфакторного дисперсионного анализа с пост-хок тестом Ньюмена-Кеулса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования значительных изменений в общем содержании Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов не выявлено. В группе, получавшей комбинацию стандартной АРВТ и ПАТ, произошло достоверное ( $p < 0,01$ , рис. 1 А) увеличение количества CD3+ клеток; при этом достоверных различий по исходному содержанию CD4+ клеток не было выявлено ( $p > 0,2$  в однофакторном дисперсионном анализе).

Содержание CD4+ лимфоцитов является одним из наиболее значимых показателей в терапии ВИЧ-инфекции, поэтому его увеличение может отражать успешность проводимой терапии, поскольку сам ВИЧ при проникновении в клетку связывает CD4 и хемокиновый рецептор, расположенные на поверхности Т-хелперов. В нашем исследовании было выявлено достоверное повышение содержания Т-хелперов у пациентов, получавших ПАТ и комбинацию АРВТ с ПАТ, как по отношению к исходным значениям ( $p < 0,001$ , рис. 1 Б), так и в сравнении с результатами АРВТ ( $p < 0,01$ ).

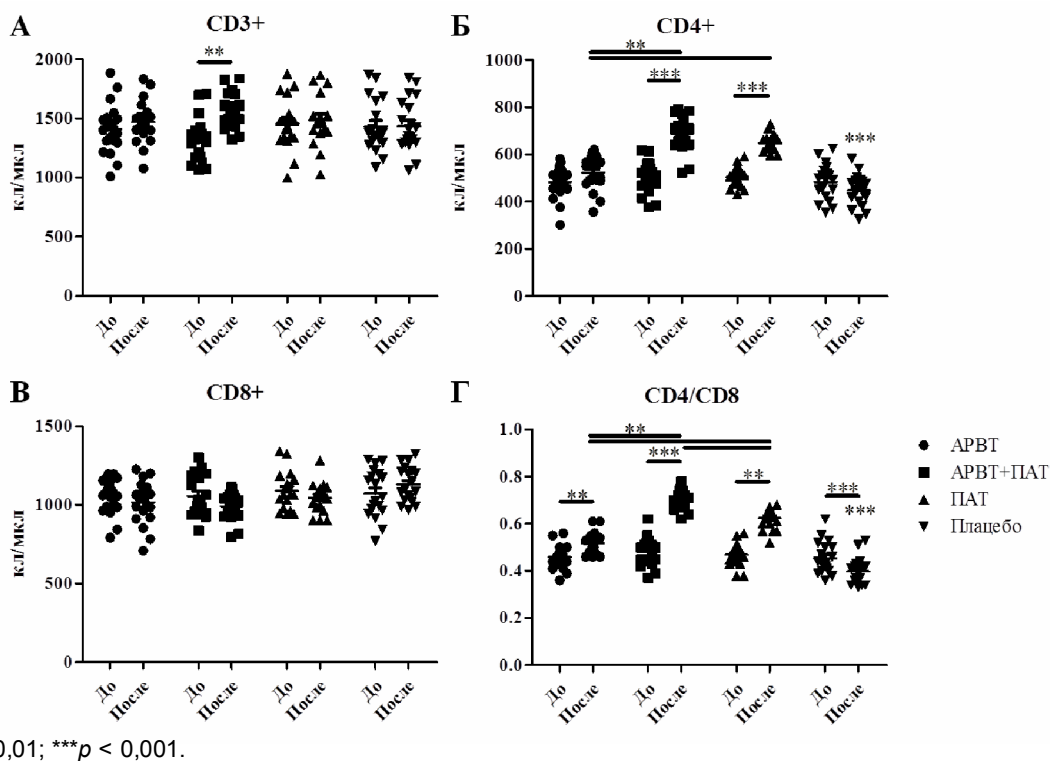


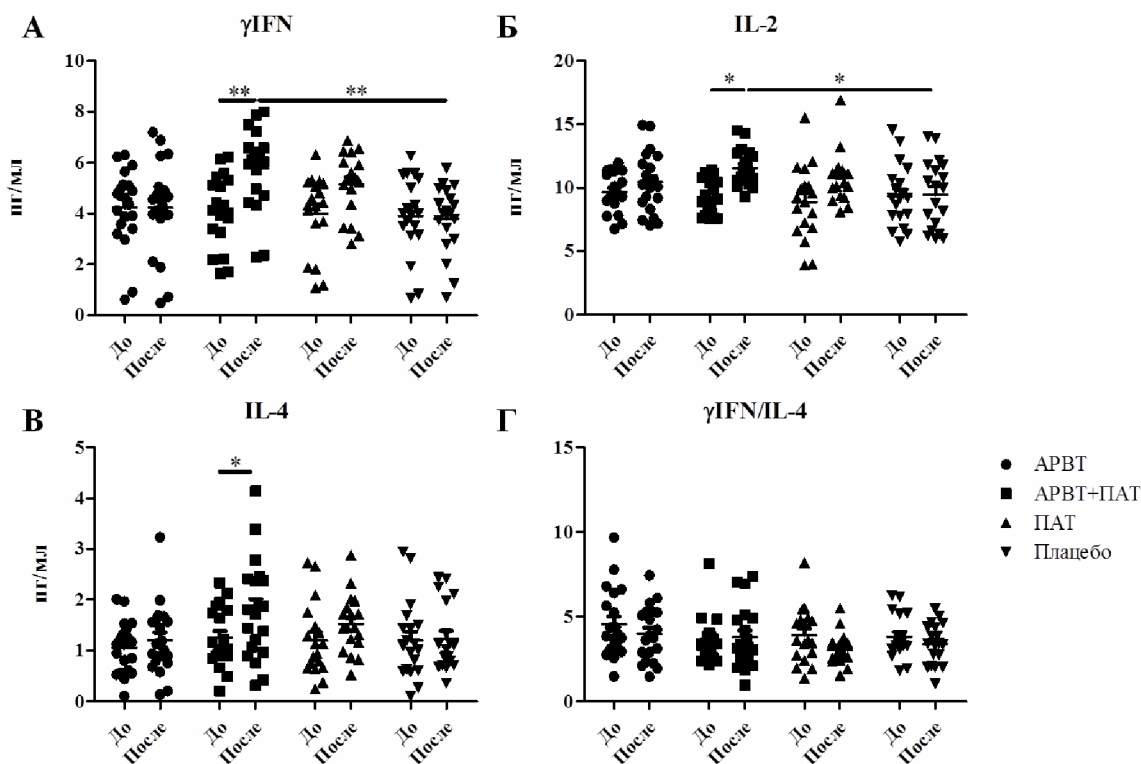
Рис. 1. Динамика субпопуляций лимфоцитов в периферической крови. Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; выполнен двухфакторный дисперсионный анализ с пост-хок тестом Ньюмена-Кеулса; сравниваемые группы данных обозначены горизонтальными линиями

В группе, получавшей АРВТ, увеличение CD4+-лимфоцитов не было достоверным, а в группе, получавшей плацебо, напротив, произошло статистически значимое ( $p < 0,001$ ) снижение данного показателя. Данные изменения свидетельствуют о том, что препарат антител к  $\gamma$ -интерферону человека и гликопротеину CD4 способен стимулировать клеточное звено иммунитета, увеличивая популяцию Т-хелперов как при комбинированной с АРВТ, так и при монотерапии. Несмотря на изменения, затронувшие Т-хелперы, популяция Т-киллеров практически не изменилась — достоверных изменений выявить не удалось (рис. 1 В).

В то же время изменилось соотношение CD4/CD8, являющееся интегральным показателем, характеризующим состояние иммунной системы человека. Исходно во всех группах больных данный показатель был снижен более чем в 2 раза по сравнению с нормой. Изменения, произошедшие на фоне терапии, соотносятся с изменениями содержания CD4+-лимфоцитов, описанными выше: в группах пациентов, у которых отмечалось повышение CD4+-лимфоцитов, происходило увеличение соотношения CD4/CD8 (рис. 1 Г). Эти изменения наблюдались в группах АРВТ ( $p < 0,01$ ), АРВТ и ПАТ ( $p < 0,001$ ), и в группе, получавшей монотерапию ПАТ ( $p < 0,01$ ). В группе, получавшей плацебо, напротив, произошло достоверное снижение этого показате-

ля ( $p < 0,001$ ). Увеличение иммунорегуляторного индекса в группе, получавшей АРВТ в сочетании с ПАТ, было достоверным как по отношению к исходным показателям, так и по отношению к другим группам ( $p < 0,01$  и  $p < 0,001$  для плацебо).

При исследовании концентрации  $\gamma$ -IFN у ВИЧ-инфицированных пациентов было выявлено достоверное увеличение данного показателя в группе, получавшей АРВТ в сочетании с ПАТ, как по отношению к исходным значениям, так и в сравнении с группой, получавшей плацебо ( $p < 0,01$ , рис. 2 А). Изменения, произошедшие в других группах, не были достоверными, несмотря на видимую тенденцию в отношении монотерапии ПАТ. Аналогичным образом изменялось содержание цитокинов IL-2 и IL-4: статистически значимые изменения отмечены в группе, получавшей АРВТ в сочетании с ПАТ ( $p < 0,05$ , рис. 2 Б, В). При этом изменения коэффициента  $\gamma$ IFN/IL-4, отражающего соотношение между клетками, секретирующими  $\gamma$ IFN, и клетками, секретирующими IL-4, не были статистически значимыми ни в одной из исследуемых групп (рис. 2 Г). Данные результаты могут свидетельствовать о недостаточной выраженности влияния монотерапии ПАТ на концентрации цитокинов в крови ВИЧ-инфицированных больных, что, однако, изменяется при сочетании терапии ПАТ со стандартной АРВТ.



\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

Рис. 2. Динамика концентраций цитокинов в плазме крови. Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; выполнен двухфакторный дисперсионный анализ с пост-хок тестом Ньюмена-Кеулса; сравниваемые группы данных обозначены горизонтальными линиями

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе представленной работы было обнаружено, что в сочетании со стандартной антиретровирусной терапией препарат антител к  $\gamma$ -интерферону и гликопротеину CD4 человека способствовал увеличению количества CD3+ и CD4+ клеток, а также стимулировал секрецию гамма-интерферона и интерлейкинов IL-2 и IL-4.

Представленные результаты позволяют утверждать, что изучаемый препарат способен оказывать иммуномодулирующее действие при моноинфекции ВИЧ, как в комбинации со стандартной АРВТ, так и при монотерапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Стрыгин А. В. Влияние антител к гамма-интерферону на показатели клеточного звена иммунитета и цитокиновый профиль ВИЧ-инфицированных больных / А. В. Стрыгин, П. П. Несмиянов, А. О. Стрыгина // Российский аллергологический журнал. — 2012. — № 1. — С. 298—299.
2. Стрыгин А. В. Влияние препарата «Анаферон» на цитокиновый профиль ВИЧ-инфицированных пациентов / А. В. Стрыгин, В. И. Петров, П. П. Несмиянов, Б. Ю. Гумилевский // Аллергология и иммунология. — 2009. — Т. 10, № 2. — С. 241.
3. Стрыгин А. В. Повышение эффективности лечения ВИЧ-инфицированных больных с помощью антител к гамма-интерферону: автореф. дис. ... к. м. н. — Волгоград, 2010.
4. Эпштейн О. И. Механизмы иммуотропных свойств потенцированных антител к человеческому интерферону-гамма / О. И. Эпштейн, Ю. П. Бельский, Е. Ю. Шерстобоев и др. // Бюлл. эксп. биол. — 2001. — № 3. — С. 34—36.
5. Эпштейн О. И. Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций / О. И. Эпштейн, М. Б. Штарк, А. М. Дыгай и др. // ПАМН. — 2005. — С. 131—167.
6. Braitstein P. Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries / P. Braitstein, M. W. Brinkhof, F. Dabis, et al. // Lancet. — 2006. — Vol. 367. — P. 817—824.
7. CDC. 1999 US Public Health Service / Infectious Diseases Society of America guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus // MMWR. — 1999. — Vol. 48. — P. 1—49.
8. Dworkin M. S. Risk for preventable opportunistic infections in persons with AIDS after antiretroviral therapy increases CD4 $\pm$  T lymphocyte counts above prophylaxis thresholds / M. S. Dworkin, D. L. Hanson, J. E. Kaplan, et al. // J. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 182. — P. 611—615.
9. Furrer H. Discontinuation of primary prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-1-infected adults treated with combination antiretroviral therapy. Swiss HIV Cohort Study / H. Furrer, M. Egger, M. Opravil, et al. // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 340. — P. 1301—1306.
10. Green H. A prospective multicentre study of discontinuing prophylaxis for opportunistic infections after effective antiretroviral therapy / H. Green, P. Hay, D. T. Dunn, et al. // HIV Med. — 2004. — Vol. 5. — P. 278—283.
11. Hermsen E. D. Discontinuation of Prophylaxis for HIV-Associated Opportunistic Infections in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy / E. D. Hermsen, Heather E. Wynn, Jocarol Mcnabb // American Journal of Health-System Pharmacy. — 2004. — Vol. 61. — P. 245—256.
12. Lopez Bernaldo de Quiros J. C. A randomized trial of the discontinuation of primary and secondary prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia after highly active antiretroviral therapy in patients with HIV infection / Lopez Bernaldo de Quiros J. C., Miro J. M., et al. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P. 159—167.
13. Mussini C. Discontinuation of primary prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia and toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus type I-infected patients: the changes in opportunistic prophylaxis study / C. Mussini, P. Pezzotti, A. Govoni, et al. // J. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 181. — P. 1635—1642.
14. Palella F. J. Jr. HIV Outpatient Study Investigators. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection / F. J. Palella Jr, K. M. Delaney, A. C. Moorman, et al. // N. Engl. J. Med. — 1998. — Vol. 338. — P. 853—860.
15. Powderly W. Prophylaxis for opportunistic infections in an era of effective antiretroviral therapy // Clin. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 31. — P. 597—601.
16. Sherstoboev E. Y. Immunotropic Effects of Potentiated Antibodies to Human Interferon-gamma / E. Y. Sherstoboev, N. M. Masnaya, A. A. Churin, et al. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2003. — Vol. 135. — P. 70—72.

## Контактная информация

**Стрыгин Андрей Валерьевич** — к. м. н., заведующий кафедрой фундаментальной медицины и биологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: drumsav@mail.ru