УДК 615.21 2.7-032.13-003.96-06:616.98:578.828:613.85

Э.П. Станько[1], С.А. Ляликов[1], С.А. Игумнов[2,3], В.М. Цыркунов[1], Н.В. Матиевская[1]

ИНЪЕКЦИОННОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ НАРКОТИКОВ КАК ФАКТОР, СПОСОБСТВУЮЩИЙ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАНИЮ

[1] Гродненский государственный медицинский университет, 230009,Республика Беларусь, г.Гродно, Горького 80.
[2] Белорусский государственный медицинский университет, 220116,Республика Беларусь, Минск, пр. Дзержинского 83. E-mail: Sigumnov67@gmail.com.
[3] Государственный институт управления и социальных технологий Белорусского государственного университета, 220004, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Обойная, 7

Цель: установить характера воздействия инъекционных наркотиков на показатели клеточного иммунитета и оценка значимости наркопотребления, как фактора, способствующего ВИЧ-инфицированию и влияющего на течение заболевания у ВИЧ-позитивных пациентов.

Материалы и методы: обследованы 144 человека – 109 пациентов с наркозависимостью, ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-позитивных потребителей инъекционных наркотиков и 35 практически здоровых лиц.

Результаты: потребление инъекционных наркотиков потенцирует вызываемое ВИЧ-инфекцией снижение процентного содержания хелперов (CD4+лимфоцитов), Т-естественных киллеров (CD3+16+56+ лимфоцитов), естественных киллеров (CD3-16+56+ клеток), повышение цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+лимфоцитов), доли и абсолютного числа Т-лимфоцитов с признаками активации (CD3+HLA-DR+клеток).

Выводы: употребление инъекционных наркотиков повышает риск инфицирования у потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) без ВИЧ и понижает противовирусный ответ у ВИЧ-позитивных пациентов, статистически значимо потенцируявызванные ВИЧ-инфекцией снижение в крови количества хелперов, естественных и Т-естественных киллеров, регуляторных клеток, иммунную гиперактивацию, что способствует прогрессированию заболевания.

Ключевые слова: инъекционные наркотики, клеточный иммунитет, ВИЧ.

E.P. Stanko[1], S.A. Lyalikov[1], S.A. Igumnov[2,3], V.M. Cyrkunov[1], N.V. Matievskya[1]

INJECTING DRUG USE AS A FACTOR CONTRIBUTES TO HIV-INFECTION

[1] Grodno State Medical University, 80 Gorky st., Grodno, Belarus, 230009.
[2] Belarusian State Medical University, 83 pr. Dzerzhinsky, Minsk, Belarus, 220116. E-mail: Sigumnov67@gmail.com.
[3] State Institute of Management and Social Technologies, Belarusian State University, 7 Oboynaya st., Minsk, Belarus 220004

Purpose: to determine the nature of the impact of injecting drug use on cellular immunity and assessment of the importance of drug use as a factor contributing to HIV infection and affect the course of disease in HIV- positive patients.

Materials and methods: surveyed 144 people - 109 patients with drug addiction, HIV infection and HIV - positive injecting drug users and 35 healthy individuals.

Results: found that injecting drug potentiates caused by HIV infection decrease the percentage of helper cells (CD4 + lymphocytes), natural killer T (CD3 +16 +56 + lymphocytes), natural killer cells (CD3- 16 +56 + cells), increased cytotoxic T lymphocytes (CD8 + lymphocytes), the proportion and absolute number of T- lymphocyte activation characteristics (CD3 + HLA-DR + cells).

Summary: injecting drug use increases the risk of infection among injecting drug users (IDUs) without HIV, and decreases the antiviral response in HIV- positive patients, a statistically significant potentiating caused by HIV in the blood decrease in helper cells, and natural killer T- natural, regulatory cells, immune hyperactivation that contributes to the progression of the disease.

Key words: injecting drug users, cellular immunity, HIV.

Потребители инъекционных наркотиков (ПИН) являются одной из основных групп риска передачи ВИЧ и других гемоконтактных инфекций. Клиническая картина ВИЧ в этой среде отличается от картины ВИЧ-инфекции других пациентов[1,2]. Изучение особенностей иммунитета у ПИН, также оценка их вклада в формировании ВИЧ-индуцированного иммунодефицита является актуальной проблемой, тем более, что имеющиеся в научной литературе данные об иммунологических нарушениях у ПИН, в том числе в сочетании с ВИЧ-инфекцией неоднозначны и противоречивы [3].

Цель – установить характер воздействия инъекционных наркотиков на показатели клеточного иммунитета и оценить значимость наркопотребления, как фактора способствующего инфицированию ВИЧ и влияющего на течение заболевания у ВИЧ-позитивных наркопотребителей (ВПН).

Материал и методы

По единой программе были включены в исследование и обследованы 144 человека: 109 пациентов (49 – с наркозависимостью, 23 – с ВИЧ-инфекцией, 37 – с наркозависимостью и ВИЧ-инфекцией) и 35 практически здоровых. Все обследованные распределены на 4 группы.

I группу (сравнения) составили 35 человек (26 женщин и 9 мужчин), средний возраст 29,86±8,74 лет. Критериями включения в эту группу являлись наличие информированного согласия на обследование, возраст свыше 18 лет, критериями исключения – зависимость от наркотиков, наличие на момент обследования ВИЧ, острых или обострения хронических заболеваний. Во II группу вошли 49 человек (26 женщин и 23 мужчины), средний возраст 28,80±5,04 лет. Критериями включения в эту группу являлись наличие информированного согласия на обследование, возраст (старше 18 лет), синдром опийной зависимости, критериями исключения – инфицирование ВИЧ, наличие на момент обследования острых или обострения хронических заболеваний. В III группе было 23 человека (11 женщин и 12 мужчин), средний возраст 34,96±7,01 лет. Критериями включения в эту группу являлись наличие информированного согласия на обследование, возраст (старше 18 лет), лабораторно подтвержденное носительство ВИЧ, критериями исключения – зависимость от наркотиков, наличие на момент обследования острых или обострения хронических заболеваний. IV группа состояла из 37 лиц (18 женщин и 19 мужчин), средний возраст 31,03±4,68 лет. Критериями включения в эту группу являлись наличие информированного согласия на обследование, возраст (старше 18 лет), лабораторно подтвержденное носительство ВИЧ, синдром опийной зависимости, критериями исключения – наличие на момент обследования острых или обострения хронических заболеваний. Диагностика ВИЧ была осуществлена с использованием метода иммуноблоттинга. Для определения стадии ВИЧ-инфекции проводилось определение вирусной нагрузки и уровня CD 3, CD 4, CD 8 лимфоцитов.

Дизайн исследования был определен как аналитическое исследование типа «случай-контроль». При обработке данных использовался стандартный пакет прикладных статистических программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

Результаты

Общеклинический анализ крови обследованных из различных групп показал, что наиболее высокий уровень лейкоцитов (9,55±2,88) с наиболее низким процентным содержанием лимфоцитов (32,45±9,04) статистически значимо определялись у пациентов II группы (p=0,05). Абсолютное количество лимфоцитов у пациентов III и IV групп (2,48±0,86 и 2,45±1,12 соответственно) было существенно ниже, чем у лиц, входящих в I и II группы (2,90±0,82 и 3,02±1,01 соответственно) при p=0,03. Следует отметить, что содержание лейкоцитов в крови в IV группе у мужчин значимо выше по сравнению с женским полом (соответственно 8,72±4,74 и 6,57±1,94, p=0,02). Наиболее высокая концентрация лейкоцитов наблюдается у пациентов II группы, причем у женщин II группы число лейкоцитов достоверно выше, чем у женщин IV (соответственно 9,66±3,24 и 6,57±1,94, p=0,01). Дисперсионный анализ показал, что на абсолютное число лимфоцитов статистически значимое влияние оказывала только инфицированность ВИЧ (F=8,41, p=0,004), вызывающая снижение их количества. Вклады наркозависимости и половой принадлежности в дисперсию этого показателя были недостоверны (в обоих случаях p>0,05). Анализ содержания популяций Т-лимфоцитов у представителей различных групп показал, что наиболее высокий средний процент клеток с фенотипом CD3+ был характерен для пациентов IV группы. У пациентов III группы процент клеток с фенотипом CD3+ был выше, чем у обследованных I и II групп, а у пациентов II группы – выше, чем у обследованных I группы (табл. 1).

Таблица 1

Содержание основных популяций Т-лимфоцитов у представителей различных групп (M±SD)

ПАРАМЕТРЫ	I гр.	II гр.	III гр.	IV гр.	P
1	2	3	4	5	6
CD3+ (%)	73,47±5,66	77,90±6,78	81,39±9,68	85,41±5,82	P_{1-2}=0,004; P_{1-3}=0,00003; $P_{1-4}<10^{-10}$; P_{2-3}=0,05; P_{2-4}=0,000001; P_{3-4}=0,03

1	2	3	4	5	6
CD3+ (*10^9/л)	2,13±0,62	2,35±0,83	2,01±0,73	2,09±0,98	-
CD4+ (%)	43,11±4,76	41,96±5,40	33,02±7,34	23,11±7,43	$P_{1-3}<10^{-7}$; $P_{1-4}<10^{-17}$; $P_{2-3}<10^{-6}$; $P_{2-4}<10^{-17}$; $P_{3-4}10^{-7}$
CD4+ (*10^9/л)	1,25±0,40	1,28±0,49	0,82±0,34	0,57±0,35	P_{1-3}=0,0002; $P_{1-4}<10^{-10}$; P_{2-3}=0,00004; $P_{2-4}<10^{-11}$; P_{3-4}=0,03
CD8+ (%)	28,16±6,35	31,53±8,24	50,52±14,99	58,08±9,53	$P_{1-3}<10^{-14}$; $P_{1-4}<10^{-17}$; $P_{2-3}<10^{-11}$; $P_{2-4}<10^{-17}$; P_{3-4}=0,003
CD8+ (*10^9/л)	0,81±0,30	0,94±0,35	1,25±0,56	1,42±0,69	P_{1-3}=0,001; $P_{1-4}<10^{-6}$; P_{2-3}=0,01; P_{2-4}=0,00001;
CD4/CD8	1,64±0,54	1,46±0,60	0,77±0,45	0,42±0,18	$P_{1-3}<10^{-8}$; $P_{1-4}<10^{-17}$; $P_{2-3}<10^{-6}$; $P_{2-4}<10^{-17}$; P_{3-4}=0,008

Дисперсионный анализ продемонстрировал наличие значимого влияния на долю CD3+ клеток таких факторов, как инфицированность ВИЧ (F=42,41, p=0,000000001) и наркозависимость (F=12,68, p=0,0005), но не половой принадлежности (p>0,05). Вместе с тем, средние значения абсолютного количества CD3+ лимфоцитов в сравниваемых группах значимых различий не имели.

Самый низкий средний процент клеток с фенотипом CD4+ был характерен для пациентов III и IV групп (табл. 1). Причем, у пациентов IV группы этот показатель был достоверно ниже, чем в III группе. Наиболее высокий средний процент клеток с фенотипом CD4+ наблюдался у обследованных I группы (43,11±4,76). Следует отметить, что у пациентов II группы средний процент клеток с фенотипом CD4+ был значимо выше по сравнению с пациентами III и IV групп. На величину этого показателя статистически значимо влияли инфицированность ВИЧ, наличие наркозависимости и половая принадлежность (табл. 2).

Таблица 2

Вклад инфицированности ВИЧ, наркозависимости и половой принадлежности в дисперсию процентного содержания CD4+ клеток

ПАРАМЕТРЫ	SS	Степень свободы	MS	F	P
ВИЧ	6175,01	1,0	6175,01	168,79	<10-17
Наркозависимость	894,31	1,0	894,31	24,44	0,000002
Пол	329,30	1,0	329,30	9,00	0,003
ВИЧ*Наркозависимость	670,89	1,0	670,89	18,34	0,00004
ВИЧ*Пол	13,57	1,0	13,57	0,37	0,5
Наркозависимость*Пол	9,11	1,0	9,11	0,25	0,6
ВИЧ*Наркозависимость*Пол	30,25	1,0	30,25	0,83	0,4

Абсолютное количество CD4+ клеток у пациентов III и IV групп было достоверно ниже, чем у представителей I и II групп, кроме того, в IV группе среднее количество хелперов было значимо ниже, чем в III. Наиболее выраженное снижение доли хелперов наблюдали у пациентов IV группы, причем у лиц мужского пола показатели были в целом ниже, хотя достоверно различались по процентному содержанию CD4+ клеток только представители III группы (у мужчин – 30,42±7,48%, у женщин – 35,86±6,32%, p=0,03).

Установлено, что на абсолютное число лимфоцитов с фенотипом CD4+ существенно влияет инфицированность ВИЧ (F=61,47, p<10-11).

Средняя величина процентного содержания CD8+ лимфоцитов у пациентов IV группы была значимо выше, чем во всех остальных группах, в III группе – значимо выше по сравнению с I и II группами. Самый низкий показатель процентного содержания CD8+ лимфоцитов был у обследованных I группы (табл. 1). Значимое влияние на долю клеток с фенотипом CD8+ оказывали все анализируемые факторы, в том числе и половая принадлежность. В целом, у женщин величина этого показателя была меньше, чем у мужчин, однако достоверно различия были выявлены только у пациентов III группы (у мужчин – 55,38±14,49%, у женщин – 45,22±14,30%, p=0,01). Кроме этого, у наркозависимых женщин с ВИЧ-инфекцией процент CD8+ клеток был достоверно выше, чем у ВИЧ-позитивных женщин без наркозависимости (соответственно 56,22±6,70% и 45,22±14,30%, p=0,002).

Средние значения показателей абсолютного числа CD8+ клеток у ВИЧ-позитивных пациентов были существенно выше аналогичного показателя обследованных I и II групп (табл. 1). Максимальный показатель абсолютного числа CD8+ клеток наблюдался у пациентов IV группы, минимальный – у обследованных I группы. Значимое влияние на число цитотоксических Т-лимфоцитов оказывали инфицированность ВИЧ (F=25,23, p=0,000002) и половая принадлежность (F=4,21, p=0,04). Статистически значимо относительное и абсолютное число клеток с фенотипом CD8+ различалось у мужчин и женщин только в III группе (у мужчин – 1,49±0,46, у женщин – 1,02±0,57, p=0,02).

Наиболее низкая средняя величина соотношения клеток с фенотипами CD4+ и CD8+ была характерна для пациентов IV группы (таблица 1). В III группе этот показатель также был значимо ниже, чем у обследованных I и II групп. Достоверный вклад в дисперсию этого индекса вносили все анализируемые факторы. У ПИН соотношение было ниже, хотя достоверные различия были получены только у ВИЧ-позитивных женщин (без наркозависимости – 0,94±0,55; с наркозависимостью – 0,45±0,15, p=0,007). У женщин, в целом, индексы были выше, чем у мужчин, но статистически значимые гендерные различия были выявлены только во II группе (у мужчин – 1,30±0,44, у женщин – 1,61±0,69, p=0,02).

Анализ содержания В-лимфоцитов у представителей различных групп показал, что средний процент CD 19+ клеток у пациентов IV группы (6,19±3,40) был значимо ниже, чем у обследованных остальных групп. В III группе (8,46±2,46) величина среднего процента CD 19+ клеток существенно ниже, чем в I и II группах (11,42±3,54 и 11,33±4,79 соответственно) при p=0,005. Абсолютное число В-лимфоцитов также было значимо ниже у ВИЧ-позитивных пациентов (III и IV группы) по сравнению с ВИЧ-негативными (I и II группы) при p=0,01. Наиболее низкий показатель абсолютного числа В-лимфоцитов отмечен у пациентов IV (0,15±0,11) и III (0,22±0,13) групп. С помощью дисперсионного анализа было установлено, что и на долю, и на абсолютное количество CD19+ лимфоцитов из всех изученных факторов достоверно влияет инфицированность ВИЧ (в обоих случаях p<0,0000003).

Анализ содержания киллеров у представителей различных групп показал, что доля клеток с фенотипом CD3+16+56+ у пациентов IV группы (5,43±3,25; p=0,05) была значимо существенно ниже, чем у обследованных остальных групп, на величину которой влияли наркозависимость (F=7,54, p=0,007) и половая принадлежность (F=4,86, p=0,03). Следует отметить, что доля клеток с фенотипом CD3+16+56+ у пациентов III группы (8,09±3,91) была выше, чем у пациентов II группы (6,96±3,97). Абсолютное количество таких клеток самым низким было характерным для пациентов IV группы. На число Т-естественных киллеров статистически значимое влияние оказывали инфицированность ВИЧ (F=5,89; p=0,02) и наркозависимость (F=6,27; p=0,01), а также сочетание наркозависимости и половой принадлежности (F=4,26; p=0,04). При попарном сравнении установлено, что среднее содержание CD3+16+56+ лимфоцитов в крови у мужчин в III группе было достоверно выше, чем у женщин этой же группы (соответственно 0,28±0,17 и 0,14±0,08, p=0,01) и мужчин IV группы (соответственно 0,28±0,17 и 0,13±0,07, p=0,001).

Результаты сравнения между группами величин процентного и абсолютного содержания клеток с фенотипом CD3-16+56+ были практически идентичными. Значимо ниже эти показатели были в IV группе, чем во всех остальных, а во II и III – существенно ниже, чем в I группе. Результаты дисперсионного анализа процентного и абсолютного числа естественных киллеров также не различались: статистически значимо на эти показатели влияли инфицированность ВИЧ (p<0,0004) и наркозависимость (p<0,00003), но не половая принадлежность (p>0,05).

Анализ содержания лимфоцитов с различными фенотипами у обследованных показал, что процентное количество CD3+HLA-DR+ клеток у ВИЧ-позитивных пациентов было значимо выше, чем у ВИЧ-негативных, кроме того, в IV группе (32,92±13,57) этот показатель был значимо выше, чем в III (19,30±8,43). Подобным образом различались между группами средние значения абсолютных количеств активированных Т-лимфоцитов. Как на процентное, так и на абсолютное число клеток с фенотипом CD3+HLA-DR+ значимое влияние оказывали инфицированность ВИЧ (p<10-9) и наличие наркозависимости (p<0,00005).

Употребление наркотиков приводило к существенному увеличению экспрессии HLA-DR на CD3+ лимфоцитах, индуцированной ВИЧ-инфекцией. У пациентов III группы (3,38±1,60) в крови определялся наименьший процент CD4+25+ клеток, существенно более низкий, чем у обследованных всех остальных групп, а в IV группе (4,65±2,67) этот показатель был достоверно ниже, чем в I (5,95±1,72) и II (6,43±3,59) группах при p=0,04. Абсолютное количество лимфоцитов с фенотипом CD4+25+ у ВИЧ-позитивных пациентов (III - 0,09±0,05; IV - 0,11±0,08) было значимо ниже, чем у ВИЧ-негативных (II - 0,19±0,10) и группе сравнения (I - 0,17±0,07) при p=0,001. На долю и количество указанной минорной популяции лимфоцитов статистически значимо влияла инфицированность ВИЧ (p<0,000008).

Заключение

Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, свидетельствуют о том, что инфицированность ВИЧ и зависимость от наркотиков статистически значимо снижают процентное содержание хелперов, взаимно потенцируя супрессивные эффекты друг друга. Наиболее выраженное снижение доли клеток с фенотипом CD4+ наблюдается у ВПН, при этом показатели у лиц мужского пола более низкие. Абсолютное количество хелперов, главным образом, зависит от инфицированности ВИЧ,

отмечается лишь тенденция к достоверности синергического ему эффекта, вызываемого употреблением наркотиков. Потенцирующий эффект можно объяснить, тем что опиоидные наркотики снижают продукцию IL2 [4], что приводит к снижению пролиферации и, соответственно, числа хелперов за счет уменьшения доли TH1, так как опийные наркотики направляют дифференцировку CD4 клеток преимущественно по пути образования TH2 [5, 6]. Подавление образования TH1 снижает резистентность к вирусной инфекции: увеличивается риск инфицирования и уменьшается эффективность противовирусного иммунного ответа [7].

Общее количество Т-лимфоцитов не зависит от инфицированности ВИЧ, инъекционного потребления наркотиков и половой принадлежности или сочетанного влияния этих факторов. Общееколичество лимфоцитов, процент и абсолютное количество В-клеток (CD19+ лимфоцитов), также CD4+25+ клеток (преимущественно Т- регуляторных лимфоцитов) в крови у пациентов с ВИЧ-инфекциейзначимо ниже, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции. Потребление инъекционных наркотиков и половая принадлежность существенного влияния на эти показателине оказывают.

Потребление ВПН инъекционных наркотиков потенцирует вызываемое ВИЧ-инфекцией снижение процентного содержания хелперов (CD4+лимфоцитов), количества Т-естественных киллеров (CD3+16+56+ лимфоцитов), процентного и абсолютного содержания естественных киллеров (CD3-16+56+ клеток), а также повышение процентного содержания цитотоксических Т- лимфоцитов (CD8+лимфоцитов), доли и абсолютногочисла Т- лимфоцитов с признаками активации (CD3+HLA-DR+клеток).Общееколичество лейкоцитовзначимо зависит от инфицированности ВИЧ и потребления инъекционных наркотиков. Если инфицированность ВИЧ приводит к их снижению, тоинъекционное потребление наркотиков – к их повышению, причем, в большей степени эти эффекты проявляются у женщин. Болеевыраженноезначимое увеличение абсолютного числа CD8+ лимфоцитовиснижениепроцента клеток с фенотипом CD4+, соответственно – уменьшение величины иммунорегуляторного индекса наблюдается у лиц мужского пола. У женщин, инфицированных ВИЧ уровень CD3+16+56+ клеток существенно ниже, чем у ВИЧ-позитивныхмужчин.

Инъекционное потребление наркотиков повышает риск инфицирования ВИЧ-негативных наркопотребителейи снижает противовирусный ответ у ВИЧ-позитивных пациентов, статистически значимо потенцируявызванные ВИЧ-инфекцией эффекты: снижение в крови числа хелперов, естественных и Т-естественных киллеров, регуляторных клеток,иммуннуюгиперактивацию, которые могут способствовать прогрессированию заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунонаркология / Под ред. В.Н. Цыгана, П.Д. Шабанова. – СПб.: ВМедА, 2008. – 224 с.
2. Хамитов, Р. Ф. Наркозависимость и инфекционная патология: клинико-иммунологические аспекты (обзор литературы) / Р.Ф.Хамитов, И.Г. Мустафин, О.Л. Пайкова // Вестник современной клинической медицины. – 2009. – Т. 2, № 3. – С. 54-59.
3. Mechanisms of opioid-mediated inhibition of human T cell receptor signaling / C.Borner [et al.] // Immunol. – 2009. – Vol. 183. – P. 882–889.
4. Morphine induces CD4+ T cell IL-4 expression through an adenylyl cyclase mechanism independent of the protein kinase A pathway / S. Roy [et al.] // Immunol. – 2005. – Vol. – 175. – P. 6361–6367.
5. Short communication: Lack of immune response in rapid progressor morphine-dependent and SIV/SHIV-infected rhesus macaques is correlated with downregulation of TH1 cytokines / V. Rivera-Amill, [et al.] // AIDS Res Hum Retroviruses. – 2010. – Vol. 26. – P. 919–922.
6. Conservation of total T-cell counts during HIV infection: alternative hypotheses and implications / Z. Grossman [et al.] // Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. – 1998. – Vol. 17. – P. 450–457.

ПОСТУПИЛА 16.03.2014