

ЗАВИСИМОСТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СОСТАВА Т-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С ОТ ГЕНОТИПА ВИРУСА (ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ПРЕПАРАТАМИ ПРЯМОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ)

А.А. Савченко¹, В.В. Цуканов¹, И.В. Кудрявцев^{2,3}, Ю.Л. Тонких¹, В.Д. Беленюк¹, М.А. Черепнин¹, А.А. Анисимова¹, А.Г. Борисов¹

¹ ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

² ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования было изучение фенотипа эффекторных Т-лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия в зависимости от генотипа вируса. Обследовано 50 больных ХВГС без признаков цирроза печени. Диагноз устанавливали на основании эпидемиологических и клинико-лабораторных данных при обнаружении специфических серологических маркеров ХВГС и РНК вируса гепатита С (ВГС) в соответствии с рекомендациями Европейской ассоциации по изучению печени (EASL, 2016). Содержание РНК ВГС определяли методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Степень фиброза печени у больных ХВГС оценивали с помощью ультразвуковой эластографии. Лечение больных осуществляли в течение 3 месяцев препаратами прямого противовирусного действия согласно рекомендациям EASL 2016 г. В контрольную группу вошли 46 практически здоровых лиц, у которых во время профилактического осмотра были исключены выраженные хронические заболевания различных органов и систем, отсутствовали жалобы на состояние здоровья и определялись соответствовавшие норме показатели клинического и биохимического анализов крови при отсутствии маркеров к вирусным гепатитам В и С, антител к описторхисам; факт злоупотребления алкоголем в анамнезе отрицался. Исследование субпопуляционного состава хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов осуществляли методом прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Нами получен 100% устойчивый вирусологический ответ у больных с 1, 2 и 3 генотипами ХВГС без признаков цирроза печени при применении терапии Софосбувиром (400 мг) и Даклатасвиром (60 мг) в течение 12 недель. Установлено, что у больных ХВГС в зависимости от генотипа ВГС были обнаружены характерные особенности в фенотипическом составе эффекторных Т-лимфоцитов до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия. При генотипах 1 и 3 ВГС у больных повышалось содержание терминально-дифференцированных эффекторных (TEMRA) Т-хелперов и эффекторной памяти (EM). Только у пациентов с генотипом 2 ВГС в крови понижался уровень

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 812 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Academician Pavlov str., 12, Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 812 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Для цитирования:

Савченко А.А., Цуканов В.В., Кудрявцев И.В., Тонких Ю.Л., Беленюк В.Д., Черепнин М.А., Анисимова А.А., Борисов А.Г. Зависимость фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С от генотипа вируса (до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия) // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1141–1151. doi: 10.15789/2220-7619-ARB-1550

Citation:

Savchenko A.A., Tsukanov V.V., Kudryavtsev I.V., Tonkih J.L., Belenjuk V.D., Cherepnin M.A., Anisimova A.A., Borisov A.G. A relation between T cell phenotypic profile and virus genotype in patients with chronic viral hepatitis (before and after treatment with direct antiviral agents) // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1141–1151. doi: 10.15789/2220-7619-ARB-1550

Т-хелперов EM. Независимо от генотипа ВГС снижалось относительное количество Т-хелперов центральной памяти (СМ). Уровень эффекторных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов у больных ХВГС соответствовал контрольным уровням или превышал их в зависимости от генотипа ВГС. У больных с генотипом 1 ВГС уровень всех исследуемых субпопуляций эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов был равен контрольным значениям. У пациентов с генотипом 2 ВГС в периферической крови повышалось количество наивных цитотоксических Т-клеток и СМ. У больных с генотипом 3 ВГС в крови было увеличено содержание наивных цитотоксических Т-лимфоцитов, СМ и TEMRA. Наибольшая вирусная нагрузка была выявлена у больных ХВГС с генотипом 1 ВГС. Фиброз печени был наиболее выражен у больных ХВГС с генотипами 2 и 3 ВГС. Через 3 месяца лечения препаратами прямого противовирусного действия у больных ХВГС независимо от генотипа ВГС сохранялось сниженное содержание Т-хелперов СМ. Дополнительно к этому у пациентов с генотипами 1 и 3 ВГС выявлялось понижение количества наивных Т-хелперов, а у больных с генотипами 2 и 3 ВГС нормализовывалось содержание наивных цитотоксических Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, вирус гепатита С, генотип, Т-лимфоциты, фенотип, лечение.

A RELATION BETWEEN T CELL PHENOTYPIC PROFILE AND VIRUS GENOTYPE IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS (BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH DIRECT ANTIVIRAL AGENTS)

Savchenko A.A.^a, Tsukanov V.V.^a, Kudryavtsev I.V.^{b,c}, Tonkih J.L.^a, Belenjuk V.D.^a, Cherepnin M.A.^a, Anisimova A.A.^a, Borisov A.G.^a

^a Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to investigate the phenotype of effector T lymphocytes in patients with chronic viral hepatitis C (CVHC) before and after of treatment with direct antiviral drugs depending on the genotype of the virus. 50 patients with CVHC without signs of liver cirrhosis were examined. The diagnosis was made on the basis of epidemiological and clinical laboratory data as recommended by the European Association for the Study of the Liver when specific serological markers of CHCV and RNA of hepatitis C virus (HCV) were detected (EASL, 2016). The determination of HCV RNA was carried out by the method of quantitative polymerase chain reaction in real time. The degree of liver fibrosis in patients with CVHC was assessed using ultrasound elastography. Patients were treated for 3 months with direct antiviral drugs according to the recommendations of the European Association for the Study of the Liver (2016). The control group included 46 practically healthy individuals with severe chronic diseases of various organs and systems excluded during a routine examination, no health complaints, having normal clinical and biochemical blood tests in the absence of markers for viral hepatitis B and C, antibodies to opisthorchis and denying history of alcohol abuse. The study of the subpopulation composition of helper and cytotoxic T lymphocytes was carried out by direct immunofluorescence of whole peripheral blood. We obtained a 100% sustained virological response in patients with 1, 2 and genotypes of CHCV without signs of liver cirrhosis when using therapy with Sofosbuvir (400 mg) and Daclatasvir (60 mg) for 12 weeks. It was found that in CVHC patients were found characteristic features in the phenotypic composition of effector T lymphocytes before and after treatment with direct antiviral drugs in depending on the genotype of HCV. Patients with HCV genotypes 1 and 3 had an increase in the content of terminal differentiated effector (TEMRA) T helpers and effector memory (EM). Only patients with HCV genotype 2 had a decrease in the level of EM T-helper cells in the blood. A decrease in the relative number of T helpers of central memory (CM) was independent of the HCV genotype. The level of effector subpopulations of cytotoxic T lymphocytes in patients with CVHC was consistent with or exceeded control levels in depending on the genotype of HCV. The level of all investigated subpopulations of effector cytotoxic T lymphocytes in patients with HCV genotype 1 was equal to the control values. The number of naïve cytotoxic T cells and CM in peripheral blood in patients with HCV genotype 2 was increased. The content of naïve cytotoxic T lymphocytes, CM and TEMRA in patients with genotype 3 HCV in the blood was increased. The highest viral load was detected in patients with CVHC with genotype 1 HCV. Liver fibrosis was most pronounced in patients with CVHC infection with HCV genotypes 2 and 3. After 3 months of treatment with direct antiviral drugs the patients with CVHC had a reduced content of CM T helpers regardless of the HCV genotype. In addition, patients with HCV genotypes 1 and 3 had a decrease in the number of naïve T helpers and patients with HCV genotypes 2 and 3 had a normalization of the content of naïve cytotoxic T lymphocytes.

Key words: chronic viral hepatitis C, hepatitis C virus, genotype, T lymphocytes, phenotype, treatment.

Введение

Одной из основных причин хронических заболеваний печени является инфекция, вызванная вирусом гепатита С (ВГС). К настоящему времени число инфицированных ВГС людей

в мире составляет более 185 млн человек [8, 25, 26]. Хроническая инфекция ВГС часто сопровождается развитием цирроза печени, гепатоцеллюлярного рака, печеночной недостаточности и, как следствие, тесно связана с неблагоприятным исходом заболевания [12, 28,

33]. Качество оказания медицинской помощи больным хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) значительно улучшилось благодаря современным методам диагностики, лечения и профилактики. Поставлена задача по устранению ВГС с помощью целенаправленных терапевтических стратегий в течении 15–20 лет, хотя прогнозируется, что вторичная смертность, связанная с ВГС-инфекцией, еще будет расти в течение следующих 20 лет [2, 9, 26]. В связи с этим появляется необходимость изучения механизмов развития инфекции ВГС для разработки стратегии предотвращения как самого заболевания, так и его осложнений

Известно, что развитие и исход инфекционного процесса, вызванного ВГС, зависит от состояния иммунной системы [1, 3, 28, 31]. Вероятно, именно иммунитет конкретного человека определяет исход хронической инфекции — от минимальных гистологических изменений до обширного фиброза и цирроза, с гепатоцеллюлярной карциномой или без нее. Ранее были показаны особенности иммунных изменений при вирусных гепатитах и других вирусных инфекциях с выделением типов иммунного реагирования, которые реализуются в широком диапазоне — от отсутствия какой-либо реакции до выраженных изменений в иммунной системе, связанных с развитием иммунодефицитных состояний или гиперреактивных [1].

Ключевую роль в механизмах противовирусного иммунитета (в том числе, и при ВГС) играют Т-лимфоциты. В исследовании Luxenburger Н. и соавт. (2018) показано, что особенности развития Т-клеточного ответа у больных ХВГС тесно связаны с клиническим течением инфекционного процесса [23]. Причем отрицательный вирусный клиренс определялся выраженным ответом со стороны Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Обнаружено, что у больных ХВГС под действием инфекционного процесса развивается ремоделирование фенотипического состава Т-лимфоцитов, которое, прежде всего, реализуется в снижении количества наивных Т-клеток [34]. При этом предполагается, что относительное «старение» Т-лимфоцитов при ХВГС определяется как формированием специфических эффекторных клеток, так и повышенной чувствительностью наивных Т-клеток к апоптозу за счет повышенной экспрессии рецептора PD1 [30, 34].

В ряде исследований отмечается, что терапия ВГС препаратами прямого противовирусного действия практически всегда приводит к полной элиминации вируса и выздоровлению пациентов [2, 12]. Причем эффективность лечения повышается при определении генотипа ВГС [16, 17]. Однако влияние самой терапии на иммунные реакции, в том числе с учетом генотипа ВГС, остается неисследованным. После проведенной терапии интенсивность воспалительного про-

цесса и фиброза печени снижается, но не устраняется, остаются нарушения со стороны специфического Т-клеточного ответа [13, 22]. Все это определяет тот факт, что лечение ВГС не приводит к формированию эффективного защитного иммунитета, следствием чего могут быть повторные инфекции. В связи с этим появляется необходимость изучения показателей Т-клеточного иммунитета у больных ХВГС до и после лечения.

Таким образом, целью исследования было изучение фенотипа эффекторных Т-лимфоцитов у больных ХВГС до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия в зависимости от генотипа вируса.

Материалы и методы

Под наблюдением в клиническом гастроэнтерологическом отделении НИИ медицинских проблем Севера (г. Красноярск) находились 50 больных ХВГС в возрасте $43,4 \pm 8,6$ лет (28 мужчин и 22 женщины). Диагноз устанавливали на основании эпидемиологических и клинико-лабораторных данных при обнаружении специфических серологических маркеров ХВГС и РНК ВГС по рекомендациям Европейской ассоциации по изучению печени (EASL) [18, 19]. Фиброз печени изучался методом сдвиговой волны транзитной эластометрии с применением ультразвуковых систем Aixplorer (Франция) или Siemens Acuson S2000 (Германия). Оценка фиброза проводилась по шкале METAVIR. Выделялось 4 степени фиброза в зависимости от выявляемых показателей эластичности печени: F0 — фиброз отсутствует ($\leq 5,8$ кПа); F1 — портальный и перипортальный фиброз без септ ($5,9–7,2$ кПа); F2 — портальный и перипортальный фиброз с единичными септами ($7,3–9,5$ кПа); F3 — портальный и перипортальный фиброз со множественными мостовидными порто-портальными и порто-центрными септами ($9,6–12,5$ кПа); F4 — цирроз ($\geq 12,6$ кПа).

Лечение больных ХВГС осуществляли на основании рекомендаций EASL 2016 г. [18]. Все 50 пациентов с проводимой терапией были «наивными» (ранее не лечились противовирусными препаратами) и не имели цирроза печени (стадия F0–F3 по METAVIR). 19 больных с ХВГС имели 1 генотип вируса С (у 11 больных определялся фиброз печени F0–F1 по METAVIR, у 4 лиц — фиброз F2 по METAVIR, у 4 больных — фиброз F3 по METAVIR), у 15 пациентов диагностировался 2 генотип вируса С (у 6 лиц был обнаружен фиброз печени F0–F1 по METAVIR, у 3 пациентов — фиброз F2 по METAVIR и у 6 больных — фиброз F3 по METAVIR), 3 генотип вируса С был выявлен у 16 человек (у 8 пациентов регистрировали фиброз печени F0–F1 по METAVIR, у 3 лиц — фиброз F2 по METAVIR, у 5 больных — фиброз F3 по METAVIR). Все 50 человек получали препараты прямого про-

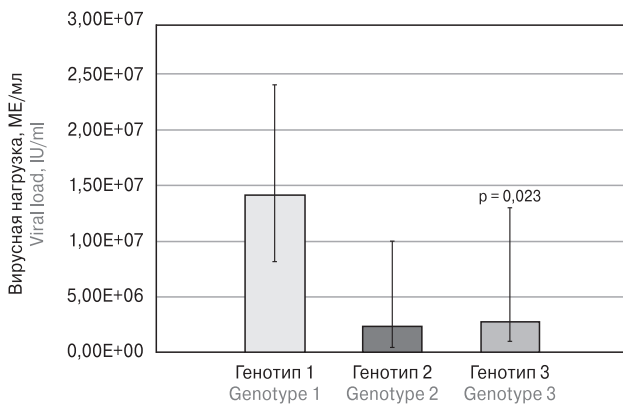


Рисунок. Вирусная нагрузка у больных ХВГС с разными генотипами ВГС

Figure 1. Viral load in patients with CVHC related to various HCV genotypes

тивовирусного действия Софосбувир (400 мг) и Даклатасвир (60 мг) 1 раз в сутки в течение 12 недель. Клинический и лабораторный контроль с определением количества РНК вируса гепатита С методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли до начала лечения ХВГС, через 4 недели терапии, в момент окончания лечения и через 24 недели после окончания терапии. Приверженность приема препаратов оценивалась с использованием теста Мориски–Грина (Morisky–Green Test) [15].

В контрольную группу вошли 46 практически здоровых лиц, у которых во время профилактического осмотра были исключены выраженные хронические заболевания различных органов и систем, отсутствовали жалобы на состояние

здоровья и определялись соответствовавшие норме показатели клинического и биохимического анализов крови при отсутствии маркеров к вирусным гепатитам В и С, антител к описторхисам; факт злоупотребления алкоголем в анамнезе отрицался.

Определение содержания РНК ВГС осуществляли методом количественной ПЦР в реальном времени на приборе Biorad CFX96 Real Time System (BioRad Laboratories, США) с помощью тест-системы Abbott RealTime HCV test® (Abbott, США). Генотип ВГС определяли с помощью набора VERSANT® HCV Amplification 2.0 (LiPA) (Siemens, Германия). Степень фиброза печени у больных ХВГС оценивали с помощью ультразвуковой эластографии на аппарате FibroScan 502 (Echosens, Франция).

Исследование субпопуляционного состава хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов осуществляли методом прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), APC (allophycocyanin), AA700 (alexa fluor 700) и AA750 (alexa fluor 750) в следующей панели: CD45RO-FITC/CD62L-ECD/CD4-APC/CD3-AA700/CD45-AA750. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствие с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [7]. Пробоподготовку выполняли по стандартной методике [29]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США)

Таблица 1. Фенотипический состав CD4+ Т-лимфоцитов у больных ХВГС до лечения в зависимости от генотипа ВГС (Ме [Q1–Q3])

Table 1. Phenotypic profile of CD4+ T lymphocytes in patients with CVHC before treatment related to HCV genotype (Ме [Q1–Q3])

Показатели Parameters	Контроль Control n = 46	Больные ХВГС/Patients with CVHC		
		Генотип 1 Genotype 1 n = 18	Генотип 2 Genotype 2 n = 15	Генотип 3 Genotype 3 n = 17
CD3+CD4+, 10 ⁹ /L	0,83 (0,56–1,16)	0,94 (0,84–1,15)	0,73 (0,62–0,84)	0,95 (0,80–1,31)
			p ₂ = 0,013	p ₃ = 0,013
CD3+CD4+CD45RO-CD62L+, %	14,6 (12,4–18,5)	12,0 (8,6–15,6)	14,8 (10,9–19,5)	14,0 (8,4–15,7)
CD3+CD4+CD45RO+CD62L+, %	19,2 (16,7–23,0)	12,4 (11,5–17,4)	12,5 (7,9–15,4)	14,3 (12,1–15,1)
		p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001
CD3+CD4+CD45RO+CD62L-, %	10,6 (9,0–13,1)	15,6 (13,1–19,8)	7,8 (6,6–9,0)	12,4 (10,6–16,4)
		p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,010 p ₂ < 0,001	p ₁ = 0,037 p ₃ < 0,001
CD3+CD4+CD45RO-CD62L-, %	0,29 (0,12–0,95)	2,33 (0,84–4,77)	0,70 (0,29–1,38)	1,47 (0,60–2,17)
		p ₁ < 0,001	p ₂ = 0,021	p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,044

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 1 ВГС; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 2 ВГС.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with genotype 1 HCV; p₃ — statistically significant differences versus patients with genotype 2 HCV.

Центра коллективного пользования КНЦ СО РАН. Обработку полученных цитофлуориметрических результатов осуществляли с помощью программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza v. 2.1.1 (Beckman Coulter, США). Т-хелперы (Th) и цитотоксические Т-клетки (Тсyt) в зависимости от уровней экспрессии CD45RO и CD62L разделяли на четыре основные субпопуляции: «наивные» клетки с фенотипом CD45RO⁻CD62L⁺, клетки центральной (СМ) и эффекторной (ЕМ) памяти (фенотипы CD45RO⁺CD62L⁺ и CD45RO⁺CD62L⁻ соответственно), а также «терминально-дифференцированные» эффекторные клетки (TEMRA, CD45RO⁻CD62L⁻). В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей (Q₁–Q₃). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). Достоверность различий показателей в группах больных до и после лечения (связанные выборки) определяли по критерию Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции

по Спирмену (Spearman rank R). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

Лечение Софосбувиром и Даклатасвиром в течение 12 недель у наивных больных ХВГС без цирроза печени позволило получить 100%-ный устойчивый вирусологический ответ (УВО, определяется через 6 месяцев после окончания лечения) у всех пациентов, принявших участие в исследовании. То есть мы не получили различий в ответе на лечение Софосбувиром и Даклатасвиром у пациентов с 1, 2 и 3 генотипами вируса С.

Вирусная нагрузка у больных ХВГС в зависимости от генотипа ВГС представлена на рис. 1. Обнаружено, что у больных с генотипом 1 ВГС уровень вирусной нагрузки выше, чем у пациентов с генотипами 2 и 3 ВГС. После лечения препаратами прямого противовирусного действия только среди больных с генотипом 2 ВГС обнаружены два пациента, у которых выявляется вирусная нагрузка ($7,60 \times 10^4$ МЕ/мл и $1,40 \times 10^6$ МЕ/мл). С помощью теста Мориски–Грина оба пациента были признаны некомплаентными. В связи с этим анализ особенностей фенотипа эффекторных Т-лимфоцитов после лечения для этих двух пациентов не производился.

При исследовании иммунологических показателей у больных ХВГС в зависимости от генотипа ВГС обнаружено, что у пациентов с генотипом 2 ВГС в периферической крови понижено абсолютное количество CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов относительно уровней, выявленных у больных с генотипами 1 и 3 ВГС (табл. 1). Независимо от генотипа

Таблица 2. Фенотипический состав CD4⁺ Т-лимфоцитов у больных ХВГС до лечения в зависимости от генотипа ВГС (Me [Q₁–Q₃])

Table 2. Phenotypic profile of CD4⁺ T lymphocytes in patients with CVHC before treatment related to HCV genotype (Me [Q₁–Q₃])

Показатели Parameters	Контроль Control n = 46	Больные ХВГС/Patients with CVHC		
		Генотип 1 Genotype 1 n = 18	Генотип 2 Genotype 2 n = 15	Генотип 3 Genotype 3 n = 17
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,55 (0,37–0,80)	0,49 (0,42–0,79)	0,67 (0,49–0,78)	0,72 (0,67–1,02)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁻ CD62L ⁺ , %	5,9 (3,7–9,1)	7,1 (6,6–8,2)	10,2 (6,7–13,6)	9,1 (6,9–11,5)
			p ₁ = 0,021	p ₁ = 0,035
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD62L ⁺ , %	2,6 (1,8–3,8)	3,7 (2,5–4,8)	5,0 (3,6–6,0)	4,4 (2,3–5,7)
			p ₁ = 0,003	p ₁ = 0,036
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD62L ⁻ , %	8,4 (6,2–11,6)	8,0 (5,9–10,3)	9,8 (7,5–12,6)	8,7 (6,0–13,5)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁻ CD62L ⁻ , %	6,5 (4,1–10,0)	9,7 (5,2–11,5)	6,1 (3,3–10,0)	11,7 (6,1–15,6)
				p ₁ = 0,030 p ₃ = 0,043

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 1 ВГС; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 2 ВГС.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with genotype 1 HCV; p₃ — statistically significant differences versus patients with genotype 2 HCV.

Таблица 3. Фенотипический состав CD4⁺ Т-лимфоцитов у больных ХВГС после лечения в зависимости от генотипа ВГС (Ме [Q₁–Q₃])Table 3. Phenotypic profile of CD4⁺ T lymphocytes in patients with CVHC after treatment related to HCV genotype (Ме [Q₁–Q₃])

Показатели Parameters	Контроль Control n = 46	Больные ХВГС/Patients with CVHC		
		Генотип 1 Genotype 1 n = 18	Генотип 2 Genotype 2 n = 15	Генотип 3 Genotype 3 n = 17
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /L	0,83 (0,56–1,16)	3,19 (2,61–3,53)	2,09 (1,71–2,42)	2,70 (2,38–3,02)
		p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,019	0,72 (0,67–1,02)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁻ CD62L ⁺ , %	14,6 (12,4–18,5)	8,7 (7,1–15,9)	10,7 (7,7–15,1)	10,6 (6,6–13,6)
		p ₁ = 0,039		p ₁ = 0,041
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD62L ⁺ , %	19,2 (16,7–23,0)	13,5 (9,3–16,6)	16,1 (11,1–18,9)	13,8 (12,7–18,9)
		p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,042	p ₁ = 0,015
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ CD62L ⁻ , %	10,6 (9,0–13,1)	20,1 (14,2–25,6)	10,3 (8,4–11,7)	12,7 (11,8–15,1)
		p ₁ < 0,001	p ₂ < 0,001	p ₂ = 0,026
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁻ CD62L ⁻ , %	0,29 (0,12–0,95)	1,81 (1,12–2,38)	1,0 (0,5–2,6)	1,0 (0,6–2,1)
		p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,027	p ₁ = 0,017

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 1 ВГС; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 2 ВГС.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with genotype 1 HCV; p₃ — statistically significant differences versus patients with genotype 2 HCV.

ВГС у обследованных пациентов процентное количество СМ Th было ниже контрольных значений. Относительное содержание ЕМ Th у больных с генотипом 2 ВГС понижено в сравнении с контрольными величинами, тогда как при генотипах 1 и 3 ВГС выявляется повышение уровня данной фракции клеток. У больных с генотипами 1 и 3 ВГС в крови количество ТЕМРА Th выше контрольного диапазона, в то время как у обследованных пациентов с генотипом 2 ВГС относительный уровень лимфоцитов с данным фенотипом ниже, чем у больных с другими генотипами ВГС.

У больных ХВГС до начала лечения в зависимости от генотипа вируса также выявляются изменения субпопуляционного состава CD4⁻ Т-лимфоцитов (табл. 2). Так, у пациентов с генотипами 2 и 3 ВГС в периферической крови повышается процентное содержание наивных и СМ Тсу_т относительно контрольных значений. Только у больных с генотипом 3 ВГС уровень содержания зрелых эффекторных клеток популяции ТЕМРА увеличивается относительно контрольного диапазона и уровня, выявленного у пациентов с генотипом 2 ВГС.

Таблица 4. Субпопуляционный состав CD4⁻ Т-лимфоцитов у больных ХВГС после лечения в зависимости от генотипа ВГС (Ме [Q₁–Q₃])Table 4. Phenotypic profile of CD4⁻ T lymphocytes in patients with CVHC after treatment related to HCV genotype (Ме [Q₁–Q₃])

Показатели Parameters	Контроль Control n = 46	Больные ХВГС/Patients with CVHC		
		Генотип 1 Genotype 1 n = 18	Генотип 2 Genotype 2 n = 15	Генотип 3 Genotype 3 n = 17
CD3 ⁺ CD4 ⁻ , 10 ⁹ /L	0,55 (0,37–0,80)	1,63 (1,10–2,28)	2,01 (1,77–2,13)	2,64 (1,47–3,50)
		p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD45RO ⁻ CD62L ⁺ , %	5,9 (3,7–9,1)	4,7 (3,5–7,9)	5,4 (3,9–9,3)	6,3 (5,1–9,7)
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD45RO ⁺ CD62L ⁺ , %	2,6 (1,8–3,8)	3,4 (2,2–4,9)	4,0 (2,7–7,8)	5,1 (3,4–9,7)
			p ₁ = 0,046	p ₁ = 0,003
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD45RO ⁺ CD62L ⁻ , %	8,4 (6,2–11,6)	7,0 (4,0–9,6)	9,5 (7,0–18,8)	8,1 (5,2–15,0)
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD45RO ⁻ CD62L ⁻ , %	6,5 (4,1–10,0)	7,6 (2,9–11,5)	9,0 (4,6–18,8)	13,5 (4,6–14,3)
				p ₁ = 0,011

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 1 ВГС; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных с генотипом 2 ВГС.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with genotype 1 HCV; p₃ — statistically significant differences versus patients with genotype 2 HCV.

С помощью корреляционного анализа установлено, что у больных с генотипом 1 ВГС со степенью вирусной нагрузки отрицательно взаимосвязан относительный уровень Тh-эффекторной памяти ($r = -0,53$, $p = 0,030$) и положительно — содержание наивных Тh ($r = 0,58$, $p = 0,014$) и наивных Тcyt ($r = 0,44$, $p = 0,042$). У больных с генотипом 2 ВГС со степенью вирусной нагрузки отрицательно коррелируют относительные уровни СМ Тcyt ($r = -0,62$, $p = 0,043$) и ТЕМРА Тcyt ($r = -0,68$, $p = 0,037$). У пациентов с генотипом 3 ВГС корреляционных взаимосвязей между степенью вирусной нагрузки и субпопуляционным составом Т-лимфоцитов не обнаружено.

После лечения препаратами прямого противовирусного действия у больных ХВГС в периферической крови повышается абсолютное содержание CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов (табл. 3). При этом у больных с генотипом 2 ВГС по сравнению с больными с генотипами 1 и 3 ВГС обнаруживается минимальный уровень клеток с указанным фенотипом. У больных с генотипами 1 и 3 ВГС процентное количество наивных Т-хелперов снижено относительно контрольного диапазона. Независимо от генотипа вируса гепатита С у обследованных пациентов снижается содержание Т-хелперов центральной памяти и повышается уровень «терминально-дифференцированных» Т-хелперов по сравнению с контрольными значениями. Только у больных с генотипом 1 ВГС после проведенного лечения в крови повышается количество ЕМ Тh как относительно контрольного диапазона, так и уровней, выявленных у пациентов с генотипами 2 и 3 ВГС.

После проведенного лечения у больных ХВГС независимо от генотипа ВГС в крови повышается абсолютное количество цитотоксических Т-лимфоцитов (табл. 4). При этом у больных с генотипами 2 и 3 ВГС выявляется повышение процентного содержания СМ Тcyt относительно контрольного диапазона, и только у больных с генотипом 3 ВГС в результате проведенного лечения увеличивается уровень ТЕМРА Тcyt.

При сравнении субпопуляционного состава Т-лимфоцитов крови у больных ХВГС до и через 3 мес. лечения обнаружено, что у пациентов с генотипом 1 ВГС возрастает абсолютное содержание как Т-хелперов ($p = 0,028$), так и цитотоксических Т-клеток ($p = 0,027$), а также увеличивается процентный уровень ТЕМРА Тh (см. табл. 1–4). У больных с генотипом 2 ВГС в результате проведенного лечения также увеличивается абсолютное содержание Тh ($p = 0,015$) и Тcyt ($p = 0,031$). Кроме того, у лиц данной группы через 3 мес. лечения наблюдается снижение процентного количества наивных Тcyt ($p = 0,040$) и увеличение содержания зрелых эффекторов популяции ТЕМРА Тcyt ($p = 0,029$). У больных с генотипом 3 ВГС в результате проведенного лечения выявляется только повышение абсолютного количества Тh ($p = 0,024$) и Тcyt ($p = 0,009$).

Обсуждение

Высокая эффективность лечения больных с хроническим вирусным гепатитом С препаратами прямого противовирусного действия в нашем исследовании соответствует современным данным. За короткое время произошла революция в терапии данной патологии [21].

В процессе формирования эффекторных субпопуляций Т-лимфоциты проходят два этапа развития: антиген-независимая дифференцировка в тимусе и антиген-зависимая дифференцировка в периферических органах иммунной системы [4, 11]. Первый этап завершается выходом из тимуса в циркуляцию наивных Т-лимфоцитов, на втором этапе (после активации специфическим антигеном и антиген-зависимой дифференцировки) происходит формирование клеток центральной памяти и эффекторной памяти, а также зрелых эффекторных клеток популяции ТЕМРА [4, 20]. Процесс дифференцировки Т-лимфоцитов можно контролировать по изоформе рецептора CD45, который представляет собой трансмембранный белок с тирозинфосфатазной активностью. Внеклеточная белковая часть CD45 кодируется 7 экзонами. В наивных Т-лимфоцитах в этот участок рецептора входят все домены, что обозначается как CD45RA (с молекулярной массой в 220 kDa). В процессе антиген-зависимой дифференцировки осуществляется альтернативный сплайсинг участков РНК, в результате которого теряется часть внеклеточных доменов молекулы CD45 и она трансформируется через переходные формы в CD45R0 (с молекулярной массой в 180 kDa) [4, 11]. ТЕМРА Т-лимфоциты также экспрессируют CD45RA [4, 32]. Следовательно, Т-лимфоциты, экспрессирующие CD45R0, определяются как Т-клетки памяти (СМ и ЕМ), тогда как не экспрессирующие данную молекулу относятся к «наивным» и ТЕМРА.

Другой молекулой, которая экспрессируется на Т-лимфоцитах, определяя их субпопуляцию, является CD62L. Данная молекула является L-селектином, который определяет миграцию клеток в периферические лимфоидные органы, так как его лигандами на эндотелии являются GlyCAM-1 (молекула клеточной адгезии, экспрессированная на эндотелии лимфоузлов), MadCAM-1 (белок эндотелия в лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником) и CD34 (белок эндотелиальных клеток) [4, 6, 24]. Соответственно, CD62L-рецептор экспрессируется на наивных Т-лимфоцитах и СМ-клетках (определяя их миграцию в периферическую лимфоидную ткань) и не экспрессируется на ЕМ-клетках и ТЕМРА (их функция выполняется вне лимфоидных органов) [6, 20, 32].

Исходя из состава рецепторных молекул на поверхности Т-лимфоцитов, можно определить, что до начала проведения терапии препаратами

прямого противовирусного действия у больных ХВГС с генотипами 1 и 3 ВГС в периферической крови по сравнению с контрольными значениями понижается процентное содержание Т-хелперов СМ и повышается количество ЕМ и TEMRA. Только у больных ХВГС с генотипом 1 ВГС выявляются взаимосвязи между содержанием Т-хелперов и величиной вирусной нагрузки: положительная связана с уровнем наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов и отрицательная — с количеством Т-хелперов ЕМ. Данные взаимосвязи отражают развитие следующих механизмов реагирования Т-хелперов на инфекционный процесс. Во-первых, ВГС 1 генотипа стимулирует антиген-независимую дифференцировку Т-хелперов и их выход из тимуса в кровь. При этом экспрессия CD62L-рецептора позволяет им быстро мигрировать в периферическую лимфоидную ткань, что, соответственно, не приводит к повышению их количества в крови. Во-вторых, популяция Т-хелперов ЕМ преимущественно представлена зрелыми эффекторными клетками, которые осуществляют активный синтез и секрецию цитокинов, а также экспрессию на мембране эффекторных молекул [4]. Их количество определяется механизмами антиген-зависимой дифференцировки, причем именно у больных ХВГС с генотипом 1 ВГС обнаружена наиболее выраженная вирусная нагрузка. При генотипе 2 ВГС наблюдаются наиболее низкие значения абсолютного количества Т-хелперов, выявляемые у больных ХВГС, а также понижение уровней CD4⁺-клеток СМ и ЕМ.

Фенотипический состав цитотоксических Т-лимфоцитов периферической крови у больных ХВГС с генотипом 1 ВГС до начала лечения препаратами прямого противовирусного действия аналогичен значениям контрольной группы. Между тем у больных данной группы выявляется положительная корреляционная связь величины вирусной нагрузки с уровнем наивных T_{scut}, что, по-видимому, определяется механизмами стимуляции антиген-независимой дифференцировки. При генотипе 2 ВГС выявляется повышение количества наивных и СМ T_{scut}. Кроме того, у лиц данной группы обнаружены отрицательные взаимосвязи величины вирусной нагрузки с уровнями СМ и ЕМ T_{scut}, что характеризует наличие стимуляции антиген-зависимой дифференцировки и формирования специфического Т-клеточного ответа при инфекционном процессе. У больных с генотипом 3 ВГС до начала проведения терапии препаратами прямого противовирусного действия в крови относительно контрольных значений повышаются уровни наивных T_{scut}, СМ и TEMRA. При этом необходимо учитывать, что уровень экспрессии перфоринов и гранзимов в цитотоксических Т-лимфоцитах повышается при их дифференцировке от наивных (минимальное внутриклеточное содержание), через Т-клетки СМ и ЕМ

до TEMRA (максимальное количество) [5]. Следовательно, при генотипе 3 наблюдается наиболее выраженный эффекторный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов.

Через 3 месяца лечения препаратами прямого противовирусного действия у больных ХВГС наблюдается повышение абсолютного содержания Т-хелперов в периферической крови (при генотипе 1 ВГС — в 3,4 раза, при генотипе 2 — в 2,9 раза, при генотипе 3 — в 2,8 раза). При этом при генотипе 1 и 3 ВГС выявляется снижение процентного количества наивных Т-хелперов и центральной памяти, но на фоне повышения уровней Т-хелперов ЕМ и TEMRA. У больных с генотипом 2 ВГС после лечения обнаружено снижение уровня Т-хелперов СМ и повышение содержания TEMRA. Кроме того, у больных ХВГС через 3 месяца лечения препаратами прямого противовирусного действия наблюдается повышение абсолютного количества цитотоксических Т-лимфоцитов (при генотипе 1 ВГС — в 3,3 раза, при генотипе 2 — в 3,0 раза, при генотипе 3 — в 3,7 раза). Причем при генотипе 1 ВГС отсутствуют изменения в процентном содержании наивных и эффекторных T_{scut} относительно контрольных значений (как и до лечения). При генотипе 2 ВГС у больных после лечения обнаружено снижение содержания наивных T_{scut} и повышение уровня TEMRA относительно показателей, которые выявлялись у данной группы обследованных до лечения. У больных ХВГС с генотипом 3 ВГС после терапии препаратами прямого противовирусного действия сохраняются особенности соотношения эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов, которые выявлялись до лечения: повышение процентного количества цитотоксических Т-клеток СМ и TEMRA.

Изменение в количестве эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов в крови у больных ХВГС до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия также можно рассматривать с позиций концепции иммунного истощения. В настоящее время под иммунным истощением понимается снижение количества или функциональной активности антиген-специфических Т-лимфоцитов в условиях длительной персистенции антигена [10]. Показано, что при ХВГС повышается уровень апоптоза Т-лимфоцитов, снижается цитокин-продуцирующая активность CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, а также киллерная активность цитотоксических Т-лимфоцитов [14, 27]. В нашем исследовании у больных ХВГС до начала лечения препаратами прямого противовирусного действия, исходя из количественного состава эффекторных Т-лимфоцитов в крови, выраженного иммунного истощения не обнаружено, в частности уровень TEMRA Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов либо соответствует контрольным значениям, либо превы-

шает их. Единственным показателем, который в крови больных ХВГС независимо от генотипа ВГС снижен по сравнению с контрольным диапазоном, является процентное содержание СМ Т-хелперов. Наихудший вариант обнаружен при генотипе 2 ВГС: у пациентов данной группы относительно контрольного диапазона и показателей больных с генотипом 1 и 3 ВГС понижено содержание ЕМ Th. Через 3 месяца лечения пониженный уровень СМ Th в крови у больных ХВГС сохраняется, при этом у пациентов с генотипами 1 и 3 ВГС выявляется снижение количества наивных Т-хелперов. У больных с генотипами 2 и 3 ВГС содержание наивных Тсyt становится равным контрольным значениям. Можно предположить, что до начала лечения у больных ХВГС состояние иммунного истощения преимущественно определялось не количественными изменениями эффекторных Т-лимфоцитов в крови, а их функциональной активностью. После лечения количество пониженных относительно нормы показателей возрастает, тогда как выраженного увеличения уровней эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов не выявляется. Следовательно, на фоне элиминации ВГС восстановления реактивности иммунной системы не наблюдается.

Заключение

Нами получен 100% УВО у «наивных» больных с 1, 2 и 3 генотипами ХВГС без признаков цирроза печени при применении терапии Софосбувиром (400 мг) и Даклатасвиром (60 мг) в течение 12 недель. У больных ХВГС в зависимости от генотипа ВГС обнаружены характерные особенности в фенотипическом составе эффекторных Т-лимфоцитов до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия. При генотипах 1 и 3 ВГС у больных повышалось содержание Т-хелперов ЕМ и ТЕМРА. Только у пациентов с генотипом 2 ВГС в крови снижался уровень Т-хелперов ЕМ. Независимо от генотипа ВГС было снижено относительное количество Т-хелперов СМ. Уровень эффекторных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов у боль-

ных ХВГС соответствовал контрольным значениям или превышал их в зависимости от генотипа ВГС. У больных с генотипом 1 ВГС уровень всех исследуемых субпопуляций эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов был равен контрольным значениям. У пациентов с генотипом 2 ВГС в периферической крови повышалось количество наивных и СМ цитотоксических Т-клеток. У больных с генотипом 3 ВГС в крови было увеличено содержание наивных цитотоксических Т-лимфоцитов, СМ и ТЕМРА. Необходимо отметить, что наибольшая вирусная нагрузка выявлялась у больных ХВГС с генотипом 1 ВГС. Только у этой группы больных количество наивных Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в крови было положительно взаимосвязано с уровнем вирусной нагрузки. У пациентов с генотипом 2 ВГС содержание Т-хелперов СМ и ЕМ отрицательно коррелировало с уровнем вирусной нагрузки. В то же время фиброз печени был наиболее выражен у больных ХВГС с генотипами 2 и 3 ВГС: фиброз тяжелой степени у данных групп больных выявлялся в 37,5 и 38,4% соответственно, против 23,1% у пациентов с генотипом 1 ВГС. Через 3 месяца лечения препаратами прямого противовирусного действия у больных ХВГС независимо от генотипа ВГС сохранялось сниженное содержание Т-хелперов СМ. Кроме этого, у пациентов с генотипами 1 и 3 ВГС выявлялось понижение количества наивных Т-хелперов, а у больных с генотипами 2 и 3 ВГС наблюдалась нормализация содержания наивных цитотоксических Т-лимфоцитов. Предполагается, что до начала лечения препаратами прямого противовирусного действия состояние иммунного истощения, связанного с длительной персистенцией вируса в организме, преимущественно определяется сниженной функциональной активностью эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов, а не их количеством. Однако концепция иммунного истощения подтверждается состоянием Т-клеточного иммунитета у больных ХВГС после лечения: через 3 месяца эффективной терапии (практически при полной элиминации вируса из организма) восстановления иммунной системы не происходит.

Список литературы/References

1. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В. Особенности иммунного реагирования при вирусных инфекциях // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 2. С. 148–156. [Borisov G.A., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V. Features of the immune response during viral infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 148–156. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-148-156
2. Борисов А.Г., Савченко А.А., Тихонова Е.П. Современные методы лечения вирусного гепатита С. Красноярск: НИИ медицинских проблем Севера, 2017. 74 с. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Tikhonova E.P. Modern methods of treating viral hepatitis C. *Krasnoyarsk: Research Institute of Medical Problems of the North*, 2017. 74 p. (In Russ.)]
3. Елезов Д.С., Кудрявцев И.В., Арсентьева Н.А., Семенов А.В., Эсауленко Е.В., Басина В.В., Тотолян А.А. Анализ субпопуляций Т-хелперов периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом С, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR6 и активационные маркеры CD38 и HLA-DR // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 4. С. 327–334. [Elezov D.S., Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Semenov A.V., Esaulenko E.V., Basina V.V., Totolian A.A. Analysis of T-helper subsets of peripheral blood of patients with chronic hepatitis C expressing chemokine receptors CXCR3 and CCR6 and activation markers CD38 and HLA-DR. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 4, pp. 327–334. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-4-327-334

4. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: Уральское отделение РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in biomedical research. *Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. 720 p. (In Russ.)*]
5. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Васильева Е.В., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян Арег А. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 2. С. 227–240. [Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Vasilyeva E.V., Krobinec I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian Areg A. Phenotypic characterisation of peripheral blood cytotoxic T lymphocytes: regulatory and effector molecules. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2018, vol. 20, no. 2, pp. 227–240. (In Russ.)* doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-227-240
6. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К. Определение основных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов методом многоцветной проточной цитометрии // Медицинская иммунология. 2015, Т. 17, № 6. С. 525–538. [Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinec I.I., Savchenko A.A., Serebryakova M.K. Multicolor flow cytometric analysis of cytotoxic T cell subsets. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2015, vol. 17, no. 6, pp. 525–538. (In Russ.)* doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-525-538
7. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 1. С. 19–26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2015, vol. 17, no. 1, pp. 19–26. (In Russ.)* doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26
8. Орлова С.Н., Басханова М.В. Эффективность противовирусной терапии хронического гепатита С у пациентов с недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2019. № 2. С. 61–67. [Orlova S.N., Baskhanova M.V. Efficiency of antiviral therapy for chronic hepatitis c in patients with undifferentiated connective tissue dysplasia. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, 2019, no. 2, pp. 64–67. (In Russ.)* doi: 10.18565/epidem.2019. 2.61-67
9. Щаницына С.Е., Бурневич Э.З., Никулкина Е.Н., Филатова А.Л., Моисеев С.В., Мухин Н.А. Факторы риска неблагоприятного прогноза хронического гепатита С // Терапевтический архив. 2019. Т. 91, № 2. С. 59–66. [Shchanitsyna S.E., Burnevich E.Z., Nikulkina E.N., Filatova A.L., Moiseev S.V., Mukhin N.A. Risk factors of unfavorable prognosis of chronic hepatitis C. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive, 2019, vol. 91, no. 2, pp. 59–66. (In Russ.)* doi: 10.26442/ 00403660. 2019.02.000082
10. Южанинова С.В., Сайдакова Е.В. Феномен иммунного истощения // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137, № 1. С. 70–83. [Yuzhaninova S.V., Saidakova E.V. Immune exhaustion. *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances in Modern Biology, 2017, vol. 137, no. 1, pp. 70–83. (In Russ.)*]
11. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunologiya. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p. (In Russ.)]
12. Ahmed M. Era of direct acting anti-viral agents for the treatment of hepatitis C. *World J. Hepatol., 2018, vol. 10, no. 10, pp. 670–684. doi: 10.4254/wjh.v10.i10.670*
13. Aregay A., Owusu Sekyere S., Deterding K., Port K., Dietz J., Berkowski C., Sarrazin C., Manns M.P., Cornberg M., Wedemeyer H. Elimination of hepatitis C virus has limited impact on the functional and mitochondrial impairment of HCV-specific CD8⁺ T cell responses. *J. Hepatol., 2019, vol. 71, no. 5, pp. 889–899. doi: 10.1016/j.jhep.2019.06.025*
14. Barathan M., Mohamed R., Yong Y.K., Kannan M., Vadivelu J., Saeidi A., Larsson M., Shankar E.M. Viral persistence and chronicity in hepatitis C virus infection: role of T-cell apoptosis, senescence and exhaustion. *Cells, 2018, vol. 7, no. 10: E165. doi: 10.3390/cells7100165*
15. Ben A.J., Neumann C.R., Mengue S.S. The brief medication questionnaire and Morisky–Green test to evaluate medication adherence. *Rev. Saude Publica, 2012, vol. 46, no. 2, pp. 279–289. doi: 10.1590/s0034-89102012005000013*
16. Cuypers L., Ceccherini-Silberstein F., Van Laethem K., Li G., Vandamme A.M., Rockstroh J.K. Impact of HCV genotype on treatment regimens and drug resistance: a snapshot in time. *Rev. Med. Virol., 2016, vol. 26, no. 6, pp. 408–434. doi: 10.1002/rmv.1895*
17. Deming P., Martin M.T., Chan J., Dilworth T.J., El-Lababidi R., Love B.L., Mohammad R.A., Nguyen A., Spooner L.M., Wortman S.B. Therapeutic advances in HCV genotype 1 infection: insights from the society of infectious diseases pharmacists. *Pharmacotherapy, 2016, vol. 36, no. 2, pp. 203–217. doi: 10.1002/phar.1700*
18. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2016. *J. Hepatol., 2017, vol. 66, no. 1, pp. 153–194. doi: 10.1016/j.jhep.2016.09.001*
19. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J. Hepatol., 2018, vol. 69, no. 2, pp. 461–511. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.026*
20. Egui A., Ledesma D., Pérez-Antón E., Montoya A., Gómez I., Robledo S.M., Infante J.J., Vélez I.D., López M.C., Thomas M.C. Phenotypic and functional profiles of antigen-specific CD4(+) and CD8(+) T Cells associated with infection control in patients with cutaneous leishmaniasis. *Front. Cell Infect. Microbiol., 2018, vol. 8: 393. doi: 10.3389/fcimb.2018.00393*
21. Ghany M.G., Morgan T.R.; AASLD-IDSА Hepatitis C Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the study of Liver Diseases-Infectious Diseases Society of America recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C virus infection. *Hepatology, 2020, vol. 71, no. 2, pp. 686–721. doi: 10.1002/hep.31060*
22. Lin M., Kramer J., White D., Cao Y., Tavakoli-Tabasi S., Madu S., Smith D., Asch S.M., El-Serag H.B., Kanwal F. Barriers to hepatitis C treatment in the era of direct-acting anti-viral agents. *Aliment Pharmacol. Ther., 2017, vol. 46, no. 10, pp. 992–1000. doi: 10.1111/apt.14328*
23. Luxenburger H., Neumann-Haefelin C., Thimme R., Boettler T. HCV-specific T cell responses during and after chronic HCV infection. *Viruses, 2018, vol. 10, no. 11: E645. doi: 10.3390/v10110645*
24. Mangare C., Tischer-Zimmermann S., Riese S.B., Dragon A.C., Prinz I., Blasczyk R., Maecker-Kolhoff B., Eiz-Vesper B. Robust identification of suitable T-cell subsets for personalized CMV-specific T-cell immunotherapy using CD45RA and CD62L microbeads. *Int. J. Mol. Sci., 2019, vol. 20, no. 6: E1415. doi: 10.3390/ijms20061415*
25. Modin L., Arshad A., Wilkes B., Benselin J., Lloyd C., Irving W.L., Kelly D.A. Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection among children and young people. *J. Hepatol., 2019, vol. 70, no. 3, pp. 371–378. doi: 10.1016/j.jhep.2018.11.013*
26. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol., 2017, vol. 2, no. 3, pp. 161–176. doi: 10.1016/S2468-1253(16)30181-9*

27. Saeidi A., Zandi K., Cheok Y.Y., Saeidi H., Wong W.F., Lee C.Y.Q., Cheong H.C., Yong Y.K., Larsson M., Shankar E.M. T-cell exhaustion in chronic infections: reversing the state of exhaustion and reinvigorating optimal protective immune responses. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 2569. doi: 10.3389/fimmu.2018.02569
28. Stevenson T.J., Barbour Y., McMahon B.J., Townshend-Bulson L., Hewitt A.M., Espera H.G.F., Homan C., Holck P., Luna S.V., Knall C., Simons B.C. Observed changes in natural killer and T cell phenotypes with evaluation of Immune outcome in a longitudinal cohort following Sofosbuvir-based therapy for chronic hepatitis C infection. *Open Forum Infect. Dis.*, 2019, vol. 6, no. 6: ofz223. doi: 10.1093/ofid/ofz223
29. Sutherland D.R., Ortiz F., Quest G., Illingworth A., Benko M., Nayyar R., Marinov I. High-sensitivity 5-, 6-, and 7-color PNH WBC assays for both Canto II and Navios platforms. *Cytometry B Clin. Cytom.*, 2018, vol. 94, no. 4, pp. 637–651. doi: 10.1002/cyto.b.21626
30. Telatin V., Nicoli F., Frasson C., Menegotto N., Barbaro F., Castelli E., Erne E., Palù G., Caputo A. in chronic hepatitis C infection, myeloid-derived suppressor cell accumulation and T cell dysfunctions revert partially and late after successful direct-acting antiviral treatment. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2019, vol. 9: 190. doi: 10.3389/fcimb.2019.00190
31. Valadkhan S., Fortes P. Regulation of the interferon response by lncRNAs in HCV infection. *Front. Microbiol.* 2018, vol. 9: 181. doi: 10.3389/fmicb.2018.00181
32. Weltevrede M., Eilers R., de Melker H.E., van Baarle D. Cytomegalovirus persistence and T-cell immunosenescence in people aged fifty and older: a systematic review. *Exp. Gerontol.*, 2016, vol. 77, pp. 87–95. doi: 10.1016/j.exger.2016.02.005
33. Younossi Z., Papatheodoridis G., Cacoub P., Negro F., Wedemeyer H., Henry L., Hatzakis A. The comprehensive outcomes of hepatitis C virus infection: a multi-faceted chronic disease. *J. Viral. Hepat.*, 2018, vol. 25, no. 3, pp. 6–14. doi: 10.1111/jvh.13005
34. Zhao J., Dang X., Zhang P., Nguyen L.N., Cao D., Wang L., Wu X., Morrison Z.D., Zhang Y., Jia Z., Xie Q., Wang L., Ning S., El Gazzar M., Moorman J.P., Yao Z.Q. Insufficiency of DNA repair enzyme ATM promotes naive CD4 T-cell loss in chronic hepatitis C virus infection. *Cell Discov.*, 2018, vol. 4: 16. doi: 10.1038/s41421-018-0015-4

Авторы:

Савченко А.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Цуканов В.В., д.м.н., профессор, зав. клиническим отделением патологии пищеварительной системы ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Кудрявцев И.В., к.б.н., зав. лабораторией клеточной иммунологии отдела иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

Тонких Ю.Л., к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения патологии пищеварительной системы ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Беленюк В.Д., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Черепнин М.А., младший научный сотрудник отделения патологии пищеварительной системы ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Анисимова А.А., младший научный сотрудник отделения патологии пищеварительной системы ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular-Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Tsukanov V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Clinical Department of Digestive System Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Head of the Cell Immunology Laboratory, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Assistant Professor, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Tonkih J.L., PhD (Medicine), Leading Researcher, Clinical Department of Digestive System Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Belenjuk V.D., Junior Researcher, Laboratory of Cellular-Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Cherepnin M.A., Junior Researcher, Clinical Department of Digestive System Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Anisimova A.A., Junior Researcher, Clinical Department of Digestive System Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Cellular-Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 26.07.2020
Отправлена на доработку 27.03.2021
Принята к печати 31.10.2021

Received 26.07.2020
Revision received 27.03.2021
Accepted 31.10.2021