

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

А.Г. Борисов¹, А.А. Савченко¹, И.В. Кудрявцев^{2,3}

¹ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

²ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

³ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

Резюме. Целью исследования явилось выделение с помощью кластерного анализа и сравнительная характеристика типов иммунных нарушений при острых и хронических вирусных инфекциях. Обследовано 896 человек с острыми и хроническими вирусными инфекциями: 77 больных острым вирусным гепатитом В, 94 — хроническим вирусным гепатитом В, 119 — хроническим вирусным гепатитом С, 531 — рецидивирующим герпесом, 75 — инфицированных вирусом папилломы человека. В качестве контроля обследовано 446 практически здоровых человек. Исследование фенотипа лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии. Использовалось четырехцветное иммунофенотипирование по следующим панелям: CD3/CD4/CD8/CD45 и CD3/CD19/CD16/56/CD45. Основные фенотипы лимфоцитов определены следующим образом: Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻CD16/56⁻CD45⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), Т-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), NK-клетки (CD3⁻CD16/56⁺CD45⁺), В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺CD16/56⁺CD45⁺). Абсолютные значения были получены по двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа. Концентрацию иммуноглобулинов определяли иммуноферментным методом. Кластеризацию осуществляли методом одиночной связи (single linkage). Число кластеров определяли на основании вычисления величин евклидовых расстояний между среднегрупповыми величинами. Обнаружено, что показатели, характеризующие функциональное состояние различных звеньев иммунной системы при острых и хронических вирусных инфекциях, отличаются значительным разнообразием значений. Использование кластерного анализа позволило выделить 6 иммунотипов, определяемых различным состоянием врожденного и адаптивного иммунитета: характеризующиеся активацией врожденного (повышение количества нейтрофилов и NK-клеток) и гуморальной реакцией адаптивного иммунитета (повышение концентрации IgG), характеризующийся гиперреакцией адаптивного иммунитета (выраженное увеличение концентрации IgG), дискоординированный (разнонаправленные изменения величин иммунологических показателей), иммунодефицитный и ареактивный (не отличались от контрольных показателей). Доказано, что у больных вирусными инфекциями наиболее часто определяется «ареактивный» иммунотип (40,5%), а также иммунодефицитный (24,9%) и с гуморальной реакцией адаптивного иммунитета (24,5%). Отдельно выделяется группа больных с хроническими вирусными гепатитами В и С, у которых в более чем в 10% случаев наблюдается гиперреакция адаптивного иммунитета, что, вероятно, обусловлено развитием хронического гепатита. Эти иммунотипы можно рассматривать как различные патогенетические варианты течения острых и хронических вирусных инфекций. У здоровых людей чаще всего регистрируется ареактивный или иммунодефицитный иммунотип, то есть их иммунная система находится вне активации. Стратификация пациентов вирусными инфекциями по иммунотипам позволит повысить эффективность лечения больных и реализовать персонализированные подходы к диагностике и лечению нарушений функции иммунной системы.

Ключевые слова: иммунное реагирование, типирование, вирусные инфекции, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, NK-клетки, иммуноглобулины, нейтрофилы.

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН.
Тел.: (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

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. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-148-156

Citation:

Borisov A.G., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V. Features of the immune response during viral infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 148–156. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-148-156

FEATURES OF THE IMMUNE RESPONSE DURING VIRAL INFECTION

Borisov A.G.^a, Savchenko A.A.^a, Kudryavtsev I.V.^{b,c}

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

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

^c Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. The aim of the investigation was to select using cluster analysis and comparatively characterize immune disorders types in acute and chronic viral infections. Patients with acute and chronic viral infections (n = 896) were examined: 77 patients with acute viral hepatitis B, 94 — chronic viral hepatitis B, 119 — chronic hepatitis C, 531 — recurrent herpes, 75 — human papillomavirus infection. Healthy persons (n = 466) were examined as control. The research of blood lymphocyte phenotype was performed by flow cytometry. Four-color immunophenotyping were used in the following panels: T-lymphocytes (CD3⁺CD19⁻CD16/56⁻CD45⁺), T-helpers (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), cytotoxic T-cells (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), NK-cells (CD3⁻CD16/56⁺CD45⁺), B-lymphocytes (CD3⁻CD19⁺CD16/56⁺CD45⁺). Absolute values were obtained on a dual-platform technology using the results of haematological analysis. The immunoglobulin concentrations were determined by ELISA. The clustering was performed by a single linkage method. The number of clusters was determined on the basis of calculating the values of the Euclidean distance between the mean group values. It was found that the parameters, characterizing the functional state of the various parts of the immune system in acute and chronic viral infections, considerable diversity values. Cluster analysis allows to allocate 6 immunotypes defined different states of innate and adaptive immunity: characterized by activation of the innate (increasing the number of neutrophils and NK-cells) and adaptive immunity humoral response (increasing the concentration of IgG), characterized by hyperreaction of adaptive immunity (a significant increase in the concentration of IgG), disorganized (multidirectional changes in the values of immunological parameters), immunodeficiency and unresponsiveness (did not differ from the control parameters) immunotypes. It is proved that in patients with viral infections most often determined by the “unresponsiveness” immunotype (40,5%), as well as humoral immunodeficiency (24,9%) and adaptive immune reaction (24,5%). A group of patients with chronic viral hepatitis B and C is allocated separately in which more than 10% of the detected adaptive immunity overreaction that is probably due to the development of chronic hepatitis. These immunotypes can be regarded as different pathogenetic variants of the course of acute and chronic viral infections. Healthy people often had unresponsiveness or immunodeficiency immunotypes, that is their immune system is out of activation. Stratification of patients with viral infections by immunotypes will increase the effectiveness of treatment and implement personalized approaches to diagnosis and treatment of functional disorders of the immune system.

Key words: immune response, typing, viral infections, T-lymphocytes, B-lymphocytes, NK-cells, immunoglobulins, neutrophils.

Введение

Развитие вирусных инфекций обусловлено двумя ключевыми механизмами. Первый механизм определяется патогенным действием самого вируса на фоне иммунных нарушений, связанных с недостаточностью компонентов иммунитета и/или с отсутствием активации на определенный патоген (толерантностью). Второй реализуется за счет действия на зараженные вирусом клетки компонентов иммунной системы [12, 14, 25, 27]. В зависимости от состояния иммунной системы и особенностей ее реагирования на инфекционный патоген значительно различаются характер течения, прогноз развития и исход заболевания. Поэтому стратификация больных в подгруппы со сходными показателями иммунной системы является первым важнейшим шагом в реализации индивидуального подхода к лечению таких пациентов [20, 24, 28].

В настоящее время наиболее активно данный подход применяется при лечении бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких. Для указанных заболеваний определены клинические фенотипы, объединенные

различными специфическими молекулярно-генетическими и функциональными особенностями организма (эндотипы), которые диагностируются с использованием различных подходов [9, 21, 26]. Учитывая, что иммунная система играет основную роль в развитии инфекционных заболеваний, типирование иммунных реакций при хронических вирусных инфекциях является важным для персонифицированного подхода к лечению этих заболеваний. На основании кластерного анализа ранее определены разновидности иммунных нарушений при инфекционно-воспалительных заболеваниях [1, 2, 8]. Применение подобного метода позволяет совершенствовать клиническую диагностику путем определения параметров, характеризующих патогенез вирусных инфекций, и на основании этого разрабатывать новые терапевтические подходы, направленные на восстановление поврежденных иммунных механизмов непосредственно у каждого конкретного больного.

Таким образом, целью исследования явилось выделение с помощью кластерного анализа и сравнительная характеристика типов иммунных нарушений при острых и хронических вирусных инфекциях.

Материалы и методы

Исследование выполнено на основе оценки состояния иммунной системы у пациентов, находящихся на обследовании в клинике ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера. Всего было обследовано 896 человек в возрасте 20–52 лет с острыми и хроническими вирусными инфекциями. Из них: 77 больных острым вирусным гепатитом В (ОВГВ), 94 — хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ), 119 — хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС), 531 — рецидивирующим герпесом (РГВ-инфекции), 75 — инфекцией вирусом папилломы человека (ВПЧ-инфекция). В качестве контроля обследовано 446 практически здоровых людей. Все группы обследуемых были сопоставимы по возрасту и полу. Диагноз заболеваний устанавливался при помощи стандартных клинико-инструментальных методов исследования. При обследовании пациентов до лечения и в процессе наблюдения проводилась клиническая оценка состояния иммунной системы, проведены лабораторные исследования.

Исследование фенотипа лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии цельной периферической крови с использованием различных моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X) и PC5 (phycoerythrin-сyanin 5). Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [11, 23]. Окраску антителами выполняли в соответствии с рекомендациями производителя. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием лизирующего раствора VersaLyse Lysing Solution в соответствии с рекомендациями производителя (Beckman Coulter, США). Использовалось четырехцветное иммунофенотипирование по следующим панелям: CD3/CD4/CD8/CD45 и CD3/CD19/CD16+56/CD45. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США) [22]. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов. Основные фенотипы лимфоцитов определены следующим образом: Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻CD16/56⁻CD45⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), Т-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), NK-клетки (CD3⁻CD16/56⁺CD45⁺), В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺CD16/56⁺CD45⁺). Для каждого из образцов анализировали не менее 50 000 лимфоцитов. Абсолютные значения были получены по двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа.

Концентрацию иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке крови определяли иммунофер-

ментным методом (StatFax 303+ELISA, Awareness Technology Inc., США) с помощью коммерческих тест-наборов (Вектор-Бест, Россия). Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза IgA (IgA/CD19⁺), IgM (IgM/CD19⁺) и IgG (IgG/CD19⁺) [3].

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинской Декларации 2001 г.

Статистический анализ осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007) и Microsoft Excel 10 (Microsoft, 2010). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C₂₅ и C₇₅). Достоверность различий между показателями выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Кластеризацию осуществляли методом одиночной связи (single linkage). Число кластеров определяли на основании вычисления величин евклидовых расстояний между среднегрупповыми величинами [6]. Помимо этого, проведен индивидуальный анализ иммунологических параметров с выделением числа пациентов с низкими (попадающими в диапазон до C₂₅ контрольной группы), средними (попадающими в диапазон C₂₅–C₇₅) и высокими (попадающими в диапазон выше C₇₅ контрольной группы) показателями.

Результаты

При исследовании иммунологических показателей, характеризующих состояние макрофагально-фагоцитарного звена иммунной системы, у больных с вирусными инфекциями не обнаружено статистически значимых различий с показателями контрольной группы (табл. 1).

Обнаружено, что более выраженные изменения у больных выявляются при исследовании содержания общего числа лимфоцитов и их отдельных субпопуляций. Так, у больных ОВГВ, ХВГС и при РГВ- и ВПЧ-инфекциях снижено общее число лимфоцитов. Снижение лимфоцитов при ОВГВ происходит за счет Т-лимфоцитов и NK-клеток (количество В-лимфоцитов повышено), при ВПЧ-инфекции — за счет Т- и В-лимфоцитов, а при ХВГС и РГВ-инфекции — за счет В-лимфоцитов. У больных ХВГВ при отсутствии изменений количества лимфоцитов и Т-лимфоцитов установлено понижение числа В-лимфоцитов и увеличение NK-клеток. Количество цитотоксических Т-лимфоцитов снижено практически при всех острых и хронических вирусных инфекциях (за исключением ОВГВ). При ОВГВ, ХВГС, РГВ-

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ КЛЕТОЧНОЕ ЗВЕНО ИММУНИТЕТА БОЛЬНЫХ С ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ (МЕ, С₂₅–С₇₅)

| Показатель | Контроль n = 446 | ОВГВ n = 77 | ХВГВ n = 86 | ХВГС n = 101 | РГВ- инфекции n = 521 | ВПЧ- инфекция n = 67 |
|--|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Моноциты, 10 ⁹ /л | 0,34 0,12–0,41 | 0,45 0,15–0,82 | 0,43 0,16–0,81 | 0,47 0,13–0,87 | 0,40 0,11–0,50 | 0,41 0,13–0,57 |
| Нейтрофилы, 10 ⁹ /л | 3,55 3,15–4,52 | 4,60 3,84–5,03 | 3,70 3,17–4,35 | 3,28 2,97–3,69 | 3,42 2,92–4,16 | 3,71 2,82–4,11 |
| Лимфоциты, 10 ⁹ /л | 2,05 1,55–2,63 | 1,70*** 1,26–2,27 | 2,15 1,63–2,65 | 1,87* 1,43–2,41 | 1,88*** 1,48–2,34 | 1,79*** 1,43–2,38 |
| CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л | 1,29 0,99–1,74 | 1,03*** 0,82–1,47 | 1,29 0,97–1,59 | 1,15 0,83–1,53 | 1,14 0,88–1,46 | 1,09*** 0,85–1,47 |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,72 0,50–1,05 | 0,52*** 0,37–0,77 | 0,68 0,49–0,99 | 0,61* 0,43–0,89 | 0,61*** 0,46–0,83 | 0,61*** 0,43–0,87 |
| CD3 ⁺ CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,50 0,34–0,75 | 0,49 0,35–0,70 | 0,43** 0,32–0,59 | 0,38*** 0,26–0,57 | 0,42*** 0,29–0,59 | 0,39*** 0,26–0,54 |
| CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,21 0,14–0,33 | 0,27*** 0,22–0,45 | 0,13** 0,07–0,26 | 0,15* 0,08–0,28 | 0,15*** 0,09–0,23 | 0,13*** 0,08–0,22 |
| CD16/56 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,39 0,25–0,62 | 0,20*** 0,13–0,35 | 0,62*** 0,39–0,79 | 0,44 0,31–0,65 | 0,42 0,31–0,62 | 0,43 0,28–0,63 |

Примечание. Статистически значимые различия с показателями контрольной группы: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

и ВПЧ-инфекциях также выявляется понижение числа Т-хелперов.

При острых и хронических вирусных инфекциях выявляются изменения в величинах показателей, характеризующих состояние гуморального звена иммунитета (табл. 2).

При всех исследуемых вирусных инфекциях повышена концентрация иммуноглобулинов классов М и G. При ОВГВ и РГВ-инфекции также повышено содержание иммуноглобулина А. При острых и хронических вирусных инфекциях (за исключением ОВГВ) повышаются уровни относительного синтеза основных классов иммуноглобулинов. Только у больных ОВГВ

выявляется снижение уровней относительного синтеза IgG.

Учитывая полученные результаты, значительный интерес представляет индивидуальный анализ показателей иммунной системы у больных острыми и хроническими вирусными инфекциями. Так, при ОВГВ в 41,6% случаев выявлено снижение количества Т-лимфоцитов, в 45,5% — понижение содержания Т-хелперов. При этом у 48,1% больных установлено увеличение числа В-лимфоцитов и в 41,56% случаев — число НК-лимфоцитов. Практически отсутствуют больные с низкими показателями В-лимфоцитов и иммуноглобулинов класса А, М, G.

ТАБЛИЦА 2. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ГУМОРАЛЬНОЕ ЗВЕНО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (МЕ, С₂₅–С₇₅)

| Показатель | Контроль n = 446 | ОВГВ n = 77 | ХВГВ n = 86 | ХВГС n = 101 | РГВ-инфекции n = 521 | ВПЧ-инфекция n = 67 |
|---------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IgA, г/л | 1,80 1,31–2,7 | 3,30*** 2,70–4,20 | 2,10 1,42–3,17 | 1,88 1,29–2,77 | 2,08* 1,45–2,89 | 1,93 1,31–2,77 |
| IgM, г/л | 1,25 0,77–1,83 | 2,00*** 1,50–2,40 | 1,78*** 1,14–2,31 | 1,70*** 1,18–2,26 | 1,46*** 1,07–1,98 | 1,49*** 1,10–1,98 |
| IgG, г/л | 11,85 8,80–15,43 | 16,00*** 12,80–18,10 | 13,50* 9,76–17,44 | 13,66*** 10,34–16,37 | 12,92*** 9,76–16,20 | 13,20** 9,84–16,0 |
| IgA/CD19, нг/клетку | 9,71 5,24–20,72 | 11,03 8,38–17,61 | 18,54** 9,15–33,05 | 13,77* 8,82–22,99 | 13,32*** 8,06–25,85 | 14,37*** 8,74–24,34 |
| IgM/CD19, нг/клетку | 7,49 3,37–17,01 | 6,67 4,34–9,92 | 13,15** 7,66–25,77 | 9,64** 6,44–18,89 | 9,78*** 5,95–17,44 | 10,19*** 6,69–19,95 |
| IgG/CD19, нг/клетку | 63,52 36,31–126,76 | 53,16* 37,04–75,15 | 120,43** 55,98–207,66 | 92,13** 49,63–190,48 | 90,51*** 57,55–143,53 | 95,72*** 61,07–162,86 |

Примечание. Статистически значимые различия с показателями контрольной группы: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

У больных с ХВГВ распределение показателей иммунограммы в основном не отличалось от контрольной группы. Однако по распределению цитотоксических Т-лимфоцитов выявлено снижение числа больных с высокими показателями (14,6%). Несмотря на то, что у больных ХВГВ выявлено статистически достоверное снижение количества В-лимфоцитов, индивидуальное понижение обнаружено только у 18 больных (20,2%).

При ХВГС чаще регистрируется больные с низким числом нейтрофилов (39,8%), Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов (соответственно 36,5 и 43,7%). В 35,33% случаев повышено число НК-клеток. Увеличена концентрация IgM (43,33%) и IgG (34,67%).

У больных герпесом распределение основных иммунологических показателей значительно не отличаются от группы здоровых. Определяется незначительное число больных со снижением числа нейтрофилов (33,21%), Т-лимфоцитов (32,41%), цитотоксических Т-лимфоцитов (35,37%). Только в 48,67% случаях определяется снижение В-лимфоцитов и в 33,72% случаев увеличение НК-клеток. Остальные показатели находятся в диапазоне средних значений.

Подобные же изменения характерны для больных с ВПЧ-инфекцией, но в этой группе больных не регистрируется повышение числа НК-клеток. Однако достаточно часто регистрируется повышение иммуноглобулинов класса М (45,50%).

Таким образом, основные лабораторные иммунологические параметры при вирусных инфекциях, несмотря на выявленные изменения по группам, при индивидуальном анализе показали разнонаправленные реакции. Это послужило основанием для типирования иммунных реакций.

Для типирования больных и лиц контрольной группы применялся метод кластерного анализа. В качестве иммунологических показателей, по которым осуществлялось типирование, были выбраны параметры, характеризующие врожденный иммунитет (абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов и НК-клеток), состояние регуляторного звена иммунитета (Т-хелперы), адаптивный клеточный (цитотоксические Т-лимфоциты) и адаптивный гуморальный иммунитет (В-лимфоциты и IgG). Выбор абсолютного количества клеток в качестве параметров для кластеризации связан с тем, что механизмы иммунного реагирования реализуются принципами гомеостатической пролиферации клеток иммунной системы. При этом нарушения функционирования иммунной системы происходят при изменении абсолютного количества иммунных клеток, что, в свою очередь, и приводит к развитию иммунопатологических состояний [4, 12].

Число кластеров определялось на основании выбранной дистанционной меры с учетом

ТАБЛИЦА 3. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ЛИЦ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ В СФОРМИРОВАННЫХ КЛАСТЕРАХ (МЕ, С₂₅–С₇₅)

| Показатели | Кластер 1, n = 79 | Кластер 2, n = 268 | Кластер 3, n = 54 | Кластер 4, n = 26 | Кластер 5, n = 383 | Кластер 6, n = 488 |
|---|----------------------|------------------------|--------------------------|--|--|--|
| Нейтрофилы, 10 ⁹ /л | 6,69 5,79–8,03 | 3,38 2,62–4,39 | 3,13 2,23–4,27 | 3,70 2,62–5,17 | 3,27 2,51–4,19 | 3,14 2,45–3,82 |
| | | p ₁ < 0,001 | p ₁ < 0,001 | p _{1,3} < 0,001 p ₂ = 0,019 | p _{1,4} < 0,001 p ₂ = 0,047 | p _{1,2,4} < 0,001 p ₅ = 0,042 |
| CD16/56 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,41 0,28–0,66 | 0,40 0,25–0,62 | 0,36 0,20–0,62 | 0,28 0,18–0,49 | 0,38 0,24–0,57 | 0,38 0,25–0,60 |
| | | | | | p ₂ = 0,029 | p _{1,2,4,5} < 0,001 |
| CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,66 0,44–1,06 | 0,59 0,43–0,83 | 0,56 0,40–0,79 | 0,72 0,51–1,04 | 0,62 0,44–0,86 | 0,59 0,42–0,83 |
| | | | | p _{2,3} < 0,001 | p ₄ < 0,001 | p ₄ < 0,001 |
| CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,43 0,30–0,64 | 0,40 0,27–0,58 | 0,42 0,29–0,64 | 0,54 0,36–0,80 | 0,44 0,29–0,65 | 0,43 0,29–0,60 |
| | | | | p ₂ < 0,001 p _{1,3} = 0,004 | p ₄ < 0,001 | p ₄ < 0,001 |
| CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,17 0,08–0,32 | 0,15 0,09–0,25 | 0,17 0,10–0,26 | 0,33 0,24–0,49 | 0,16 0,10–0,27 | 0,15 0,09–0,23 |
| | | | | p _{1,2,3} < 0,001 | p ₁ = 0,037 p ₄ < 0,001 | p ₄ < 0,001 |
| IgG, г/л | 11,76 10,70–13,50 | 18,00 17,08–19,89 | 27,00 25,00–31,50 | 2,97 1,80–4,87 | 9,00 7,87–9,90 | 13,66 12,60–14,75 |
| | | p ₁ < 0,001 | p _{1,2} < 0,001 | p _{1,2,3} < 0,001 | p _{1,2,3,4} < 0,001 | p _{1,2,3,4} < 0,001 |

Примечание. Статистически значимые различия: p₁ — с показателями кластера 1; p₂ — с показателями кластера 2; p₃ — с показателями кластера 3; p₄ — с показателями кластера 4; p₅ — с показателями кластера 5.

ТАБЛИЦА 4. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО КЛАСТЕРАМ ЛИЦ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ И БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ (абс./%)

| Заболевание | Кластер 1 | Кластер 2 | Кластер 3 | Кластер 4 | Кластер 5 | Кластер 6 |
|--|-------------|---------------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Острый вирусный гепатит В, n = 77 | 4 5,19% | 35 45,45% | 3 3,9% | – | 9 11,69% | 26 33,77% |
| Хронический вирусный гепатит В, n = 86 | 5 5,81% | 21 24,42% | 9 10,47% | – | 18 20,93% | 33 38,37% |
| Хронический вирусный гепатит С, n = 101 | – | 21 20,79% | 15 14,85% | – | 14 13,86% | 51 50,50% |
| Рецидивирующий герпес, n = 521 | 22 4,22% | 121 23,22% | 17 3,26% | 2 0,38% | 148 28,41% | 211 40,50% |
| ВПЧ-инфекция, n = 67 | 4 5,97% | 11 16,42% | 2 2,99% | 3 4,48% | 23 34,33% | 24 35,82% |
| Всего больных n = 852 | 35 4,11% | 209 24,53% | 46 5,40% | 5 0,59% | 212 24,88% | 345 40,49% |
| Контроль, n = 446 | 42 9,42% | 60 13,45% | 9 2,02% | 21 4,71% | 173 38,79% | 141 31,61% |

предусмотренного преобразования значений (квадрат евклидова расстояния). Определение достаточного числа кластеров осуществлялось на основании пошагового изменения межкластерного расстояния. В качестве достаточного считалось число кластеров равное разности количества испытуемых и количества шагов, после которого межкластерное расстояние увеличивалось скачкообразно.

В зависимости от количества нейтрофилов, НК-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов, В-лимфоцитов и концентрации иммуноглобулинов класса G получено шесть кластеров. Для 1 кластера характерно повышение количества нейтрофилов и НК-клеток (табл. 3).

Для 2 и 3 кластеров характерно повышение концентрации IgG. При этом у лиц в 3 кластере этот показатель был повышен практически в два раза, а во 2 кластере определялось еще и повышение НК-клеток. Показатели 4 кластера характеризовались разнонаправленностью изменений: повышались показатели, характеризующие клеточное звено адаптивного иммунитета, при этом определялось снижение числа НК-клеток и концентрации IgG. В 5 кластере выявлено снижение IgG, которое можно характеризовать как «иммунодефицитное» состояние. Состояние иммунитета в 6 кластере определено как «ареактивное», так как показатели в этой группе не по одному из параметров не отличались от контрольных значений.

При анализе распределения больных с вирусными инфекциями по кластерам обнаружено, что больные ОВГВ преимущественно представлены во 2 и 6 кластерах, больные ХВГВ — в 6 и 2 кластерах, больные ХВГС — в 6 кластере (более половины), больные РПГ- и ВПЧ-инфекцией — в 6 и 5 кластерах (табл. 4).

При этом лица контрольной группы преимущественно представлены в 5 и 6 кластерах, куда также попадает часть больных из указанных групп.

Обсуждение

В последнее время приходит понимание о неоднородности патогенеза одного и того же заболевания [16, 17, 18]. Формируется представление о том, что то или иное заболевание представляет собой набор «эндотипов», или отдельных вариантов заболевания, каждый из которых имеет определенный морфофункциональный тип реагирования организма на этиологический фактор и особенности патогенетических процессов. В целом, эндотипы могут быть определены как кластеры клинико-лабораторных признаков заболевания и персональных особенностей ответа на лечение [13, 15, 19]. Учитывая, что иммунная система обеспечивает клеточное и молекулярное постоянство внутренней среды организма, без нарушения ее функций невозможно развитие вирусных болезней. На этом основано проведение многочисленных иммунологических исследований, которые показывают изменение среднестатистических иммунологических параметров. Подобные изменения зафиксированы и нами [1]. Однако при индивидуальном анализе больных с вирусными инфекциями у большинства обследованных значение иммунологических показателей соответствуют диапазону нормы. Это можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, иммунитет является мощной и многоуровневой системой с выраженными компенсаторными свойствами [5, 12]. Во-вторых, не всегда происходит адекватное реагирование иммунной системы на определенный патоген: нередко фор-

мируется толерантность к вирусному агенту [14, 25, 27]. В-третьих, имеются индивидуальные особенности иммунного реагирования (генетически детерминированные) на различные патогены [16, 17, 18]. Поэтому важным является определение реакции иммунной системы конкретного пациента на вирусный патоген.

С помощью кластерного анализа обнаружено, что иммунологические показатели всех обследуемых больных с острыми и хроническими заболеваниями распределяются по 6 кластерам. Анализ иммунологических показателей по сформированным кластерам позволил установить, что в 1 кластере преобладают показатели, которые можно отнести к реакциям врожденного иммунитета. Для 2 и 3 кластера характерно повышение показателей, характеризующих активацию гуморального звена адаптивного иммунитета, причем в последнем случае — еще и на фоне увеличения содержания НК-клеток. В 4 кластере изменения иммунологических показателей характеризуются их разнонаправленностью. В 5 кластере выявлено снижение показателей адаптивного иммунитета, что, в первую очередь, затрагивало уровень специфического гуморального ответа. В 6 кластере исследуемые иммунологические показатели не отличались от контрольных значений. Схожее распределение иммунологических показателей получено и ранее при других иммунопатологических состояниях [1, 7, 10]. В целом, с помощью кластерного анализа проведено разделение на отдельные типы или состояния иммунной системы. При этом данные показатели характеризуют именно степень реагирования различных звеньев иммунной системы на внешние воздействия. Необходимо отметить, что «набор» реагирования различных звеньев иммунитета у каждого конкретного пациента разный, но с помощью кластерного анализа выделены различные группы с одинаковым типом реагирования.

Исходя из анализа иммунологических показателей и распределения лиц контрольной группы и больных вирусными инфекциями по сформированным кластерам, мы можем определить на основании проведенных исследований следующие эндотипы иммунного реагирования (иммунотипы):

- кластер 1 — иммунотип, характеризующейся активацией врожденного иммунитета;
- кластер 2 — иммунотип, характеризующейся гуморальной реакцией адаптивного иммунитета;
- кластер 3 — иммунотип, характеризующийся гиперреакцией адаптивного иммунитета;
- кластер 4 — дискоординированный иммунотип;

- кластер 5 — иммунодефицитный иммунотип;

- кластер 6 — ареактивный иммунотип.

В соответствии с определенными иммунотипами нами проанализировано распределение больных вирусными инфекциями. Установлено, что чаще всего при вирусных инфекциях (в 40,5%) определяется ареактивный тип, то есть иммунная система больных не реагирует на патоген. Практически одинаково распределяются больные по иммунотипу с гуморальной реакцией адаптивного иммунитета (24,5%) и с иммунодефицитным иммунотипом (24,9%). Эти иммунотипы можно рассматривать как различные патогенетические варианты течения вирусных инфекций. В первом случае инфекция протекает на фоне активации гуморального звена иммунитета — иммунный ответ не сопровождается элиминацией патогена в силу внутриклеточной локализации патогена. Во втором случае развитие вирусной инфекции происходит на фоне иммунодефицита. При этом отсутствие или дефект специфических IgG позволяет патогену эффективно инфицировать клетки без риска быть включенным в состав иммунных комплексов для элиминации. Отдельно необходимо выделить группу больных с хроническими вирусными гепатитами В и С, у которых более чем в 10% случаев наблюдается гиперреакция адаптивного иммунитета, что, вероятно, обусловлено развитием хронического гепатита. Необходимо отметить, что у лиц контрольной группы чаще всего регистрируется ареактивный или иммунодефицитный иммунотип, то есть их иммунная система находится вне активации.

Таким образом, установлено, что показатели, характеризующие функциональное состояние различных звеньев иммунной системы при острых и хронических вирусных инфекциях, отличаются значительным разнообразием значений. Использование кластерного анализа позволило выделить 6 иммунотипов, определяемых различным состоянием врожденного и адаптивного иммунитета: характеризующиеся активацией врожденного и гуморальной реакцией адаптивного иммунитета, характеризующиеся гиперреакцией адаптивного иммунитета, дискоординированный, иммунодефицитный и ареактивный иммунотип. Доказано, что у больных вирусными инфекциями наиболее часто определяется «ареактивный» иммунотип, а также иммунодефицитный и иммунотип с гуморальной реакцией адаптивного иммунитета. Эти иммунотипы можно рассматривать как различные патогенетические варианты течения острых и хронических вирусных инфекций. Выделение иммунотипов важно при терапии с применением иммуноотропных

препаратов, которые достаточно широко применяются в настоящее время, хотя их воздействие с учетом выделенных патогенетических вариантов не всегда может дать ожидаемый положительный эффект. Стратификация пациен-

тов вирусными инфекциями по иммунотипам позволит повысить эффективность лечения больных и реализовать персонализированные подходы к диагностике и лечению нарушений функции иммунной системы.

Список литературы/References

1. Борисов А.Г. Кластерный анализ типов иммунных нарушений при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 1002–1011. [Borisov A.G. Cluster analysis of the types of immune disorders in infectious and inflammatory diseases. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, vol. 8 (17), no. 4, pp. 1002–1011. (In Russ.)]
2. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы // Медицинская иммунология. 2013. Т. 15, № 1. С. 45–50. [Borisov A.G. Clinical characteristics of the dysfunction of the immune system. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2013, vol. 15, no. 1, pp. 45–50. doi: 10.15789/1563-0625-2013-1-45-50 (In Russ.)]
3. Земсков А.М., Земсков В.М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса // Клиническая лабораторная диагностика. 1994. № 3. С. 34–35. [Zemskov A.M., Zemskov V.M. Additional methods for assessing of the immune status. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 1994, no. 3, pp. 34–35. (In Russ.)]
4. Козлов В.А. Гомеостатическая пролиферация как основа неизбежного формирования тотального иммунодефицита // Медицинская иммунология. 2014. Т. 16, № 5. С. 403–408. [Kozlov V.A. Homeostatic proliferation as a foundation for the inevitable formation of total immunodeficiency. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, vol. 16, no. 5, pp. 403–408. doi: 10.15789/1563-0625-2014-5-403-408 (In Russ.)]
5. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений. Новосибирск: Наука, 2009. 274 с. [Kozlov V.A., Borisov A.G., Smirnova S.V., Savchenko A.A. *Prakticheskie aspekty diagnostiki i lecheniya immunnykh narushenii*. [Practical aspects of diagnosis and treatment of immune disorders]. *Novosibirsk: Nauka*, 2009. 274 p.]
6. Леончик Е.Ю., Савастру О.В. Кластерный анализ. Терминология, методы, задачи. Одесса: ОНУ им. И.И. Мечникова, 2007. 208 с. [Leonchik E.Yu., Savastru O.V. *Klasternyi analiz. Terminologiya, metody, zadachi* [Cluster analysis. Terminology, methods, exercise]. *Odesa: ONU named I.I. Mechnikov*, 2007, 208 p.]
7. Нелюбин Е.В., Капулер О.М., Сибиряк С.В. Кластерный анализ показателей иммунного статуса больных псориазом // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2006. № 3 (1). С. 76–79. [Neljubin E.V., Kapuler O.M., Sibirjak S.V. Cluster analysis of immunological parameters in patients with psoriasis. *Vestnik Ural'skoj medicinskoj akademicheskoi nauki = Herald of the Ural Medical Academia*, 2006, no. 3 (1), pp. 76–79. (In Russ.)]
8. Савченко А.А., Цхай В.Б., Круглова Д.Ю., Борисов А.Г. Иммунологические показатели при моноинфекции вирусом папилломы человека и сочетанной папилломавирусной и урогенитальной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2014. № 3. С. 241–248. [Savchenko A.A., Chaj V.B., Kruglova D.Ju., Borisov A.G. Immunological parameters in patients with mono-infection by human papillomavirus and in patients co-infected by papillomavirus and urogenital pathogens. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2014, no. 3, pp. 241–248. doi: 10.15789/2220-7619-2014-3-241-248 (In Russ.)]
9. Саморукова Е.И., Малиничева Ю.В., Задионченко В.С., Ли В.В., Адашева Т.В., Пихлак А.Э., Логачев В.А., Соколова Л.Б. Ожирение и метаболические нарушения у больных хронической обструктивной болезнью легких: возможности фенотипирования // Пульмонология. 2014. № 5. С. 32–38. [Samorukova E.I., Malinicheva Ju.V., Zadiionchenko V.S., Li V.V., Adasheva T.V., Pihlak A.Je., Logachev V.A., Sokolova L.B. Obesity and metabolic disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease: opportunities phenotyping. *Pul'monologiya = Pulmonology*, 2014, no. 5, pp. 32–38. (In Russ.)]
10. Сарап П.В., Винник Ю.С., Останин А.А. Формирование кластеров иммунной системы и действие иммунотропных лекарственных средств у пациентов с urgentной хирургической патологией // Российский иммунологический журнал. 2012. Т. 6, № 1. С. 85–92. [Sarap P.V., Vinnik Yu.S., Ostanin A.A. Clustering effect of the immune system and immune drugs for patients with urgent surgical pathology. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2012, vol. 6, no. 1, pp. 85–92. (In Russ.)]
11. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. Часть 1 // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 1. С. 59–66. [Hajdukov S.V., Zurochka A.V. The possibility of flow cytometry in the diagnosis of infectious diseases. Part 1. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 1, pp. 59–66. doi: 10.15789/2220-7619-2011-1-59-66 (In Russ.)]
12. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. *Immunologiya* [Immunology]. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2010. 752 p.]
13. Akdis C.A., Bachert C., Cingi C., Dykewicz M.S., Hellings P.W., Naclerio R.M., Schleimer R.P., Ledford D. Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: a PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013, vol. 131, pp. 1479–1490. doi: 10.1016/j.jaci.2013.02.036
14. Braciale T.J., Hahn Y.S. Immunity to viruses. *Immunol Rev.*, 2013, vol. 255, no. 1, pp. 5–12. doi: 10.1111/imr.12109
15. Campo P., Rodríguez F., Sánchez-García S., Barranco P., Quirce S., Pérez-Francés C., Gómez-Torrijos E., Cárdenas R., Olaguibel J.M., Delgado J. Severe Asthma Workgroup; SEAC Asthma Committee. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: new treatments. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*, 2013, vol. 23, pp. 76–88.
16. Cui Y., Yang X., Zhu W., Li J., Wu X., Pang Y. Immune response, clinical outcome and safety of dendritic cell vaccine in combination with cytokine-induced killer cell therapy in cancer patients. *Oncol. Lett.*, 2013, vol. 6, pp. 537–541. doi: 10.3892/ol.2013.1376

17. Faner R., Cruz T., Agusti A. Immune response in chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2013, vol. 9, pp. 821–833. doi: 10.1586/1744666X.2013.828875
18. Karim R., Mack W.J., Stiller T., Operskalski E., Frederick T., Landay A., Young M.A., Tien P.C., Augenbraun M., Strickler H.D., Kovacs A. Association of HIV clinical disease progression with profiles of early immune activation: results from a cluster analysis approach. *AIDS*, 2013, vol. 27, pp. 1473–1481. doi: 10.1097/QAD.0b013e3283601bad
19. Lin T.Y., Poon A.H., Hamid Q. Asthma phenotypes and endotypes. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2013, vol. 19, pp. 18–23. doi: 10.1097/MCP.0b013e32835b10ec
20. Lindsay C.R., Shaw E., Walker I., Johnson P.W. Lessons for molecular diagnostics in oncology from the Cancer Research UK Stratified Medicine Programme. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2014, vol. 30, pp. 1–3. doi: 10.1586/14737159.2015.992417
21. Lötval J., Akdis C.A., Bacharier L.B., Bjermer L., Casale T.B., Custovic A., Lemanske R.F.Jr., Wardlaw A.J., Wenzel S.E., Greenberger P.A. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, vol. 127, no. 2, pp. 355–360. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.037
22. Luider J.L., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. *Lab. Hematol.*, 2004, vol. 10, pp. 102–108.
23. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 12, pp. 191–200. doi: 10.1038/nri3158
24. McLernon D.J., Te Velde E.R., Steyerberg E.W., Mol B.W., Bhattacharya S. Clinical prediction models to inform individualized decision-making in subfertile couples: a stratified medicine approach. *Hum. Reprod.*, 2014, vol. 29, no. 9, pp. 1851–1858. doi: 10.1093/humrep/deu173
25. Medzhitov R., Schneider D.S., Soares M.P. Disease tolerance as a defense strategy. *Science*, 2012, vol. 335, no. 6071, pp. 936–941. doi: 10.1126/science.1214935
26. O'Neil S.E., Lundbäck B., Lötval J., Serena E. Proteomics in asthma and COPD phenotypes and endotypes for biomarker discovery and improved understanding of disease entities. *J. Proteomics*, 2011, vol. 75, no. 1, pp. 192–201. doi: 10.1016/j.jprot.2011.10.008
27. Soares M.P., Gozzelino R., Weis S. Tissue damage control in disease tolerance. *Trends Immunol.*, 2014, vol. 35, no. 10, pp. 483–494. doi: 10.1016/j.it.2014.08.001
28. Trusheim M.R., Berndt E.R., Douglas F.L. Stratified medicine: strategic and economic implications of combining drugs and clinical biomarkers. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007, vol. 6, no. 4, pp. 287–293. doi: 10.1038/nrd2251

Авторы:

Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Савченко А.А., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher of the Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Federal State Budgetary Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Federal State Budgetary Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher of the Laboratory of Immunology, Scientific Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Senior Researcher of the Department of Fundamental Medicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.01.2015
Отправлена на доработку 03.02.2015
Принята к печати 24.02.2015

Received 24.01.2015
Revision received 03.02.2015
Accepted 24.02.2015