

На правах рукописи

ЯППАРОВ

Рафаэль Галиевич

**ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО И ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО
ОТВЕТА НА ВАКЦИНАЦИЮ
ПРОТИВ ГРИППА У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**

14.01.09 – Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Лиознов Дмитрий Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Харит Сусанна Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»

Воронин Евгений Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, главный врач федерального казенного учреждения «Республиканская клиническая инфекционная больница» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2020 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.090.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, зал заседаний Ученого совета, ауд. 12, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8 и на официальном сайте www.lspbgmu.ru.

Автореферат разослан «____» _____ 2020 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д.208.090.02

доктор медицинских наук,

профессор

Александров Альберт Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Грипп является опасным и потенциально наиболее тяжелым заболеванием среди острых респираторных вирусных инфекций. Регулярная и значимая изменчивость вирусов гриппа определяет развитие ежегодных сезонных эпидемий и периодические глобальные пандемии инфекции. Существенную опасность грипп представляет для определенных когорт популяции, так называемых групп риска, куда относят и лиц с иммунодефицитными состояниями, в том числе больных ВИЧ-инфекцией (Методические рекомендации по диагностике и лечению гриппа, 2016; 2018-2019 influenza season . WHO Regional Office for Europe, 2019). Известно, что лица, живущие с ВИЧ, болеют гриппом тяжелее, нередко госпитализируются, у них чаще развиваются осложнения и летальный исход заболевания (Яковлев А.А, 2010; Abadom T.R., 2016; El Chaer F., 2019). Особенно это актуально для больных с глубокой иммуносупрессией и/или не получающих антиретровирусную терапию (Ormsby C.E., 2011; Sheth A.N., 2011; Cohen C., 2012).

Всемирная организация здравоохранения рекомендует регулярную иммунизацию против гриппа лиц с хроническими болезнями и иммунодефицитными состояниями (Vaccine position papers. World Health Organization, 2019). В ряде государств разработаны национальные рекомендации по вакцинопрофилактике гриппа у лиц живущих с ВИЧ-инфекцией. Так, ежегодно прививают против гриппа ВИЧ-инфицированных жителей Франции, Великобритании, США, Канады, Австралии и ряда других стран (Frésard A., 2016; Canadian Immunization Guide, 2018; Guidelines for the treatment of HIV. EACS, 2018; People with HIV & Influenza. CDC, 2019). В Российский национальный календарь профилактических прививок в перечень лиц, подлежащих обязательной вакцинации против гриппа, больные ВИЧ-инфекцией не включены (Об утверждении национального календаря профилактических прививок. Приказ Минздрава России, 2014, 2019]) Разработка таких рекомендаций для нашей страны требует дополнительных исследований.

Для безопасного применения иммунобиологических препаратов у больных с иммунодефицитом, необходима уверенность в отсутствии негативных последствий. Многолетний опыт вакцинации против гриппа больных ВИЧ-инфекцией в мире показал неоднозначные результаты. Известны случаи повышения вирусной нагрузки ВИЧ и/или снижения количества CD4⁺-лимфоцитов в крови привитых в поствакцинальный период (de Carvalho A.P., 2003; Ceravolo A., 2013). Но большинство наблюдений свидетельствует об отсутствии или кратковременности таких изменений. В случае их развития – клинического значения они не имели и не приводили к ухудшению течения ВИЧ-инфекции (Zanetti, A.R., 2002; Leahy T.R., 2014).

Эффективность противогриппозных вакцин традиционно оценивают по развитию специфического гуморального ответа. У больных ВИЧ-инфекцией напряженность антителообразования отличается от здоровых лиц, а поствакцинальный иммунитет формируется хуже и ослабевает быстрее (Kelly D., 2012; Crum-Cianflone N.F., 2014; Watcharananan S.P., 2014). Не сложилось единого мнения о причинах иммунологической неэффективности вакцинации.

С одной стороны, обсуждают роль факторов организма: возраст, уровень вирусной нагрузки ВИЧ, степени иммуносупрессии, наличие или отсутствие антиретровирусной терапии (Yanagisawa N., 2011; Zbinden D., 2014; George V.K., 2015). С другой стороны, немаловажными являются факторы вакцинного препарата: дозы антигенов, состав, схема иммунизации (Klinkenberg R.E., 2014; Zhang W., 2018).

Регулярная изменчивость вирусов гриппа также остается параметром, определяющим возможный неуспех вакцинации. В связи с этим продолжается поиск антигенных мишеней для создания вакцин, формирующих более широкий гетеросубтипный и стабильный иммунитет. В качестве эффекторов, обеспечивающих подобную защиту, могут выступать компоненты Т-клеточного иммунитета, а именно Т-клетки памяти (Zens K.D., 2015; Grant E.J., 2016). Немногочисленные и противоречивые сведения о клеточно-опосредованных реакциях на вакцинацию против гриппа у ВИЧ-инфицированных лиц обуславливает актуальность исследований в этой области.

Степень разработанности темы исследования

Целесообразность и польза вакцинопрофилактики гриппа у больных ВИЧ-инфекцией общепризнана и не требует доказательств. Однако её безопасность и эффективность остаются в зоне пристального внимания в аспекте поиска оптимальных средств и схем иммунизации (Cim-Cianflone N.F., 2017).

В Российской Федерации для массовой иммунизации преимущественно используют вакцины российского производства, отличающиеся составом от импортных препаратов, что ограничивает экстраполяцию зарубежного опыта и определяет необходимость отечественных исследований. В нашей стране разработаны рекомендации по вакцинопрофилактике гриппа у ВИЧ-инфицированных детей (Вакцинопрофилактика детей с ВИЧ-инфекцией. Клинические рекомендации, 2015). Исследований у взрослых лиц, живущих с ВИЧ, не проводили, нормативные документы, регламентирующие процедуру иммунизации взрослых больных против гриппа, не разработаны.

Цель исследования

Охарактеризовать динамику клинических и лабораторных показателей у больных ВИЧ-инфекцией после вакцинации против гриппа для оценки её эффективности и безопасности.

Задачи исследования

1. Оценить динамику клинических, иммунологических и вирусологических показателей течения ВИЧ-инфекции после вакцинации против гриппа.
2. Проанализировать формирование и длительность гуморального иммунного ответа у привитых против гриппа больных ВИЧ-инфекцией и лиц контрольной группы.
3. Определить показатели Т-клеточной иммунологической памяти (количество Т-лимфоцитов с иммунофенотипами $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ в крови) и сопоставить их с параметрами специфического гуморального иммунного ответа у привитых против гриппа больных ВИЧ-инфекцией и лиц контрольной группы.

4. Провести сравнительную оценку реактогенности вакцины против гриппа у больных ВИЧ-инфекцией и лиц контрольной группы.

Научная новизна исследования

Впервые в России охарактеризованы клинические и лабораторные показатели течения ВИЧ-инфекции у взрослых больных после иммунизации против гриппа.

Показано недостаточное специфическое антителообразование после однократной иммунизации против гриппа больных ВИЧ-инфекцией с разной степенью иммуносупрессии. Выявлено отсутствие сероконверсии у пациентов с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл.

Выявлены схожие закономерности динамики показателей Т-клеточной иммунологической памяти (количества Т-лимфоцитов с иммунофенотипами $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ в крови) у привитых против гриппа ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-неинфицированных лиц.

Установлено, что хотя общие и местные реакции на введение вакцины против гриппа развиваются у ВИЧ-инфицированных чаще, чем у лиц контрольной группы, однако носят типичный и транзиторный характер, имеют слабую степень выраженности и купируются самостоятельно.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Установлена неполноценность гуморального иммунного ответа на вакцинацию против гриппа у больных ВИЧ-инфекцией.

Получены данные об отсутствии негативных изменений основных иммунологических, вирусологических, клинико-лабораторных параметров течения ВИЧ-инфекции после вакцинации больных против гриппа, что позволяет рекомендовать иммунизацию пациентов без мониторингирования количества $CD4^+$ -лимфоцитов и вирусной нагрузки ВИЧ в крови, показателей гемограммы и биохимического анализа крови.

Показана нецелесообразность определения количества Т-лимфоцитов с иммунофенотипом $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ в отдаленный период вакцинации против гриппа для оценки её иммунологической эффективности.

Методология и методы исследования

Методологическая база исследования включает следующие методы: общенаучные (анализ, синтез и индукция), частные научные (описание, измерение, сравнение), а также диалектический метод.

Объект исследования – больные ВИЧ-инфекцией.

Предмет исследования: аспекты клинического и иммунологического ответа на вакцинацию против гриппа при разной степени ВИЧ-ассоциированной иммуносупрессии.

Методы исследования: клинический (физикальный), лабораторные (серологический, биохимический, молекулярно-биологический и др.); использованы методы описательной, сравнительной непараметрической и многофакторной статистики с определением выраженности взаимосвязей изучаемых факторов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Введение вакцины против гриппа не вызывает прогрессирования ВИЧ-инфекции и не ухудшает общеклинические, иммунологические и вирусологические лабораторные показатели больных ВИЧ-инфекцией.
2. Общие и местные реакции на введение вакцины против гриппа развиваются у ВИЧ-инфицированных чаще, чем у лиц контрольной группы, однако носят типичный и транзиторный характер, имеют слабую степень выраженности, купируются самостоятельно, в том числе у больных с выраженным и тяжелым иммунодефицитом.
3. Гуморальный иммунный ответ на однократную вакцинацию против гриппа у больных ВИЧ-инфекцией с разной степенью иммунодефицита не соответствует критериям иммуногенности. В случае его формирования, протективные титры антител сохраняются на протяжении не менее шести месяцев – срока, достаточного для защиты в сезон повышения заболеваемости гриппом.
4. После вакцинации против гриппа количество Т-лимфоцитов с иммунофенотипами $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ в крови, как у ВИЧ-инфицированных, так и у привитых контрольной группы демонстрируют тенденцию к снижению значений, что отражает схожесть иммунологических закономерностей и свидетельствует об адекватности иммунного ответа больных на введение вакцины. Показатели Т-клеточной иммунологической памяти не различаются у привитых больных ВИЧ-инфекцией с разной выраженностью иммуносупрессии.

Внедрение

Результаты исследования внедрены в работу Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; Государственного казённого учреждения здравоохранения Ленинградской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями», Республика Башкортостан, г. Уфа.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Степень достоверности результатов исследования обеспечивается использованием в качестве теоретической и методологической базы диссертации фундаментальных исследований отечественных и зарубежных авторов по клинике и иммунологии вакцинального процесса, характеристикам противогриппозных вакцин и их применению в разных когортах ВИЧ-инфицированных; использованием информативных адекватных поставленным задачам методик исследования; применением современных методов сбора и обработки исходной информации; репрезентативным объемом выборки обследованных лиц (обследовано 175 пациентов, выделена группа сравнения 50 человек); обработкой полученных результатов с применением параметрических и непараметрических методов статистики; внутренней непротиворечивостью

результатов исследования, принципиальной согласованностью данных по отдельным разделам с результатами предыдущих исследований в смежных областях.

Апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационного исследования доложены на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные заболевания» (г. Сочи, 1-4 ноября 2017 г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции» (Санкт-Петербург, 10-11 июня 2019 г.); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы лечения ВИЧ-инфекции и хронических вирусных гепатитов в Республике Башкортостан» (г. Уфа, 28 ноября 2019 г.).

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Исследование провели на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями» (ГБУЗ РЦПБ со СПИДом и ИЗ, Республика Башкортостан, г. Уфа) в период с ноября 2016 года по октябрь 2017 года. В исследование включили 225 человек (в дальнейшем из анализа исключили 4 человека). В основную группу вошел 171 больной ВИЧ-инфекцией в возрасте от 20 до 70 лет (средний возраст 36 (32,0; 39,0) лет). Большую долю привитых составили мужчины (63,2%) и больные на стадии III ВИЧ-инфекции (63,2%), стадию IVA регистрировали у 24,0 %, стадию IVБ – у 10,5 %, стадию IVВ – у 2,3% пациентов (согласно Российской клинической классификации ВИЧ-инфекции (2006)). Большинство пациентов (71,3%) получали антиретровирусную терапию (АРТ) и имели вторичные заболевания и/или сопутствующую патологию (69,0%), в структуре которых преобладали хронические вирусные гепатиты С и В+С (49,7%). Соответственно количеству CD4⁺-лимфоцитов в крови больных распределили на четыре подгруппы: более 500 клеток/мкл – 67 человек, 350-500 клеток/мкл – 38, 200-350 клеток/мкл – 45, менее 200 клеток/мкл – 21 пациент.

В контрольную группу включили 50 практически здоровых добровольцев в возрасте от 17 до 60 лет (средний возраст 41 (30,8; 52,0) год), 70,0 % которых – женщины.

Для иммунизации применили гриппозную тривалентную инактивированную полимер-субъединичную вакцину для внутримышечного и подкожного введения, содержащую водорастворимый высокомолекулярный иммуноадаъювант азоксимера бромид. Вакцинные антигены вирусов гриппа подобных А/Калифорния/7/2009 (H1N1)pdm09, А/Гонконг/4801/2014 (H3N2), В/Брисбен/60/2008 соответствовали рекомендациям ВОЗ для эпидемического сезона 2016-2017 гг. Препарат вводили однократно одну дозу внутримышечно.

Для оценки течения ВИЧ-инфекции определяли динамику количества $CD4^+$ -лимфоцитов и вирусной нагрузки ВИЧ в крови больных через 1-12 месяцев после вакцинации против гриппа. Изменения гомеостаза оценили по данным гемограммы и биохимического анализа крови привитых, полученных в день вакцинации (0-й день) и через 180 дней. Анализировали местные и общие реакции на прививку по клинико-анамнестическим данным и результатам объективного осмотра с 0-го по 5-й день после введения вакцины. В период проведения исследования регистрировали нежелательные явления и случаи заболевания гриппом и ОРВИ при очном опросе и по телефону.

Формирование специфического иммунного ответа оценили по результатам серологического исследования крови в стандартной методике определения титров антител к антигенам вирусов гриппа А/Н1N1/Калифорния/, А/Н3N2/Гонконг/, В/Брисбен/ в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в день вакцинации (0-й день), 21-й и 180-й дни после введения вакцины. Результаты РТГА оценили по титру антител: 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, согласно критериям иммуногенности Комитета по патентованным лекарственным препаратам Европейского агентства по оценке лекарственных средств (CPMP EMEA).

Для определения индукции Т-клеточной иммунологической памяти на вакцину у 70 больных ВИЧ-инфекцией определяли количество Т-лимфоцитов с иммунофенотипами $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ («клетки памяти») в крови в 0-й и 180-й день после вакцинации методом многоцветной проточной цитофлуориметрии.

Полученные результаты подвергли статистическому анализу и сопоставлению в группах (основной, с учетом четырех подгрупп, и контрольной) в программном обеспечении R (версия 3.4.2, 2017, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Применили дисперсионный анализ с повторными измерениями на ранжированных данных, тест Манна-Уитни и тест Уилкоксона с поправкой Бенджамини-Хочберга на множественность сравнений, пуассоновскую и ординальную логистическую регрессию, критерий Хи-квадрат и точный критерий Фишера с FDR поправкой. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Клинические и лабораторные показатели больных ВИЧ-инфекцией, привитых против гриппа. Количество $CD4^+$ -лимфоцитов в крови больных увеличилось в динамике наблюдения ($p = 0,012$). При этом в группах больных с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов менее 200 и 200-350 клеток/мкл рост показателя в динамике был значимым ($p < 0,05$). Тогда как у больных с большим количеством клеток отмечено менее значимое увеличение их числа ($p > 0,05$). Величина вирусной нагрузки ВИЧ в крови больных снизилась в динамике наблюдения после вакцинации против гриппа ($p < 0,001$) во всех группах больных, кроме пациентов с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов более 500 клеток/мкл, у которых вирусная нагрузка исходно была низкой и в период наблюдения не изменилась. Такую динамику количества $CD4^+$ -лимфоцитов и величины вирусной нагрузки ВИЧ в крови больных регистрировали вне зависимости от сроков, прошедших после вакцинации (при анализе в первые три месяца, с четвертого по шестой и позже шестого месяца наблюдения).

При этом у пациентов, которые не получали антиретровирусную терапию, анализируемые параметры не претерпели каких-либо значимых изменений в поствакцинальный период.

Большинство показателей клинического и биохимического анализов крови не различались в сравниваемых группах, как до вакцинации, так и в динамике наблюдения. При этом значения большинства показателей соответствовали референтным величинам. Активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы у больных ВИЧ-инфекцией была выше, чем у лиц контрольной группы исходно и в динамике, через 180 дней после вакцинации ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,05$, соответственно). При этом у больных средние значения показателей в ряде случаев превышали референтные величины, что обусловлено наличием у 49,7% пациентов сопутствующих хронических вирусных гепатитов С или В+С. Однако ни в одной группе больных ВИЧ-инфекцией не зарегистрировано статистически значимого повышения активности показателей в поствакцинальный период. Таким образом, вакцинация против гриппа не оказала негативного влияния на гематологические и биохимические показатели организма больных ВИЧ-инфекцией, в том числе на стадии глубокой иммуносупрессии. Выявленные отклонения от нормы некоторых биохимических показателей неотяготили течение поствакцинального периода, как у ВИЧ-позитивных, так и ВИЧ-негативных лиц. Клинических проявлений, характерных для прогрессирования заболевания у привитых больных ВИЧ-инфекцией не наблюдали.

Общие реакции после введения вакцины против гриппа отмечены у 103 больных ВИЧ-инфекцией (71%) и у восьми человек из контрольной группы (16%) ($p < 0,0001$). Самыми частыми симптомами у ВИЧ-инфицированных пациентов были недомогание и головная боль (отметили 34,5% и 26,9% соответственно), в отличие от контрольной группы (12,0% и 2,0%) ($p < 0,01$). Наибольшая длительность температурной реакции организма составила три дня с максимальной температурой тела до $37,3^{\circ}\text{C}$. Частота возникновения, выраженность и длительность повышения температуры не различались в сравниваемых группах ($p = 1,00$). У большинства пациентов недомогание сохранялось не более трех дней. Степень выраженности недомогания была легкой. Длительность недомогания не различались в сравниваемых группах ($p > 0,05$). Частота регистрации недомогания увеличивалась по мере прогрессирования иммунодефицита, и была наибольшей у больных с количеством CD4^{+} -лимфоцитов менее 200 клеток/мкл. Степень выраженности головной боли была легкой и не требовала приёма медикаментов.

Местные реакции на введение вакцины зарегистрированы у 41 ВИЧ-инфицированного больного (28,3%) и у двух человек из группы контроля (4,0%) ($p = 0,002$). Самым частым проявлением было ощущение боли в месте введения вакцины лёгкой степени выраженности. Различия в частоте и длительности симптома в группах были статистически не значимы ($p > 0,05$). Все зарегистрированные общие и местные реакции, развившиеся после введения противогриппозной вакцины ВИЧ-инфицированным больным, в том числе у лиц с выраженным и тяжелым иммунодефицитом носили транзиторный характер, купировались самостоятельно без применения лекарственных средств и имели слабую или легкую степень проявления. Реакции

средней и сильной степени у привитых не развились, серьезных нежелательных явлений отмечено не было. В подавляющем большинстве случаев причинно-следственную связь нежелательного явления с вакциной классифицировали как вероятную.

В срок до 180-го дня после вакцинации в контрольной группе случаи гриппа или ОРВИ не были зарегистрированы. Среди больных ВИЧ-инфекцией у семи привитых (4,1%) отмечены клинические проявления ОРВИ.

Поствакцинальный иммунный ответ к вирусам гриппа у ВИЧ-инфицированных пациентов. До вакцинации (день 0) большинство включенных в исследование лиц имели хотя бы минимальный защитный титр антител к антигенам А/Н1N1/Калифорния/, А/Н3N2/Гонконг/ и В/Брисбен/ – 1/40 и более. Так, среди ВИЧ-инфицированных таких было более 90%, в контрольной группе – более 75%. При этом у больных чаще определяли более высокие титры по сравнению с контрольной группой ($p < 0,0001$ –0,05). В динамике через 21 день после вакцинации увеличилась доля привитых, имеющих защитный титр антител к антигенам вируса гриппа. Так, к антигену А/Н1N1 протективный уровень антител был у 95,9% больных и у всех лиц контрольной группы, при этом высокие уровни антител чаще выявляли в контрольной группе ($p < 0,05$). Также все привитые имели защитный титр антител к антигенам вирусов гриппа А/Н3N2 и В. При этом в контрольной группе чаще определяли более высокие уровни антител, чем у больных ($p < 0,01$). Через 180 дней после вакцинации все лица контрольной группы и большинство больных сохранили защитный титр антител к антигену вируса гриппа А/Н1N1 (97,7%). При этом у четверых ВИЧ-позитивных (2,3%) показатель остался ниже протективного – 1/20. К антигенам вирусов гриппа А/Н3N2 и В через 180 дней после вакцинации все привитые сохранили защитный уровень антител, а более высокие значения показателей по всем антигенам чаще демонстрировали вакцинированные в контрольной группе, чем больные ВИЧ-инфекцией ($p < 0,001$ –0,05). При сравнении частоты выявления разных уровней антител до (день 0) и после вакцинации (21 и 180 день) не установили различий ни в одной группе больных ВИЧ-инфекцией ни по одному антигену ($p > 0,05$). Тогда как в контрольной группе после вакцинации значимо чаще, чем исходно, регистрировали более высокие титры антител ко всем антигенам вирусов гриппа ($p < 0,0001$).

Исходно, до вакцинации, средние геометрические значения титров антител (СГТА) ко всем антигенам вирусов гриппа у больных ВИЧ-инфекцией были выше, чем в контрольной группе, вне зависимости от количества $CD4^+$ -лимфоцитов ($p < 0,0001$). После вакцинации, к 21 дню, произошло увеличение СГТА: в группах больных с разным количеством $CD4^+$ -лимфоцитов – незначительное, меньше 2 раз, в контрольной группе – в 3–4 раза. Через 6 месяцев после вакцинации, на 180 день, СГТА ко всем антигенам изменились в группах разнонаправлено, но не значимо по сравнению с днём 21, а в группе ВИЧ-инфицированных больных с числом $CD4^+$ -лимфоцитов менее 200 клеток/мкл отметили тенденцию к снижению СГТА ко всем антигенам. В результате, СГТА к трём антигенам вирусов гриппа во всех группах ВИЧ-позитивных пациентов остались выше показателя до вакцинации (день 0) ($p < 0,05$ –0,001), в контрольной группе – также выше исходных

значений ($p < 0,0001$), и, что примечательно, выше, чем в группе больных ВИЧ-инфекцией ($p < 0,001-0,0001$). Динамики титров антител у привитых в группах наблюдения представлена на Рисунках 1-3.

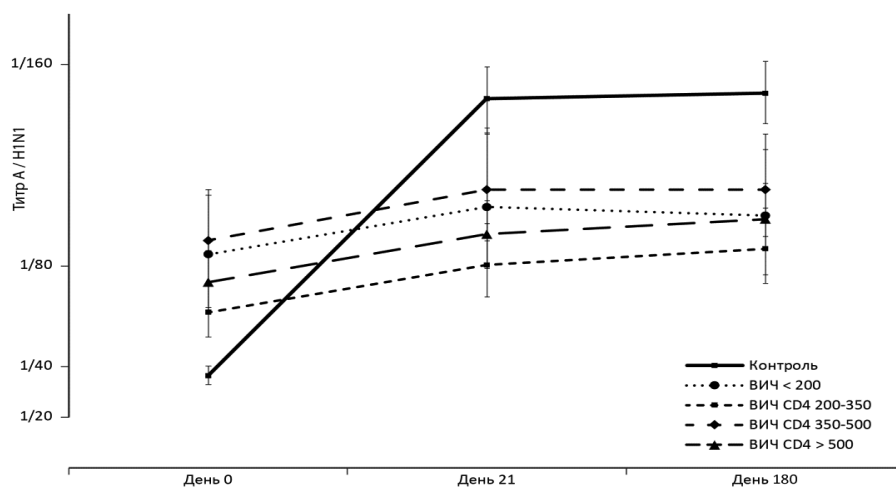


Рисунок 1 – Динамика титров антител к антигену вируса гриппа A/H1N1 (отрезками отмечены 95% доверительные интервалы).

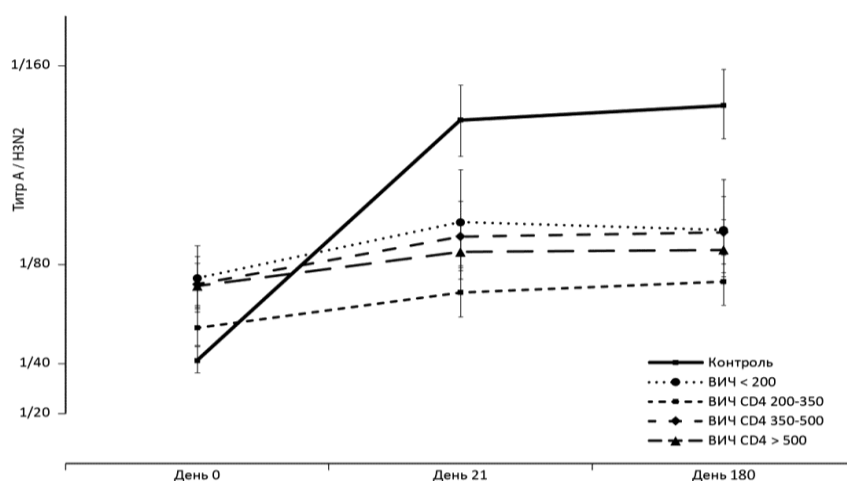


Рисунок 2 – Динамика титров антител к антигену вируса гриппа A/H3N2 (отрезками отмечены 95% доверительные интервалы).

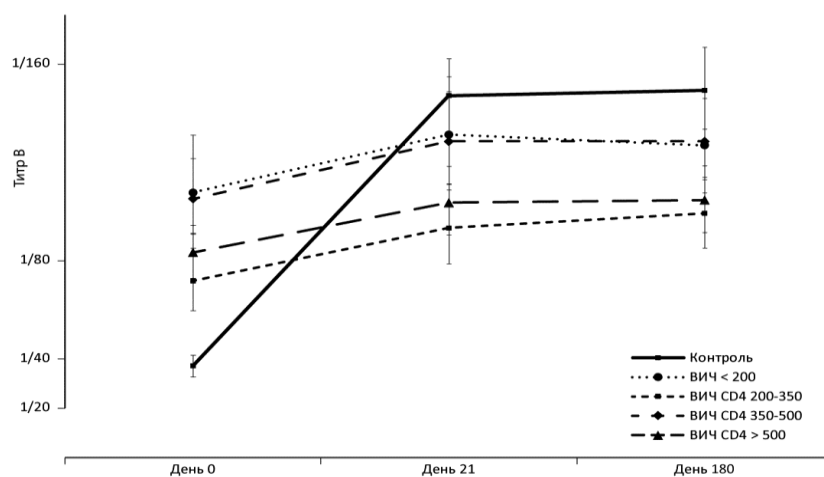


Рисунок 3 – Динамика титров антител к антигену вируса гриппа B (отрезками отмечены 95% доверительные интервалы).

Графики иллюстрируют очень незначительный рост титров антител ко всем антигенам в динамике наблюдения после вакцинации у ВИЧ-инфицированных больных и существенный рост титров антител в этот период у лиц контрольной группы.

Иммуногенность противогриппозной вакцины у ВИЧ-инфицированных лиц. В группах больных ВИЧ-инфекцией вне зависимости от уровня $CD4^+$ -лимфоцитов коэффициент сероконверсии на 21 день после вакцинации составил 1,2-1,3 ко всем антигенам. В динамике на 180 день он остался без существенных изменений – 1,2-1,4. В группе контроля коэффициент сероконверсии на 21 день к трем антигенам был от 3,3 до 4,0, на 180 день – сохранился в пределах 3,5-4,0. Показатель сероконверсии у больных ВИЧ-инфекцией на 21 день после вакцинации был низкий, в диапазоне от 0 до 6,0% к антигену вируса гриппа А/Н1N1, от 0 до 5,3% к антигену вируса гриппа А/Н3N2, от 0 до 4,5% к антигену вируса гриппа В. При этом показатель равный 0% ко всем антигенам выявили у больных с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов менее 200 клеток/мкл. При повторном исследовании на 180 день существенной динамики не выявили. Показатель сероконверсии к трем антигенам остался на прежнем уровне (0%) у привитых с числом $CD4^+$ -лимфоцитов менее 200 клеток/мкл. В контрольной группе на 21 день после вакцинации показатель сероконверсии был высоким ко всем антигенам (более 60% к антигену А/Н1N1, более 80% к антигенам А/Н3N2 и В) и сохранился без изменений до 180 дня наблюдения. Исходно, до вакцинации у больных ВИЧ-инфекцией вне зависимости от количества $CD4^+$ -лимфоцитов определили высокий показатель серопротекции ко всем антигенам – более 90%, в контрольной группе – более 75%. Закономерно, к 21 дню после вакцинации показатель серопротекции у ВИЧ-инфицированных привитых во всех группах стал выше, достиг уровня более 95% к антигену вируса гриппа А/Н1N1 и 100% к антигенам вирусов гриппа А/Н3N2 и В. Такие его значения сохранились без динамики до 180 дня наблюдения. Соответственно, к 21 дню после вакцинации показатель серопротекции в контрольной группе достиг 100% ко всем антигенам и сохранился без изменений до 180 дня.

Также провели дополнительный анализ показателей иммуногенности у привитых, исходно имевших титры антител к вирусам гриппа ниже протективного значения (менее 1/40): 20 случаев среди больных ВИЧ-инфекцией и 29 случаев в контрольной группе. У четырех больных ВИЧ-инфекцией с разным уровнем иммуносупрессии исходное значение титра антител к антигену А/Н1N1 – 1/20 не изменилось в ходе шести месяцев наблюдения после вакцинации. Это были трое мужчин и одна женщина в возрасте 30-36 лет. Пациенты имели количество $CD4^+$ -лимфоцитов от 128 до 603 клеток/мкл и величину вирусной нагрузки от неопределяемой до $4,8 \times 10^5$ копий/мл крови, двое получали и двое не получали АРТ. Это иллюстрирует возможный неуспех вакцинации при разных клинических характеристиках больных ВИЧ-инфекцией. Через три недели после вакцинации СГТА ко всем антигенам у ВИЧ-инфицированных больных увеличились в 1,5-2 раза, и сохранились таковыми до 180 дня наблюдения. При этом значимые различия СГТА по сравнению с исходными уровнями отмечены на 21 и 180 дни к антигенам

А/Н1N1 и В ($p < 0,05$). В контрольной группе СГТА ко всем антигенам увеличился в 4-5 раз к 21 дню после вакцинации и не снизился до 180 дня ($p < 0,05-0,01$). Следует отметить, что СГТА у больных ВИЧ-инфекцией были значимо ниже, чем в контрольной группе ко всем антигенам в динамике наблюдения.

Коэффициент сероконверсии у больных ВИЧ-инфекцией через три недели после вакцинации составил от 1,6 до 2,3; к 180 дню – увеличился по антигену вируса гриппа А/Н1N1 до 2,1 и не изменился по антигенам вирусов гриппа А/Н3N2 и В. У привитых в контрольной группе высокий коэффициент сероконверсии на 21 день (от 4,5 до 5,5 по разным антигенам) продолжал рост значений до 5,3-5,8 к 180 дню. Показатель сероконверсии у ВИЧ-инфицированных пациентов оказался низким в динамике наблюдения: 0% по антигену А/Н3N2, 20% по антигену В и 16,7-25% по антигену А/Н1N1. При этом показатель серопротекции достиг 100% по антигенам А/Н3N2 и В уже к 21 дню и сохранился на этом уровне до окончания наблюдения, а по антигену А/Н1N1 был ниже, равен 50% через три недели, но увеличился до 66,7% к 180 дню после вакцинации. У лиц контрольной группы в динамике наблюдения отмечены 100% показатель сероконверсии и показатель серопротекции по всем антигенам.

Формирование иммунологической памяти у больных ВИЧ-инфекцией после вакцинации против гриппа. В группе больных ВИЧ-инфекцией исходный уровень Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ был ниже, а уровень Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$ – выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). Это, вероятно, обусловлено закономерностями изменений общей численности Т-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции, приводящими к уменьшению иммунорегуляторного индекса вследствие снижения $CD4^+$ - и повышения $CD8^+$ -лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов обоих фенотипов не зависело от выраженности иммуносупрессии и не различалось в группах больных ($p > 0,05$). В динамике наблюдения у ВИЧ-инфицированных лиц произошло снижение значений обоих показателей, причём для Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$ это снижение было значимым ($p < 0,001$). Обращает на себя внимание тот факт, что в группе контроля также отмечено уменьшение обеих величин, но со значимым изменением Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ ($p < 0,05$). В результате на 180 день после вакцинации сохранились различия количества клеток памяти между группами: Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ в контроле осталось больше, а Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$ – меньше, чем у больных ($p < 0,01$). Среди ВИЧ-инфицированных лиц на 180 день после вакцинации уровни Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ остались схожи при разной степени иммуносупрессии ($p > 0,05$) (Рисунки 4, 5).

Для интегральной оценки поствакцинального иммунитета сопоставили показатели Т-клеток памяти и титров антител к вирусам гриппа. Корреляционных связей какой-либо силы между исходными параметрами клеток памяти и титрами антител к вирусам гриппа не выявили.

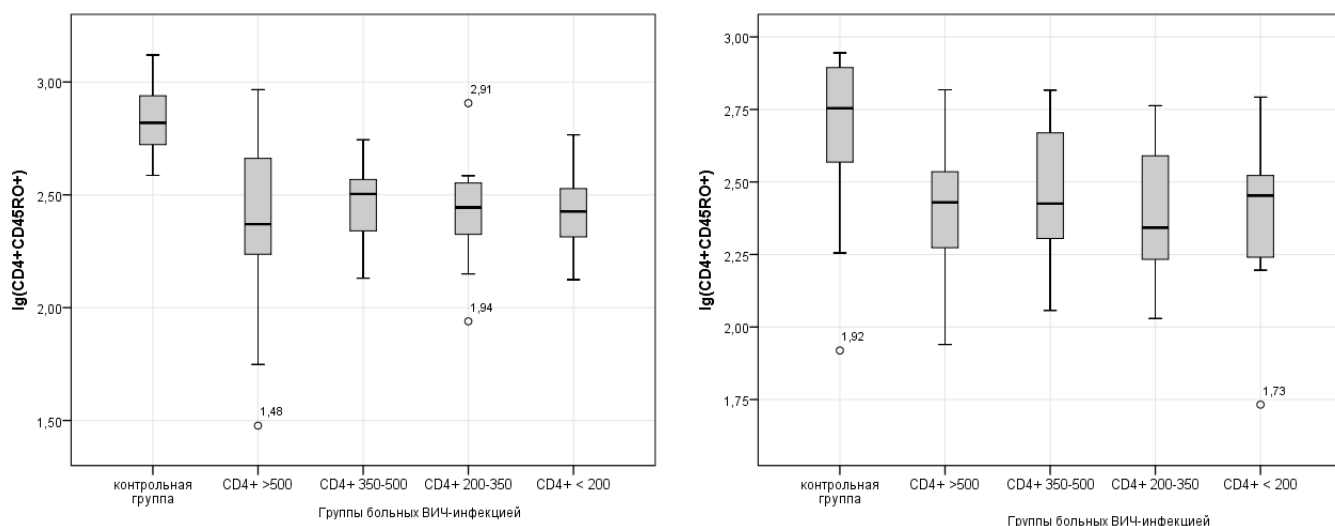


Рисунок 4 – Показатель Т-лимфоцитов $\text{CD4}^+\text{CD45RO}^+$ в группах в динамике наблюдения.

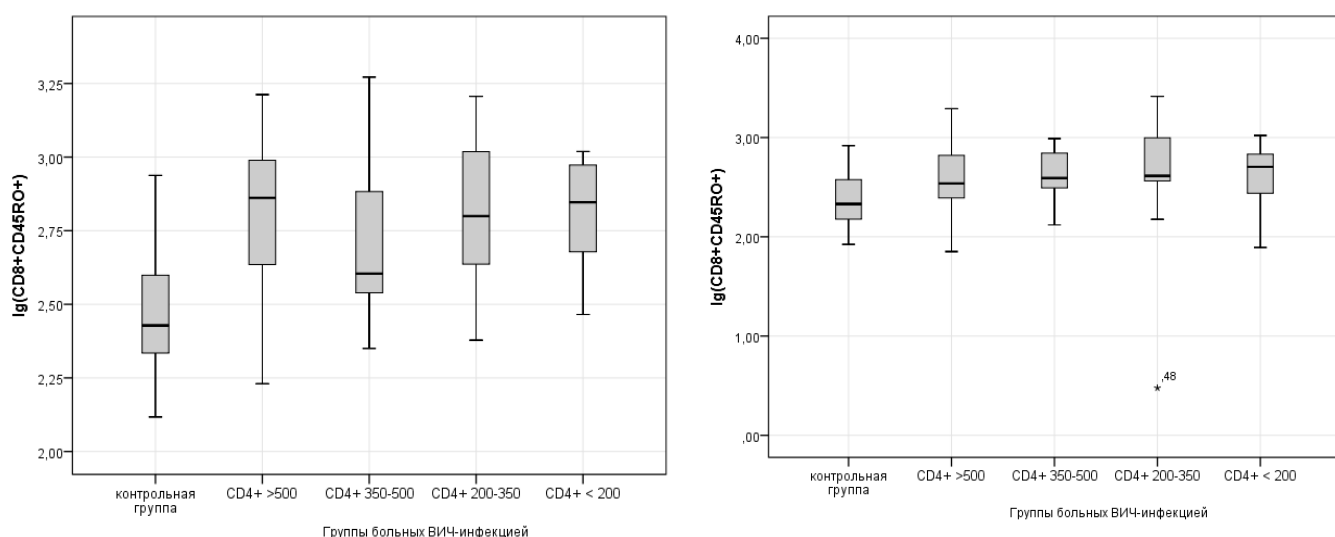


Рисунок 5 – Показатель Т-лимфоцитов $\text{CD8}^+\text{CD45RO}^+$ в группах в динамике наблюдения.

Для оценки взаимосвязи динамики и выраженности изменений уровня клеток памяти и титров антител к различным типам вирусов гриппа провели расчет коэффициентов. За коэффициент приняли отношение конечного значения показателя на 180 день к исходному, в день 0, вычисленное для абсолютного значения клеток $\text{CD4}^+\text{CD45RO}^+$ и $\text{CD8}^+\text{CD45RO}^+$, а также титров антител к различным серотипам вирусов гриппа (A/H1N1, A/H3N2, B). Средние значения коэффициентов Т-лимфоцитов памяти не различались в группах контроля и ВИЧ-инфицированных пациентов, равно как оказались схожи в группах больных с разным уровнем иммуносупрессии ($p > 0,05$). В свою очередь, коэффициенты титров антител были выше в группе контроля ($p < 0,001$), и не различались в группах больных ВИЧ-инфекцией ($p > 0,05$). Также в сравниваемых группах не выявили корреляционных связей между коэффициентами Т-лимфоцитов $\text{CD4}^+\text{CD45RO}^+$ и $\text{CD8}^+\text{CD45RO}^+$: значения ρ Спирмана = 0,329 ($p = 0,156$) для группы контроля и ρ Спирмана = 0,15

($p=0,236$) для группы больных (Рисунок 6). Корреляционных связей между коэффициентами клеток памяти и титров антител к вирусам гриппа не выявили (Таблица 1).

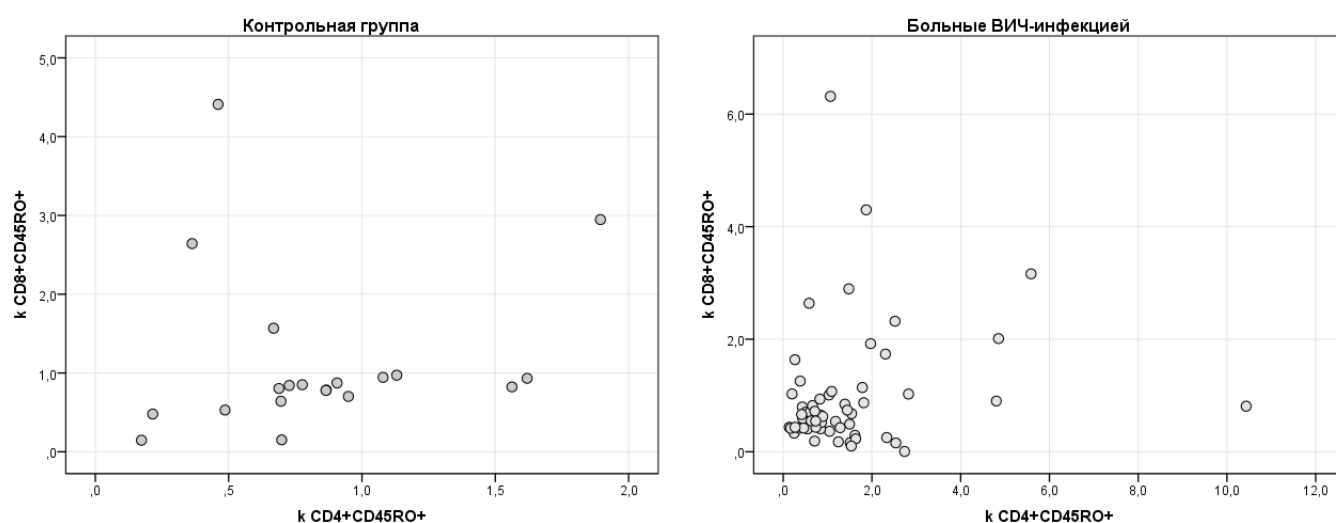


Рисунок 6 – Корреляционные связи коэффициентов клеток памяти в группах сравнения.

Таблица 1 – Корреляционные связи коэффициентов Т-клеток памяти и титров антител в группах вакцинированных лиц (коэффициент Спирмана)

к Т-лимфоцитов	к антител к вирусам гриппа		
	А/Н1N1	А/Н3N2	В
Группа контроля			
$CD4^+CD45RO^+$	$\rho = -0,129$; $p = 0,598$	$\rho = -0,238$; $p = 0,313$	$\rho = -0,072$; $p = 0,762$
$CD8^+CD45RO^+$	$\rho = -0,289$; $p = 0,231$	$\rho = -0,044$; $p = 0,855$	$\rho = -0,273$; $p = 0,244$
Группа больных ВИЧ-инфекцией			
$CD4^+CD45RO^+$	$\rho = 0,249$; $p = 0,057$	$\rho = 0,178$; $p = 0,176$	$\rho = 0,200$; $p = 0,129$
$CD8^+CD45RO^+$	$\rho = 0,006$; $p = 0,966$	$\rho = 0,055$; $p = 0,678$	$\rho = 0,072$; $p = 0,589$

Закключение. Проведенное нами исследование свидетельствует об отсутствии негативного влияния вакцинации против гриппа на течение ВИЧ-инфекции у больных с разной степенью иммуносупрессии, в том числе не получающих АРТ. Иммунологические и вирусологические показатели больных, отражающие течение заболевания, после иммунизации против гриппа не ухудшались как в ранние, так и в поздние сроки поствакцинального периода, в том числе у пациентов без АРТ. Мы не зарегистрировали клинических признаков прогрессирования ВИЧ-

инфекции у привитых больных на протяжении периода наблюдения. Также в пользу этого свидетельствует сохранность гомеостаза по данным параметров гемограммы и биохимического анализа крови у привитых больных: основные показатели оставались в пределах референтных значений через 180 дней после прививки. Хотя местные и общие реакции на прививку от гриппа у больных ВИЧ-инфекцией регистрировали чаще, чем в контрольной группе, однако степень выраженности симптомов была легкой, а срок регистрации – коротким, схожим со сроками в контрольной группе. Местные реакции у ВИЧ-инфицированных лиц оказались типичными, слабыми и непродолжительными, а выраженность иммуносупрессии не изменяла реактивность больных.

Результаты нашего исследования также иллюстрируют недостаточный серологический ответ больных ВИЧ-инфекцией на иммунизацию против гриппа. Менее чем у 10% привитых показано четырехкратное увеличение титров антител к вирусам гриппа. При этом такого нарастания титров не произошло ни у одного больного с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл. Однако прогностически важным на наш взгляд является факт сохранения защитных титров антител до 180-го дня исследования. Такой результат позволяет говорить об удержании серопротекции на протяжении шести месяцев – периода, необходимого для защиты в сезон высокой заболеваемости гриппом.

Также мы показали, что с точки зрения оценки иммунологической эффективности вакцинации против гриппа, определение количества Т-лимфоцитов с иммунофенотипом $CD4^+CD45RO^+$ и $CD8^+CD45RO^+$ в отдаленный период оказалось неперспективным. Вакцинированные из контрольной группы, ответившие высокой сероконверсией и серопротекцией, показали ту же динамику клеток памяти, что и ВИЧ-инфицированные больные, которые не достигли сероконверсии. Кроме того, корреляционных связей показателей Т-клеток памяти и степени выработки противогриппозных антител не обнаружили ни в одной из наблюдаемых групп.

Таким образом, результаты нашего исследования продемонстрировали безопасность, но в тоже время недостаточный серологический ответ у ВИЧ-инфицированных на иммунизацию против гриппа, что свидетельствует о необходимости разработки стратегии вакцинации гриппозными вакцинами больных ВИЧ-инфекцией.

ВЫВОДЫ

1. У больных ВИЧ-инфекцией на протяжении 12 месяцев после вакцинации против гриппа не установлено прогрессирования клинических проявлений болезни и ухудшения иммунологических (количество $CD4^+$ -лимфоцитов) и вирусологических (вирусная нагрузка ВИЧ) показателей в крови. Основные параметры клинического и биохимического анализа крови остались без изменений или в пределах референтных значений в течение шести месяцев поствакцинального периода.
2. Показатели постпрививочного гуморального ответа у ВИЧ-инфицированных лиц, не имевших исходно антител к возбудителям гриппа, не соответствовали критериям развития полноценного иммунного ответа на вакцинацию. Коэффициент сероконверсии не достиг 2,0, показатель сероконверсии – был менее 30% ко всем вакцинным антигенам вирусов гриппа.
3. В случае формирования протективного уровня антител после вакцинации у больных ВИЧ-инфекцией он сохранялся не менее шести месяцев – срока, достаточного для сезонной защиты от гриппа. В период 180 дней наблюдения зарегистрированы 7 случаев (4,1%) острых респираторных заболеваний среди привитых ВИЧ-инфицированных лиц.
4. Больные ВИЧ-инфекцией в первые дни после вакцинации против гриппа чаще, чем лица контрольной группы испытывали недомогание (34,5% и 12,0%, $p=0,0001$) и головную боль (26,9% и 2,0%, $p<0,01$). Симптомы были легкими, степень выраженности и длительность признаков не отличались от контрольной группы. Частота регистрации недомогания увеличивалась соответственно выраженности иммунодефицита, максимальной была у пациентов с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл – 47,1%.
5. Местные реакции после введения вакцины против гриппа развились у ВИЧ-инфицированных привитых чаще, чем в контрольной группе (28,3% и 4,0%, $p=0,002$). У больных с разной степенью иммунодефицита проявления были типичные, слабой выраженности, непродолжительные и купировались самостоятельно.
6. Установлена схожесть динамики показателей Т-клеточной иммунологической памяти у привитых больных и лиц контрольной группы, что свидетельствует об адекватности иммунного ответа больных на введение вакцины против гриппа. До и после вакцинации у больных ВИЧ-инфекцией уровень Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ был ниже, а уровень Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$ – выше, чем в контрольной группе. Через шесть месяцев после вакцинации значения обоих показателей снизились: у ВИЧ-инфицированных привитых в большей степени уровень Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$, в группе контроля – уровень Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$. Параметры не различались у пациентов с различной выраженностью иммунодефицита в динамике наблюдения.
7. Показатели Т-лимфоцитов $CD4^+CD45RO^+$ и Т-лимфоцитов $CD8^+CD45RO^+$ не коррелируют друг с другом и со значениями титров антител к вакцинным антигенам вирусов гриппа у привитых больных ВИЧ-инфекцией и лиц контрольной группы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано ежегодно перед началом сезона прививать больных ВИЧ-инфекцией инактивированной вакциной против гриппа.
2. Степень иммунодефицита, напряженность виремии и/или отсутствие антиретровирусной терапии не являются основаниями для отказа от вакцинации против гриппа ВИЧ-инфицированных лиц.
3. Вакцинацию против гриппа больным ВИЧ-инфекцией с количеством $CD4^+$ -лимфоцитов менее 200 клеток/мкл проводить на фоне антиретровирусной терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

С учетом доказанной безопасности, но низкой иммуногенности примененной схемы вакцинации против гриппа больных ВИЧ-инфекцией очевидна необходимость разработки более эффективной стратегии иммунизации. В первую очередь целесообразно оценить результаты метода введения бустерных доз вакцины и/или применения препаратов с высокими дозами антигенов вирусов гриппа.

На следующем этапе считаем необходимым утверждение нормативных документов, регламентирующих вакцинацию против гриппа ВИЧ-инфицированных лиц.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Яппаров, Р.Г. Оценка иммуногенности противогриппозной вакцины у серонегативных к гриппу больных ВИЧ-инфекцией / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова, Т.Л. Галанкин, Т.В. Антонова // Терапия. – 2018. – № 2. – С. 83-88.
2. Яппаров, Р.Г. Поствакцинальный иммунный ответ у серонегативных к вирусу гриппа больных ВИЧ-инфекцией / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова, В.А. Ларионов, Т.Л. Галанкин // Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10, № 1. – С. 96-102.
3. Яппаров, Р.Г. Иммунологическая эффективность вакцинации ВИЧ-инфицированных от гриппа / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова // Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания : Материалы V Всерос. междисциплинарной науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Сочи, 2018. – С. 290-291.
4. Яппаров, Р.Г. Поствакцинальный иммунный ответ у серонегативных к вирусу гриппа больных ВИЧ-инфекцией / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова, Т.Л. Галанкин // Сборник тезисов VI международной Конференции по ВИЧ/СПИДу в Восточной Европе и Центральной Азии. – М.: ЕЕСААС, 2018. – С. 114.
5. Яппаров, Р.Г. Формирование иммунологической памяти у больных ВИЧ-инфекцией после вакцинации против гриппа / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова // IV Санкт-Петербургский форум по ВИЧ-инфекции с международным участием. 30-летие СПб Центра

- по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. – Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11, № 3, прил. 1. – С. 157.
6. Яппаров, Р.Г. Эффективность и безопасность вакцинации от гриппа больных ВИЧ-инфекцией / Р.Г. Яппаров, Д.А. Лиознов, Е.Ю. Карнаухова // Современные технологии диагностики, лечения, профилактики инфекционных и паразитарных болезней : Международная науч.-практ. конф. (Бухара, 8-9 апреля 2019 г.) : сб. материалов / под ред. А.Ш. Иноятова. – Бухара: 2019. – С. 304-305. – URL: http://bsmi.uz/images/material_gallery/11-04-2019/konfrensiya_tuplam.pdf
7. **Яппаров, Р.Г. Иммунный ответ на вакцинацию против гриппа у больных ВИЧ-инфекцией / Р.Г. Яппаров, Е.Ю. Карнаухова, Д.А. Лиознов // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – Т. 12, № 1. – С. 75-82.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРТ	– антиретровирусная терапия
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ВН ВИЧ	– вирусная нагрузка вируса иммунодефицита человека
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
РТГА	– реакция торможения гемагглютинации
СГТА	– средние геометрические значения титров антител
CPMP EMEA	– Committee For Proprietary Medicinal Products European Medicines Agency
	– Комитет по патентованным лекарственным препаратам Европейского агентства по оценке лекарственных средств
k	– коэффициент