© Колотило Т.Р., 2019
УДК 616.98:578.828.6+616-002.5]-02-092-097
DOI 10.11603/1681-2727.2019.2.10327

Т.Р. Колотило

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ІМУНОПАТОГЕНЕЗ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ ТА ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Буковинський державний медичний університет

Мета роботи *– базуючись на останніх світових дослідженнях, оцінити імунопатогенез ВІЛ-інфекції та туберкульозу (ТБ).*

Наведено основні імунопатогенетичні механізми розвитку і прогресування ВІЛ-інфекції та туберкульозу, а також пояснені шляхи посилення ефекту їх поєднаної дії. З прогресуванням ВІЛ-інфекції зменшується кількість і порушується функціональна активність $CD4^+$Т-лімфоцитів. У кістковому мозку посилюється синтез лімфоцитів і компенсаторно активується гуморальний імунітет. Хронічні хвороби або інфекції зумовлюють виснаження компенсаторних механізмів, унаслідок чого поступово знижується кількість лімфоцитів, ще більше порушується клітинний імунітет, а з порушенням функції В-лімфоцитів змінюється і гуморальна імунна відповідь.

Приєднання інтеркурентних захворювань у ВІЛ-інфікованих і хворих на ВІЛ-інфекцію залежить від стану клітинного і гуморального імунітету, рівня $CD4^+$Т-лімфоцитів, зниження якого до 300 кл./мкл крові є визначальним фактором приєднання вторинної патології.

Наростання ураження імунної системи врешті-решт призводить до розвитку опортуністичних інфекцій. У цих умовах імунна система не може стримувати персистенцію мікобактерій туберкульозу (МБТ), що і спричинює розвиток клінічних форм ТБ. Значне пошкодження і зниження кількості $CD4^+$Т-лімфоцитів у хворих з поєднаною ВІЛ/ТБ-інфекцією супроводжується значним ослабленням активності альвеолярних макрофагів, посиленим розмноженням в легенях МБТ, що сприяє їх дисемінації.

Ключові слова: *ВІЛ-інфекція, туберкульоз, імунопатогенез.*

Питання патогенезу ТБ у ВІЛ-інфікованих, взаємодії на клітинному рівні дуже складні й недостатньо вивчені. Йдеться не лише про падіння числа $CD4^+$Т-лімфоцитів при ВІЛ-інфекції, що істотно підвищує сприйнятливість до зараження МБТ і призводить до реактивації латентної ТБ-інфекції. *In vitro* було показано збільшення здатності ВІЛ до реплікації під дією антигенів МБТ, що підтверджувалося збільшенням числа копій РНК ВІЛ у периферичній крові [1].

Сформулюємо основні відомі імунопатогенетичні механізми розвитку та прогресування ВІЛ-інфекції, туберкульозу і з'ясуємо шляхи посилення ефекту їх поєднаної дії. Зміни з боку Т-лімфоцитів при ВІЛ-інфекції проявляються зниженням проліферації і клоноутворення, а також пригніченням реактивності у змішаній культурі лімфоцитів і порушенням процесів диференціювання [2]. Усі ці порушення обумовлені декількома причинами.

По-перше, на інфіковані вірусом клітини формується імунна відповідь, що включає цитотоксичні лімфоцити ($CD8^+$Т-лімфоцити), природні кілери і антитіла, що уражають Т-лімфоцити $CD4^+$ як опосередкованим (АТ-залежна цитотоксичність: після приєднання АТ до мембранозв'язаних віріонів клітини знищуються ПК), так і прямим шляхом (ЦТЛ, ПК) [3, 4].

По-друге, втратою здатності Т-клітин продукувати ІЛ-2. У міру прогресування патологічного процесу наростає дефіцит ІЛ-2, що, у свою чергу, супроводжується зменшенням субпопуляції $CD4^+$Т-лімфоцитів, пригніченням їх хелперної активності [5].

По-третє, безпосередньою загибеллю клітин у результаті дії вірусу: встановлено, що молекула Gp120 має аллоепітопи, ідентичні епітопам молекул 2 класу HLA-системи, що дозволяє ВІЛ вислизати з-під імунного нагляду і проникати в клітини-мішені [6]. Внаслідок брунькування вірусних часток пошкоджуються мембрани інфікованої клітини. Крім того, виснаження запасу поживних речовин та енергоресурсів у клітині веде до того, що вона гине, можливо, встигаючи дати сама собі «наказ про знищення» шляхом апоптозу (в даному випадку безкаспазним шляхом) [7].

По-четверте, загибель лімфоцитів може відбуватися в результаті утворення синцитію, що складається з вірусних часток і лімфоцитів. Формування синцитіальних клітин пов'язують з наявністю на поверхні інфікованих клітин молекул, що «стирчать» назовні, білка Env, який має спорідненість до CD4-рецепторів і формує містки

між сусідніми лімфоцитами. Ці конгломерати можуть тромбувати капіляри, а лімфоцити, що потрапили в цей тромб, гинуть [8].

По-п'яте, ВІЛ-інфіковані лімфоцити гинуть внаслідок цитотоксичної дії ФНП-α, що реалізується через апоптоз [9]. Каспазний шлях апоптозу провокується білками ВІЛ-1 (NEF, TAT), кожен з яких має здатність до підвищення експресії FAS і FAS-ліганд [7].

Однією з причин зниження рівня $CD4^+$Т-лімфоцитів у крові при ВІЛ-інфекції може бути порушення їх циркуляції. Показано, що лімфоцити, які експресують рецептори для ВІЛ – CD4 і CXCR4, мігрують з крові й периферичних тканин, де вони зазвичай знаходяться, в кістковий мозок [10].

Важливим моментом у патогенезі ВІЛ-інфекції на сьогодні є теорія передчасного старіння імунної системи. Наслідки хронічної активації імунної системи украй несприятливі, оскільки активний поділ $CD4^+$Т-лімфоцитів супроводжується масовою продукцією ВІЛ. Крім того, активація клітин імунної системи також є одним з пускових факторів апоптозу. Практично відразу після попадання ВІЛ в організмі формується потужний противірусний імунітет, провідну роль в якому відіграють ЦТЛ ($CD8^+$Т-лімфоцити). Вони зумовлюють лізис ВІЛ-інфікованих клітин при співвідношенні ЦТЛ/мішень, як 50/1 протягом 6 год - 4 діб. У пізній стадії захворювання спостерігається зниження активності ЦТЛ, але механізми цього феномену залишаються не до кінця зрозумілими. Недавні дослідження показали, що $CD8^+$Т-лімфоцити при ВІЛ-інфекції мають ряд аномалій у вигляді порушення проліферації і дозрівання, зниження кількості внутрішньоклітинного перфорину і пов'язану з цим знижену лізисну здатність. Таким чином, ці клітини вже не можуть значною мірою компенсувати кількість і функціональну неповноцінність $CD4^+$Т-лімфоцитів [11]. Через загибель $CD4^+$Т-лімфоцитів і моноцитів відбувається заповнення популяції новими клітинами, що зумовлює підвищену проліферативну активність і помірне вкорочення їх теломер. А також зростає відсоток проліферуючих антигенспецифічних $CD8^+$Т-лімфоцитів у відповідь на інфекцію. Імунна система влаштована таким чином, що намагається відновити загальне число лімфоцитів незалежно від того, число яких лімфоцитів – $CD4^+$ або $CD8^+$ зменшується. Отже, на ранній стадії ВІЛ-інфекції загальне число Т- лімфоцитів залишається нормальним, але співвідношення CD4/CD8 Т-лімфоцитів зменшується, оскільки одночасно йде кількісне заміщення гинучої популяції $CD4^+$Т-лімфоцитів популяцією $CD8^+$Т-лімфоцитів, що позначається на нездатності адекватно відповідати на вірусні антигени і призводить до того, що ступінь тяжкості захворювання зростає [7].

Крім того, частина $CD4^+$Т-лімфоцитів входить у стан анергії після контакту з «толерогенними» дендритними клітинами, що не дозволяє їм вступати в подальшу взаємодію з клітинами імунної системи і тим самим пригнічується імунна відповідь. Т-клітини стають нездатними до проліферації. Ці клітини-супресори – Т регуляторні (Treg.) – відіграють одну з ключових ролей у ВІЛ-інфікованому організмі. Популяція $CD4^+CD25^+$Т-клітин людини гетерогенна за функціональними властивостями і фенотипними ознаками. Вона включає популяції проліферуючих $CD4^+CD45RA^+CD45R0^+CD25^{low}$ Т-клітин і «регуляторних» (Treg.–Tregulatory) $CD4^+CD45R0^+CD25^{high}$ Т-лімфоцитів. Treg. клітини мають наступний фенотип $CD3^+CD4^+CD25^{high}CD45R0^+CD95^+$, проте найбільш важливим їх маркером є FoxP3. Деякі автори стверджують, що зменшення кількості Treg. корелює зі збільшенням апоптозу $CD8^+$Т-лімфоцитів і прогресуванням хвороби [12]. Інші проведені дослідження говорять про те, що рівні Treg. були значно вищі у хворих на ВІЛ-інфекцію, ніж у незаражених пацієнтів, а також у хворих, які отримували АРТ (після 1 і 5 років), незважаючи на повне пригнічення РНК ВІЛ і нормалізацію $CD4^+$Т-лімфоцитів [13]. Рівні Treg. були нижчі при дослідженні у пацієнтів з гострою стадією ВІЛ-інфекції порівняно з пацієнтами у безсимптомній стадії [14].

Дослідження в Китаї показали, що частота $CD4^+CD25^+$FoxP3 (Treg.) була вища в пацієнтів у термінальній стадії ВІЛ-інфекції, ніж при безсимптомній ВІЛ-інфекції і корелювала з вірусним навантаженням, $CD4^+CD95^+$ і $CD8^+CD95^+$ [15]. Також встановлено, що кількість $FoxP3^+$Treg. корелює зі зменшенням функціональної активності $CD4^+$Т-лімфоцитів [16].

Крім дезорганізації клітинного імунітету, при ВІЛ-інфекції спостерігаються порушення і в гуморальній ланці. Так, було доведено, що при гострому розвитку інфекції число клітин, що секретують антитіла, різко збільшується, проте це не супроводжується збільшенням пулу імуноглобулінів, тоді як при хронічному перебігу інфекції на тлі невеликого числа антитілопродукувальних клітин виявляється значна гіпергаммаглобулінемія, яка наростає у міру прогресування інфекції. При цьому 95 % імуноглобулінів, незважаючи на присутність вірусу, є неспецифічними [17]. ВІЛ-інфекція супроводжується неспецифічною поліклональною активацією В-лімфоцитів, що зумовлена дією самого вірусу, а також іншими факторами (мікроорганізмами, цитокінами, втратою Т-хелперного контролю і т.д.) і проявляється гіпергаммаглобулінемією, підвищенням рівня імунних комплексів у сироватці крові та автоантитіл [18].

Обговорюючи імунологічні проблеми ВІЛ-інфекції, не можна не зупинитися на ролі макрофагів у формуванні імунодефіциту. Останнім часом були відкриті

субтипи ВІЛ, які проявляють тропізм саме до макрофагів і характеризуються низькою швидкістю реплікації й нездатністю формувати синцитій. Припускається можливість прямої дії вірусу на макрофаги, а також здатності збудника індукувати продукцію безлічі різних факторів, які можуть блокувати функціональну активність лімфоцитів і макрофагів, і тим самим сприяти безперешкодній реплікації вірусу в клітинах.

Встановлена значна роль цитокінів у патогенезі ВІЛ-інфекції. Відомо, що ВІЛ-інфекція асоціюється з підвищеним рівнем ІЛ-6 та ІЛ-4 у плазмі. Макрофаги і Т-хелпери у відповідь на специфічну антигенну дію здатні продукувати ІЛ-6, що відіграє важливу роль у патогенезі В-клітинної активації при ВІЛ-інфекції [19] .

Такі цитокіни, як ФНП-α, ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4 відіграють значну роль у реплікації ВІЛ (збільшують експресію вірусу, зумовлюють пряму цитопатичну дію, ініціацію апоптозу (ФНП-α), поліклональну активацію В-лімфоцитів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4) [20].

Попадання будь-якого антигену в лімфовузол викликає імунну відповідь, включає синтез і секрецію цитокінів. Локальна підтримка значних концентрацій цитокінів у лімфовузлах активуватиме ВІЛ-експресію в клітинах, що дають притулок інтегрованим, але дрімаючим віріонам і сприятиме їх розповсюдженню в інші клітини лімфовузлів. Комплекс імунорегуляторних цитокінів, що забезпечують імунний гомеостаз, навіть протягом безсимптомної стадії ВІЛ-інфекції сприяє підтримці постійного рівня вірусної експресії [21].

Підвищений вміст цитокінів ФНП-α, ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4 в периферичній крові є однією з характерних ознак прогресування ВІЛ-інфекції.

З другого боку, ІЛ-2, ІЛ-12 та ІФН-γ є факторами захисту організму від розповсюдження вірусу шляхом активації проліферації і диференціювання ЦТЛ, що є стримуючим чинником розвитку в клітинах вірусу імунодефіциту людини. Т-хелпери-1, що продукують в основному ІЛ-2 та ІФН-γ, активують клітинно-опосередковану імунну відповідь, тоді як Т-хелпери-2 секретують ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-10 і стимулюють гуморальну ланку імунної відповіді. Ключовими цитокінами адаптивної клітинної і гуморальної імунної відповіді залишаються ІФН-γ та ІЛ-4 як головні медіатори Th1 і Th2 відповідно. Практика показує, що визначення сироваткових концентрацій цих двох цитокінів або співвідношення Т-клітин, що містять ІФН-γ або ІЛ-4, дає можливість орієнтовної оцінки балансу Th1/Th2-відповідей і стану імунного захисту пацієнтів. ІФН-γ виконує безліч функцій в імунному захисті проти інфекцій. Він є важливим медіатором як доімунного захисту, так і імунної відповіді, що розвивається. Це відбувається завдяки тому, що продукувати цей цитокін здатні клітини різного походження. Джерелом «раннього» ІФН-γ є клітини вродженого імунітету: нейтрофіли, в яких, як з'ясувалося, знаходяться його запаси, МФ, ПК, Т-лімфоцити з маркерами ПК (ЕКТ) і γδТ-клітини. Безпосередня роль ІФН-γ в доімунній фазі захисту полягає в пригніченні реплікації вірусів, активації фагоцитозу і цитотоксичної активності ПК. ІФН-γ підвищує експресію mRNA для Toll-подібних рецепторів, що розпізнають деякі віруси, в МФ, епітеліальних та ендотеліальних клітинах. Головними функціями ІФН-γ у розвитку адаптивної імунної відповіді є посилення експресії MHC 1-го і 2-го класів на антигенпредставляючих клітинах, а також активація синтезу ними цитокінів, необхідних для презентації антигена Т-лімфоцитами. У ході імунної відповіді, що розвивається, ІФН-γ сприяє диференціюванню «наївних» Th0 в Th1, перешкоджаючи появі Th2 або пригнічуючи їх функції, допомагає в генералізації CD8 (ЦТЛ). ІФН-γ діє безпосередньо на CD8 через власні рецептори на їх поверхні і сприяє накопиченню цих клітин у ході гострої вірусної інфекції [22]. Основною ефекторною функцією ІФН-γ є організація імунного запалення в місцях реплікації збудника. Індукуючи продукцію хемокінів, він залучає ЦТЛ, Th1 і МФ у вогнище запалення, стимулює їх активність.

Субпопуляції Т-хелперів-1 і Т-хелперів-2 (Th1 і Th2) походять від їх загальних попередників Т-хелперів-0, які секретують переважно ІЛ-12, ІЛ-2, менше ІЛ-4 та ІФН-γ. У більшості випадків імунна система розвиває найбільш ефективну імунну відповідь. При ВІЛ-інфекції спостерігається зменшення продукції ІЛ-2 та ІФН-γ на тлі зростання вмісту ІЛ-4 та ІЛ-10. Ці зміни знаменують перехід з Т-хелперної відповіді 1-го типу в Т-хелперну відповідь 2-го типу, тобто з клітинного імунітету в гуморальний. Переважання останнього асоціюється з прогресуванням ВІЛ-інфекції [13].

Проте інша група дослідників [23] показала, що Т-клітини хворих на ВІЛ-інфекцію при клонуванні *in vitro* дають максимальне число Т-хелперних 0-клонів (Th0), в яких ВІЛ і реплікується. Вони стверджують, що в прогресії ВІЛ-інфекції відбувається зрушення у бік утворення Т-хелперів-0. Головною рисою ВІЛ-інфекції є зменшення продукції цитокінів 1-го типу, причому значніше, ніж наростання продукції 2-го типу цитокінів. На думку авторів, вказаний дисбаланс відіграє роль пускового механізму в умовах виникнення запрограмованої клітинної загибелі.

Рівень продукції ІФН-γ при імунній відповіді значною мірою зумовлений домінуванням субпопуляцій Th1 і Th2. Продукція ІФН-γ ПК-клітинами запускається при їх взаємодії з клітинами-мішенями (пухлинними, зараженими вірусами) і посилюється деякими цитокінами, зокрема ІЛ-12, який є продуктом активованих макрофагів або дендритних клітин. Серед функцій ІФН-γ є й активація

ефекторних функцій макрофагів. Окремі дослідження були присвячені вивченню сироваткової концентрації та спонтанної й індукованої продукції ІФН-γ при ВІЛ-інфекції в розгорнутих стадіях хвороби. Виявлено значне збільшення сироваткової концентрації ІФН-γ, зате спонтанна та індуковані продукції виявилися зниженими порівняно зі здоровими донорами. Отримані результати свідчать про імуносупресію з виснаженням функціональних резервів мононуклеарних клітин периферичної крові, що посилюється у міру прогресування хвороби і є одним з патогенетичних механізмів формування вторинних захворювань як вірусної, так і бактерійної природи [24].

ІЛ-4 продукується переважно Т-хелперами 2. Основні функції цього цитокіну – контроль проліферації, диференціювання і функцій В-клітин, тобто антитільної відповіді. Більшою мірою цей цитокін пригнічує макрофаги [25].

Таким чином, розвиток імунодефіцитного стану при ВІЛ-інфекції є результатом взаємодії клітин імунної системи і вірусу. З одного боку, вірус різними способами уражає імунну систему, з другого – клітини імунної системи сприяють розповсюдженню вірусу в організмі.

Встановлено, що активація окремих опортуністичних інфекцій у ВІЛ-інфікованому організмі залежить від кількості Т-лімфоцитів. Вид вторинної інфекції зумовлений ступенем розбалансування імунної системи, а також збудниками інфекційних захворювань, ендемічних для території, де проживає хворий. Опортуністичні інфекції при ВІЛ-інфекції обумовлені різними мікроорганізмами: сапрофітами (криптококи, аспергіли), представниками нормальної мікрофлори (псевдомонади, клебсієли) та умовно-патогенними організмами (пневмоцисти, токсоплазми, криптоспоридії, ЦМВ, віруси простого герпесу, ізоспори, атипові мікобактерії).

У здорових людей кількість $CD3^+$Т-лімфоцитів становить 1500±700 кл/мкл, $CD4^+$Т-лімфоцитів – 900±200 кл/мкл, $CD8^+$Т-лімфоцитів – 600±200 кл/мкл. У заражених ВІЛ число їх падає на 40-80 од. щорічно.

Коли кількість $CD4^+$Т-лімфоцитів стає менше 500 в 1 мкл, то з'являються перші інфекції (частіше шкіри і слизових оболонок) – молочниця, спричинена грибами кандида, оперізувальний герпес, волосиста лейкоплакія язика (EBV). При глибоких порушеннях імунної системи (кількість хелперів менше 300 в 1 мкл крові), приєднуються тяжкі опортуністичні інфекції: пневмоцистна пневмонія, дисемінований гістоплазмоз, криптококовий менінгіт, токсоплазмоз, герпетична і ЦМВ-інфекції, криптоспоридіоз, мікобактеріоз.

Захист від таких внутрішньоклітинних бактерій як мікобактерії туберкульозу переважно клітинно-опосередкований, який зумовлює накопичення в організмі клону Т-лімфоцитів, що несуть специфічні для цього антигена АГ-розпізнавальні рецептори, і відповідають за клітинні реакції імунного запалення – гіперчутливість сповільненого типу, в яких крім Т-лімфоцитів беруть участь макрофаги. Макрофаги зв'язують *M. tuberculosis* через манозні рецептори і $CD14^+$ (які також зв'язують бактерійний ліпополісахарид). Мікроорганізми, поглинені у фагоцитарну вакуоль, ростуть і мають тенденцію пригнічувати злиття з лізосомами, які містять бактерицидні продукти. Фагоцити секретують хемокіни, які рекрутують моноцити, поліморфонуклеари, і Т-лімфоцити у вогнища ураження. Пацієнти з активним легеневим туберкульозом мають високий рівень хемокінів – MCP 1 та ІЛ-8 в рідині лаважа [26].

Взаємодія Т-лімфоцитів із зараженими макрофагами викликає продукцію макрофагальних цитокінів – ФНП-α, ІФН-γ, трансформуючого фактора росту-β (TGF-β) й інших. У пацієнтів з активним туберкульозом Т-лімфоцити лаважної рідини виробляють більшу кількість ІФН-γ, ніж Т-лімфоцити здорових осіб. Напрямок диференціювання $CD4^+$Т-лімфоцитів, від яких залежить форма специфічної імунної відповіді, контролюється цитокінами, що утворюються в ході запальної реакції. Запальні Th1-лімфоцити потрібні для боротьби з внутрішньоклітинними паразитами, а Th2-лімфоцити – для ефективного захисту проти позаклітинних паразитів. Як зазначалося раніше, ІЛ-4 пригнічує генерацію запальних Th1 і продукцію ІФН-γ, а ІФН-γ гальмує продукцію Th2, продукцію ІЛ-4 і його активацію [27].

Комплекс цитокінів активує $CD4^+$Т-лімфоцити, а вони виробляють цитокіни ІЛ-2 та ІФН-γ, які активують макрофаги й інші лімфоцити.

Показано, що підвищення життєздатності мікобактерій і наростання їх резистентності до антибіотиків поєднується зі зниженням проліферативної активності лімфоцитів, пригніченням продукції ІЛ-2, що свідчить про зниження активності Т-хелперів 1-го типу, а також зі значним посиленням синтезу протитуберкульозних антитіл при зменшенні концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові [28].

Цитотоксичні Т-лімфоцити та макрофагальні лізосомальний реактивний азот (NO) і реактивні радикали також беруть участь у знищенні бактерій. $CD8^+$Т-лімфоцити, які стають чутливими до *M. tuberculosis*, містять в ендоплазматичних гранулах білок (*granulysin*), який вбиває вільні мікроорганізми. Проте *granulysin* не має ніякої активності проти бактерій у макрофагах. Інший білок (*perforin*), також знайдений у гранулах ЦТЛ, викликає лізис альвеолярних макрофагів, що закінчується знищенням внутрішньоклітинних мікроорганізмів. Ця імуноопосередкована активність Т-лімфоцита – *perforin-granulysin* бактерицидний шлях – доповнення до ефек-

ту реактивних молекул азоту й кисню. D. Rodrigues і співавт. виявили значне зменшення числа $CD4^+$Т-лімфоцитів і $CD8^+$Т-лімфоцитів при дисемінованому ТБ, що супроводжується збільшенням експресії $CD38^+$ на $CD8^+$Т-лімфоцитах [29]. З другого боку TGF-β, що має тенденцію зменшувати імунну відповідь і спричиняти деструкцію тканини й фіброз, знижує ІЛ-2-опосередкований проліферативний сигнал для Т-лімфоцитів, зменшує продукцію прозапального цитокіну ІЛ-1 і продукцію ФНП-α моноцитами, пригнічує індукцію реактивних радикалів, синтез ІФН-γ, що викликає хемотаксис поліморфонуклеарів і продукцію протеаз і в кінцевому підсумку сприяє внутрішньоклітинному росту *M. tuberculosis*. Таким чином *M. tuberculosis* стимулює в макрофагах синтез TGF-β, який пригнічує знищення макрофага, пошкоджує тканину і пригнічує реакції Th1-лімфоцитів. Нейтралізація TGF-β може запобігти деяким з цих ефектів у хворих з активним туберкульозом. Ця взаємодія цитокінів важлива у визначенні висліду інфекції. У процесі активації макрофагів клітина збільшує кількість цитоплазми (стає епітеліоїдною), втрачає фагоцитарну здатність і підвищує секрецію цитокінів. Мікобактерії туберкульозу (МБТ) здатні прямо або опосередковано через стимуляцію продукції імуносупресивних цитокінів, пригнічувати функції Т-лімфоцитів і антигенпредставляючих клітин, посилюючи імунну недостатність і детермінуючи несприятливий прогресуючий перебіг туберкульозної інфекції. Близько 50 % хворих з активним туберкульозом характеризується дефектом антигенспецифічної Т-клітинної відповіді, що пов'язано з тяжчим перебігом туберкульозу у зв'язку зі збільшенням апоптозу й анергії Т-клітин у хворих з туберкульозом легень.

Недостатність протитуберкульозного імунітету у хворих на ВІЛ-інфекцію проявляється рано, ще до суттєвого зменшення кількості $CD4^+$Т- лімфоцитів. Можна припустити, що у хворих на таку поєднану інфекцію зменшення кількості $CD4^+$Т-лімфоцитів, що відіграють ключову роль у протитуберкульозному імунітеті, та їх функціональна неповноцінність супроводжуються посиленим розмноженням у легенях МБТ а також їх дисемінацією. Разом з цим МБТ і їх продукти активують розмноження ВІЛ. Так, мононуклеарні клітини периферичної крові хворих з поєднаною інфекцією продукують більшу кількість ФНП-α, ніж це відзначається у хворих тільки на ТБ або хворих тільки на ВІЛ-інфекцію. ФНП-α, необхідний при ТБ для обмеження вогнища інфекції, при поєднаній інфекції сприяє швидшому розмноженню ВІЛ, внаслідок чого поглиблюється імунодефіцит за рахунок активного розвитку двох інфекцій. Необхідно відзначити, що при ВІЛ-інфекції пошкоджуються альвеолярні макрофаги, оскільки вони несуть маркер $CD4^+$, що також відіграє негативну роль при поєднаній інфекції [30].

Таким чином, значне пошкодження і зниження кількості $CD4^+$Т-лімфоцитів у хворих з поєднаною інфекцією супроводжується значним ослабленням активності альвеолярних макрофагів, посиленим розмноженням в легенях МБТ, що сприяє їх дисемінації. Разом з цим МБТ та їх продукти (наприклад, туберкулін) активує розмноження ВІЛ, що простежувалося в культурах альвеолярних макрофагів, отриманих у ВІЛ-інфікованих осіб. Це, у свою чергу, сприяє активації латентної ВІЛ-інфекції.

Під впливом ВІЛ-інфекції у хворих на ТБ змінюється весь профіль секреції цитокінів та їх реакція на попадання ФГА, що безпосередньо корелює з прогресуванням ВІЛ-інфекції. Клітини периферичної крові хворих з подвійною інфекцією продукують значнішу кількість ФНП-α, ІЛ-4, ІЛ-8 під дією туберкуліну, ніж це відзначається у хворих тільки на ТБ або тільки на ВІЛ-інфекцію. Це сприяє швидкому розмноженню ВІЛ.

Публікації, що стосуються досліджень ІФН-γ при поєднаній ВІЛ/ТБ-інфекції, в зарубіжній літературі дуже суперечливі. Так, одні автори стверджують, що кількість сироваткової та індукованої концентрації, як і спонтанна продукція цитокінів значно зменшуються при ВІЛ/ТБ [31].

Є роботи, що, навпаки, свідчать про підвищення рівня сироваткового ІФН-γ у ВІЛ-інфікованих за певних умов. Так, дослідниками в Африці встановлено: пацієнти з ВІЛ/ТБ, в яких кількість $CD4^+$Т-лімфоцитів становила 200-500 кл/мкл, мали високий вміст ІФН-γ і дуже часто характеризувалися ознаками нетипового ТБ. А пацієнти з кількістю $CD4^+$Т-лімфоцитів більше 500 кл/мкл мали низький вміст ІФН-γ і типові прояви ТБ [32]. Учені Великобританії при дослідженні цілісної крові та бронхоальвеолярного лаважа у хворих на ВІЛ/ТБ відзначали підвищений вміст ІЛ-4 та ІФН-γ порівняно з хворими на тільки ВІЛ-інфекцію [33]. При дослідженні австрійськими вченими груп хворих на ТБ були встановлені підвищені рівні ІЛ-2, ІФН-γ та ФНП-α порівняно зі здоровими донорами [34].

Окремі автори вказують на те, що при ВІЛ-асоційованому туберкульозі пригнічений синтез як Th1, так і Th-цитокінів [35]. Хоча, на нашу думку, з урахуванням глибини імунодефіциту та клінічних змін справедливі обидва твердження.

Таким чином, хоча в літературі мало даних про особливості імунних порушень при туберкульозі й туберкульозі у поєднанні з ВІЛ-інфекцією, в основі захисних процесів проти цих двох інфекцій лежать переважно одні й ті ж механізми і, звичайно, за наявності у хворого хоча б одного із зазначених захворювань, зростає сприйнятливість до суперінфекції і ступінь тяжкості основного захворювання.

Література

1. Chaves F. Influence of a tuberculosis on current of a HIV-infections at patients with the united pathology / F. Chaves, F. Dronda // AIDS. – 2009. – Vol. 13, N 5. – P. 615-620.

2. Калинина Н.М. Иммунология ВИЧ-инфекции. Иммунодефицитные состояния / Н.М. Калинина, С.А. Кетлинский. – СПб.: «Фолиант», 2010. – С. 411-445.

3. Ferbas J. Perspectives on the role of $CD8^+$ cell suppressor factors and cytotoxic T limfocytes during HIV infection / J. Ferbas // AIDS. – 2008. – Vol. 14, Suppl. 2. – P. 153-160.

4. Shearer G.M. Cellular immunity in long-term nonprogressors looking beyond / G.M. Shearer // J. Acquir Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol. – 2017. – Vol. 15. – P. 40-42.

5. Shearer G.M. Cytokine profiles in HIV type 1 disease and protection / G.M. Shearer, M. Clerici // AIDS Res. Human Retrovir. – 2017. – Vol. 14, Suppl. 2. – P. 149-152.

6. HIV-1 directly kills CD4 T cells by a FAS-independent mechanism / [R. Gandhi, B. Chen, S. Straus et al.] // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 187, N 7. – P. 1113-1122.

7. Бабаева И.Ю. Туберкулез у больных ВИЧ-инфекцией в новых эпидемиологических условиях: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2007. – 32 с.

8. Sallusto F. Flexible program of chemokine receptor expression on human polarized T-helper 1 and 2 lymphocytes / [F. Sallusto, D. Lenig, C.R. Machcy] // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 187, N 6. – P. 875-883.

9. No A.G. An allelic polymorphism within the human TNF promoter region is strongly associated with HLA-Al, B8, DIG alleles / A.G. No, N. De Vries // J. Exp. Med. – 2013. – Vol. 177, N 2. – P. 557-560.

10. Sawada S. Disturbed CD4 T cell homeostasis and in vitro HIV susceptibility to transgenic mice expressing T cell line-tropic HIV receptors / S. Sawada, K. Gowrispanker, R. Kitamura // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 187, N 9. – P. 439-449.

11. Deeks S.G. Changes CD8+ cells at the HIV of an infection / S.G. Deeks, D.W. Brüse // J. Clin. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 113. – P. 808-811.

12. The decrease of regulatory T cells correlates with excessive activation and apoptosis of CD8(+) T cells in HIV-1-infected typical progressors, but not in long-term non-progressors / [Y. Jiao, J. Fu, S. Xing et al.] // Immunology. – 2008. – Vol. 180. – P. 1098-1100.

13. Макашева Е.В. Клинико-лабораторные особенности течения ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук (14.01.09. – инфекционные болезни). – СПб. – 2010. – 20 с.

14. HIV-specific regulatory T cells are associated with higher CD4 cell counts in primary infection / [H. Kared, J.D. Lelievre, V. Donkova-Petrini et al.] // AIDS. – 2008. – N 22. – P. 2451-2460.

15. Jiang H. An integrated view of suppressor T cell subsets in immunoregulation / H. Jiang, L. Chess // J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 114, N 9. – P. 1198-1208.

16. Preservation of FoxP3+ regulatory T cells in the peripheral blood of human immunodeficiency virus type 1-infected elite suppressors con-elates with low CD4+ T-cell activation / [A.J. Chase, H.C. Yang, H. Zhang et al.] // J. Virol. – 2008. – N 82. – P. 8307-8315.

17. Bender B.S. Demonstration of defective C3-receptor-mediated clearance by the reticuloendothelial system patients with AIDS / B.S. Bender, J.F. Bohnasch, S.H. Sourlis // J. Clin. Invest. – 2017. – Vol. 79, N 3. – P. 715-720.

18. Morris L. HIV-1 antigen-specific and nonspecific B cell respons are sensitive to combination antiretrovirial therapy / L. Morris, J.M. Binlay, B.A. Clas // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 188, N 2. – P. 233-245.

19. Birx D.L. Induction of IL-6 during human immunodeficiency virus infection / D.L. Birx // Blood. – 2010. – Vol. 76, N 11. – P. 2799-2809.

20. Serum TNF-, IL-1, p24 antigen concentrations and CD4+ cells and soluble TNF receptors in human immunodeficiency vims type 1 infection – correlation to clinical? Immunologic and virologic parameters / [P. Aukrust, N-B. Liabakk, F. Muller et al.] // J. Inf. Dis. – 2014. – Vol. 169, N 2. – P. 420-429.

21. Goldfried M. Soluble receptor for tumor necrosis factor as predictors of progression to AIDS in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1 infection / M. Goldfried, T. Van Der Poll, G. Weverling // J. Inf. Dis. – 2014. – Vol. 169, N 4. – P. 739-745.

22. Whitmire J. Functions IFN-γ in immune protection against in infections / J. Whitmire, J. Tan, J. Whitton // J. Exp. Med. – 2015. – Vol. 201, N 7. – P. 1053-1059.

23. Ravina A. Ability of HIV to promoute a Thl to Th0 shift and to replicate prefentially in Th2 and Th0 cell / A. Ravina, E. Maggi, V. Mazzetti // Science. – 2014. – Vol. 265, N 5169. – P. 244-248.

24. Соколов Ю.В. Анализ цитокинпродуцирующей продукции и рецепторэкспрессирующей способности лимфоцитов при ВИЧ-инфекции / Ю.В. Соколов, Т.И. Кузня, Е.А. Чумакова // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Т. 2, № 11. – С. 270-273.

25. Gea-Banadoche J.C. Progression of HIV-disease in associated with increasing disruption within CD4 Tcell receptor repertoire / J.C. Gea-Banadoche, E.E. Weiscopf // J. Inf. Dis. – 2008. – Vol. 177, N 3. – P. 579-585.

26. Chemokines induced by infection of mononuclear phagocytes with mycobacteria and present in lung alveoli during active pulmonary tuberculosis / [M. Sadek, E. Sada, Z. Toossi et al.] // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2008. – N 19. – P. 513-521.

27. Clerici M.L. Th1 to Th2 swith is a critical step in the ethiology of HIV infection / M.L. Clerici, G.M. Shearer // Immunol. Today. – 2013. – Vol. 14, N 3. – P. 107-110.

28. Сахарова И.Я. Показатели иммунитета и биологические свойства микобактерий при инфильтративном туберкулезе легких / И.Я. Сахарова, Б.М. Ариэль // Проблемы туберкулеза. – 2015. – № 6. – С. 14-17.

29. Rodrigues D.S. Reduction CD4+ and CD8+ at disseminate tuberculosis accompanying with increase exspression CD38+ on $CD8^+$ / D.S. Rodrigues, R. Salomao, E.G. Kallas // Braz. J. Infect. Dis. – 2016. – Vol. 10, N 1. – P. 59-61.

30. Тишкевич О.А. Структура летальных исходов и патологическая анатомия у больных ВИЧ-инфекцией в г. Москва / О.А. Тишкевич, В.И. Шахгильдян, Ю.Г. Пархоменко // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 4. – С. 42-46.

31. Cytokine profile in human immunodeficiency virus positive patients with and without tuberculosis / [S.K. Agarwal, A. Singh, S. Anuradha et al.] // J. Assoc. Physicians. India. – 2011. – Vol. 49. – P. 799-802.

32. Macrophage-activating cytokines in human immununodeficiency virus type 1-infected and uninfected patients with pulmonary tuberculosis / [I.T. Mayanja-Kizza, J.L. Johnson, C.S. Hirsch et al.] // J. Infect. Dis. – 2011. – Vol. 183, N 12. – P. 1805-1809.

33. Expression of a novel cytokine, IL-4 delta2 in HIV and HIV-tuberculosis co-infection / [K. Dheda, J.S. Chang, R.A. Breen et al.] // AIDS. – 2005. – Vol. 14, N 15. – P. 1601-1606.

34. Increased specific T cell cytokine responses in patients with active pulmonary tuberculosis from Central Africa / [S. Winkler, M. Necek, H. Winkler et al.] // Microbes Infect. – 2015. – Vol. 7, N 9-10. – P. 1161-1169.

35. Lakhashe S.K. Dysregulation of cytokines from HIV+ with TB / S.K. Lakhashe // J. Cytokines. – 2015. – Vol. 5. – P. 275-281.

References

1. Chaves, F., & Dronda, F. (2009). Influence of a tuberculosis on current of a HIV-infections at patients with the united pathology. *AIDS,* 13(5), 615-620.

2. Kalinina, N.M., & Ketlinskiy, S.A. (2010). *Immunologiya VICH-infektsii. Immunodefitsitnyye sostoyaniya* [Immunology of HIV-infection. Immunodeficient states]. Saint-Petresburg «Folio» [in Russian].

3. Ferbas, J. (2008). Perspectives on the role of $CD8^+$ cell suppressor factors and cytotoxic T limfocytes during HIV infection. *AIDS,* 14 (2), 153-160.

4. Shearer, G.M. (2017). Cellular immunity in long-term nonprogressors looking beyond. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol*., 15, 40-42.

5. Shearer, G.M., & Clerici, M. (2017). Cytokine profiles in HIV type 1 disease and protection. *AIDS Res. Human Retrovir*., 14 (2), 149-152.

6. Gandhi, R., Chen, B., Straus, S., Dale, J.K., Lenardo, M.J., & Baltimore, D. (2008). HIV-1 directly kills CD4 T cells by a FAS-independent mechanism. *J. Exp. Med.,* 187 (7), 1113-122.

7. Babayeva, I.Yu. (2007). *Tuberkulez u bolnykh VICH-infektsiyey v novykh epidemiologicheskikh usloviyakh* [Tuberculosis for patients with HIV-infection in new epidemiology terms]. *Extended abstract of PhD thesis (Medical sciences).* Moscow [in Russian].

8. Sallusto, F., Lenig, D., & Machcy, C.R. (2008). Flexible program of chemokine receptor expression on human polarized T-helper 1 and 2 lymphocytes. *J. Exp. Med.,* 187 (60), 875-883.

9. No, A.G., & De Vries, N. (2013). An allelic polymorphism within the human TNF promoter region is strongly associated with HLA-Al, B8, DIG alleles. *J. Exp. Med*., 177 (2), 557-560.

10. Sawada, S., Gowrispanker, K., & Kitamura, R. (2008). Disturbed CD4 T cell homeostasis and in vitro HIV susceptibility to transgenic mice expressing T cell line-tropic HIV receptors. *J. Exp. Med.,* 187 (9), 439-449.

11. Deeks, S.G., & Brüse, D.W. (2014). Changes CD8+ cells at the HIV of an infection. *J. Clin. Infect. Dis.,* 113, 808-811.

12. Jiao, Y., Fu, J., Xing, S., Fu, B., Zhang, Z., Shi, M., … Wang, F.S. (2008). The decrease of regulatory T cells correlates with excessive activation and apoptosis of CD8(+) T cells in HIV-1-infected typical progressors, but not in long-term non-progressors. *Immunology*, 180, 1098-1100.

13. Makasheva, Ye.V. (2010). *Kliniko-laboratornyye osobennosti techeniya VICH-infektsii, sochetannoy s tuberkulezom* [Clinical and laboratory features of HIV-infection flow combined with tuberculosis]. *Extended abstract of PhD thesis (Infectious diseases).* Saint-Petersburg [in Russian].

14. Kared, H., Lelievre, J.D., Donkova-Petrini, V., Aouba, A., Melica, G., Balbo, M., Weiss, L., Lévy, Y. (2008). HIV-specific regulatory T cells are associated with higher CD4 cell counts in primary infection. *AIDS*, 22, 2451-2460.

15. Jiang, H., & Chess, L. (2014). An integrated view of suppressor T cell subsets in immunoregulation. *J. Clin. Invest*., 114 (9), 1198-1208.

16. Chase, A.J., Yang, H.C., Zhang, H., Blankson, J.N., & Siliciano, R.F. (2008). Preservation of FoxP3+ regulatory T cells in the peripheral blood of human immunodeficiency virus type 1-infected elite suppressors con-elates with low CD4+ T-cell activation. *J. Virol*., 82, 8307-8315.

17. Bender, B.S., Bohnasch, J.F., & Sourlis, S.H. (2017). Demonstration of defective C3-receptor-mediated clearance by the reticuloendothelial system patients with AIDS. *J. Clin. Invest.,* 79 (3), 715-720.

18. Morris, L., Binlay, J.M., & Clas, B.A. (2008). HIV-1 antigen-specific and nonspecific B cell respons are sensitive to combination antiretrovirial therapy. *J. Exp. Med*., 188 (2), 233-245.

19. Birx, D.L. (2010). Induction of IL-6 during human immunodeficiency virus infection. *Blood*, 76 (11), 2799-2809.

20. Aukrust, P., Liabakk, N-B., Muller, F., Lien, E., Espevik, T., & Froland, S.S. (2014). Serum TNF-, IL-1, p24 antigen concentrations and CD4+ cells and soluble TNF receptors in human immunodeficiency vims type 1 infection – correlation to clinical? Immunologic and virologic parameters. *J. Inf. Dis.,* 169 (2), 420-429.

21. Goldfried, M., Van Der Poll, T., & Weverling, G. (2014). Soluble receptor for tumor necrosis factor as predictors of progression to AIDS in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Inf. Dis*., 169 (4), 739-745.

22. Whitmire, J., Tan, J., & Whitton, J. (2015). Functions IFN-γ in immune protection against in infections. *J. Exp. Med*., 201 (7), 1053-1059.

23. Ravina, A., Maggi, E., & Mazzetti, V. (2014). Ability of HIV to promoute a Thl to Th0 shift and to replicate prefentially in Th2 and Th0 cell. *Science*, 265 (5169), 244-248.

24. Sokolov, Yu.V., Kuznya, T.I., & Chumakova, Ye.A. (2008). Analiz tsitokinprodutsiruyushchey produktsii i retseptorekspressiruyushchey sposobnosti limfotsitov pri VICH-infektsii [Analysis of cytocine producting the products and receptor expression ability of lymphocytes at HIV-infection]. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal – Russian immunological Journal,* 2 (11), 270-273 [in Russian].

25. Gea-Banadoche, J.C., & Weiscopf, E.E. (2008). Progression of HIV-disease in associated with increasing disruption within CD4 Tcell receptor repertoire. *J. Inf. Dis*., 177 (3), 579-585.

26. Sadek, M.I., Sada, E., Toossi, Z., Shwander, S.K., & Rich, E.A. (2008). Chemokines induced by infection of mononuclear phagocytes with mycobacteria and present in lung alveoli during active pulmonary tuberculosis. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol*., 19, 513-521.

27. Clerici, M.L., & Shearer, G.M. (2013). Th1 to Th2 swith is a critical step in the ethiology of HIV infection. *Immunol. Today*, 14 (3), 107-110.

28. Sakharova, I.Ya., & Ariel, B.M. (2015). Pokazateli immuniteta i biologicheskiye svoystva mikobakteriy pri infiltrativnom tuberkuleze legkikh [Indexes of immunity and biological properties of micobacterium at infiltrative lung tuberculosis]. *Problemy tuberkuleza – Problems of Tuberculosis,* 6, 14-17 [in Russian].

29. Rodrigues, D.S., Salomao, R., & Kallas, E.G. (2016). Reduction CD4+ and CD8+ at disseminate tuberculosis accompanying with increase exspression CD38+ on CD8+. *Braz. J. Infect. Dis.,* 10 (1), 59-61.

30. Tishkevich, O.A., Shakhgildyan, V.I., & Parkhomenko, Yu.G. (2004). Struktura letalnykh iskhodov i patologicheskaya anatomiya u bolnykh VICH-infektsiyey v g. Moskva [Structure of fatal outcomes and pathoanatomy for patients with HIV-infection in Moscow]. *Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni – Epidemiology and Infectious Diseases,* 4, 42-46 [in Russian].

31. Agarwal, S.K., Singh, A., Anuradha, S., Singh, N.P., Sokhi, J., & Baveja, U.K. (2011). Cytokine profile in human immunodeficiency virus positive patients with and without tuberculosis. *J. Assoc. Physicians. India,* 49, 799-802.

32. Mayanja-Kizza, H., Johnson, J.L., Hirsch, C.S., Peters, P., Surewicz, K., Wu, M., … Toossi, Z. (2011). Macrophage-activating cytokines in human immununodeficiency virus type 1-infected and uninfected patients with pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis*., 183 (12), 1805-1809.

33. Dheda, K., Chang, J.S., Breen, R.A., Haddock, J.A., Lipman, M.C., Kim, L.U., … Zumla, A. (2005). Expression of a novel cytokine, IL-4 delta2 in HIV and HIV-tuberculosis co-infection. *AIDS*, 14 (15), 1601-1606.

34. Winkler, S., Necek, M., Winkler, H., Adegnika, A.A., Perkmann, T., Ramharter, M., & Kremsner, P.G. (2015). Increased specific T cell cytokine responses in patients with active pulmonary tuberculosis from Central Africa. *Microbes Infect*., 7 (9-10), 1161-1169.

35. Lakhashe, S.K. (2015). Dysregulation of cytokines from HIV+ with TB. *J. Cytokines*, 5, 275-281.

THE MODERN VIEW ON IMMUNOPATHOGENESIS OF HIV-INFECTION AND TUBERCULOSIS

T.R. Kolotylo

Bukovinian State Medical University

SUMMARY. The aim of the study – to assess the immunopathogenesis of HIV-infection and tuberculosis (TB) based on recent world research.

The basic immunopathogenetic mechanisms of development and progression of HIV-infection and tuberculosis are presented, as well as ways of strengthening the effect of their combined action are explained. The number and functionality of CD4⁺ T-lymphocytes is reduced with the progression of HIV-infection. The synthesis of lymphocytes increases and humoral immunity is activated compensatory in the bone marrow. Chronic diseases or infections cause depletion of compensatory mechanisms, resulting in a gradual decrease in the number of lymphocytes, cellular immunity is disturbed even more, and the disturbance of B-lymphocytes function leads to changes of humoral immune response also.

The addition of intercurrent illnesses in HIV-infected patients depends on the state of cellular and humoral immunity, the level of CD4⁺ T-lymphocytes, the reduction of which to 300 cells/ml of blood is a determining factor in the attachment of secondary pathology.

The growth of the affection of the immune system eventually leads to the development of opportunistic infections. Under these conditions, the immune system can not restrain the persistence of mycobacterium tuberculosis (MBT), which leads to the development of clinical forms of TB. The significant damage and decrease in the number of CD4⁺ T-lymphocytes in patients with combined HIV/TB infection is accompanied by significant weakening of the activity of alveolar macrophages, enhanced reproduction in the lungs of MBT, which contributes to their dissemination.

Key words: *HIV-infection; tuberculosis; immunopathogenesis.*

Відомості про автора:

Колотило Тетяна Романівна – асистент кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб, ВДНЗУ «Буковинський державний медичний університет»; E-mail: taniakolotylo15@gmail.com

Information about author:

Kolotylo T.R. – assistant of the Department of Internal Medicine and Infectious Diseases, Bukovinian State Medical University; E-mail: taniakolotylo15@gmail.com

Конфлікту інтересів немає.

Author has no conflict of interest to declare.

Отримано 21.02.2019 р.