

ВИЗНАЧЕННЯ ВІРУСОЛОГІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИРЕТРОВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ПАЦІЄНТІВ ЗА РІВНЕМ ВІРУСНОГО НАВАНТАЖЕННЯ ВІЛ-1

*М.Г. Люльчук, С.В. Антоненко, Н.О. Бабій, А.М. Щербінська,
С.І. Доан, О.М. Можарівська, Т.М. Суховецька
ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л.В.Громашевського АМН України»*

Резюме. *Вивчено вірусологічну ефективність антиретровірусної терапії (АРТ) у ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які отримували її протягом 12 та 18–24 місяців. Встановлено, що у 85,51% ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які знаходились на АРТ протягом 12 місяців та у 95,31% пацієнтів, які приймали терапію протягом 18–24 місяців, рівень вірусного навантаження (ВН) ВІЛ-1 не перевищував 40 РНК-копій/мл, що свідчило про ефективність призначених схем АРТ. У 4,32% пацієнтів, які приймали терапію не менш 12 місяців та у 3,13% осіб, які знаходились на АРТ протягом 18–24 місяців, встановлено високий рівень ВН ВІЛ-1 (більше 1000 РНК-копій/мл) або вірусологічну неефективність АРВ-терапії, що могло свідчити про формування стійкості вірусу до АРВ-препаратів.*

Ключові слова: *ВІЛ-інфекція, вірусне навантаження, антиретровірусні препарати, мутації резистентності ВІЛ.*

Вступ. *Історія етіотропної терапії ВІЛ-інфекції/СНІДу розпочалася у 1987 році із застосування антиретровірусного препарату «Азидотимідин» (АЗТ) – першого зареєстрованого лікарського засобу, що відносився до нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази (НІЗТ). В 1991р. фірма «Bristol Myers Squibb» створила препарат «Диданозин», з цього моменту стала можливою комбінована антиретровірусна терапія (АРТ), яка сприяє:*

продовженню життя хворих на СНІД;

підтримці якості життя у хворих з безсимптомною інфекцією;

покращенню якості життя у хворих з клінічними проявами вторинних захворювань;

попередженню розвитку важких опортуністичних інфекцій, які загрожують життю;

зниженню ризику передачі ВІЛ-інфекції.

Кількість антиретровірусних препаратів, що використовуються для ефективного лікування ВІЛ-інфекції/СНІДу, збільшується з кожним роком. На сьогодні в клінічній практиці використовується п'ять класів АРВ-препаратів [1, 2]:

нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (НІЗТ), механізм дії яких полягає у здатності переривати будівництво ланцюга провірусної ДНК ВІЛ у процесі зворотної транскрипції на ранніх етапах життєвого циклу вірусу;

ненуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази ВІЛ (ННІЗТ), які мають здатність інактивувати вказаний фермент вірусу за рахунок зв'язування з його активним центром;

інгібітори протеази ВІЛ (ІП), котрі блокують фермент, запобігаючи дозріванню вірусного білка-попередника;

інгібітори фузії (ІФ) та CCR5-інгібітори, які перешкоджають проникненню вірусних часток у клітини-мішені;

інгібітори інтегрази ВІЛ (ІІ), механізм дії яких полягає в пригніченні процесу інтеграції вірусного геному.

Розробка принципів високоактивної антиретровірусної терапії (ВААРТ), яка полягає в одночасному застосуванні трьох або чотирьох антиретровірусних препаратів, дозволила більш ефективно контролювати прогресування хвороби та суттєво знизити смертність від ВІЛ-інфекції/СНІДу.

Головним показником ефективності АРВ-терапії є рівень вірусного навантаження ВІЛ. Так, при дослідженні нуклеотидних послідовностей штамів ВІЛ було встановлено, що при рівні вірусного навантаження менш 50 РНК-копій/мл не відбувається формування резистентних штамів вірусу – це найбільш вагомий аргумент на користь підтримки вірусного навантаження на низькому рівні впродовж тривалого часу. І навпаки, рівень вірусного навантаження більш 50 РНК-копій/мл свідчить про вірусологічну невдачу АРВ-терапії та можливість виникнення резистентності вірусу [3].

Метою роботи було визначити вірусологічну ефективність АРВ-терапії у пацієнтів, які приймали АРТ протягом 12 та 18-24 місяців.

Матеріали та методи дослідження. Зразки периферичної крові ВІЛ-інфікованих осіб отримували з клініки ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім.Л.В.Громашевського АМН України» (далі ДУ «ІЕІХ АМНУ») та Донецького обласного центру профілактики та боротьби зі СНІДом.

Для отримання зразків плазми забір крові проводився в пробірці типу «Vacuette®» з 6% розчином ЕДТА із розрахунку 50 мкл ЕДТА на 1 мл крові. Закриті пробірки декілька разів перевертали для перемішування з антикоагулянтом. Пробірку центрифугували 20 хвилин при швидкості ротора 1500 об./хв, після чого відбирали плазму у кількості не менше 1 мл окремими наконечниками з аерозольним бар'єром і переносили в одноразові стерильні пластикові пробірки типу «Eppendorf», об'ємом 1,5мл.

Зразки плазми крові зберігали при температурі – 70сС. Перед проведенням досліджень зразки розморожували і зберігали при температурі 2 – 8сС не довше 6 годин. Допускалося тільки однократне заморожування–відтаювання зразків плазми.

Групи дослідження

З історій хвороб ВІЛ-інфікованих осіб, які перебували на диспансерному обліку у відділенні СНІДу клініки ДУ «ІЕІХ АМНУ» та супроводжувальних анкет до зразків плазми крові ВІЛ-інфікованих мешканців Донецької області, були отримані дані щодо віку ВІЛ-інфікованих осіб, шляху інфікування ВІЛ-1, дати початку та схеми високоактивної антиретровірусної терапії (ВААРТ).

Для встановлення вірусологічної ефективності різних схем ВААРТ визначено рівень вірусного навантаження ВІЛ-1 в зразках плазми крові 390 ВІЛ-інфікованих пацієнтів.

Метод кількісного визначення РНК вірусу імунодефіциту людини 1 типу в режимі «реального часу»

Визначення рівня вірусного навантаження за кількістю РНК-копій ВІЛ-1 в 1 мл плазми крові проводили методом полімеразної ланцюгової реакції і зворотної транскрипції (ЗТ-ПЛР) з використанням комерційних тест-систем «RealTime HIV-1»(Abbott) [4, 5]. Концентрація РНК ВІЛ-1 в зразках плазми крові та контролях обчислювалася за допомогою калібрувальної кривої та позначалася у РНК-копій/мл.

Специфічність зазначеної тест-системи складала близько 99,5%. Діапазон аналітичної чутливості знаходився в межах від 40 до 10 000 000 РНК-копій/мл.

Результати дослідження та їх обговорення. Було проаналізовано 314 історій хвороб ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які перебували на диспансерному обліку в клініці ДУ «ІЕІХ ім.Л.В.Громашевського АМН України», та 109 супроводжувальних анкет до зразків плазми крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів – мешканців Донецького регіону. Отримано дані щодо віку, статі пацієнтів, шляху інфікування, дати початку та схеми високоактивної антиретровірусної терапії.

На основі аналізу історій хвороб та інформаційних матеріалів в дослідження було включено 390 пацієнтів, з яких 211 осіб (54,10 ± 2,52%) становили чоловіки, 179 (45,90 % ± 2,52%) – жінки.

За віком пацієнти розподілялися таким чином:

від 20 до 29 років – 114 (29,3 ± 2,3%) осіб;

від 30 до 39 років – 193 (49,49 ± 2,53%);

40 років і більше – 83 (21,28 ± 2,0%).

Серед 390 пацієнтів – 204 (52,31 ± 2,53%) вживали ін'єкційні наркотики, 186 (47,69 ± 2,53%) – були інфіковані статевим шляхом. Серед ін'єкційних споживачів наркотиків (СІН) більшість становили чоловіки – 168 осіб (82,35 ± 2,67%), співвідношення чоловіків та жінок як 4,67:1. Серед пацієнтів із статевим шляхом інфікування переважали жінки: чоловіків – 43 (23,12 ± 3,09% , жінок – 143 (76,88 ± 3,09%), тобто, співвідношення чоловіків та жінок становило як 0,3:1.

З метою проведення порівняльного аналізу вірусологічної ефективності антиретровірусної терапії у пацієнтів з різною тривалістю АРТ було сформовано дві групи спостереження.

До першої дослідної групи увійшло 138 пацієнтів, які отримували антиретровірусну терапію протягом 12 місяців (табл.1).

Встановлено, що у переважної більшості (85,51 ± 2,99%) ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які знаходились на АРВ-терапії протягом 12 місяців, рівень вірусного навантаження ВІЛ-1 не перевищував 40 РНК-копій/мл, що свідчило про ефективність призначених схем АРТ.

У 14 осіб (10,14 ± 2,57%) через 12 місяців від початку лікування показники вірусного навантаження ВІЛ-1 коливались

від 40 до 1000 РНК копій/мл. Пацієнтів, у яких рівень вірусного навантаження коливається в межах від 40 до 1000 РНК-копій/мл (так звані «бліпи» або тимчасове зростання вірусного навантаження ВІЛ вище рівня, що відповідає межі чутливості тест-системи), рекомендується обстежити повторно через 4 тижня після попереднього тестування [6].

Таблиця 1

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ-1 у пацієнтів, які отримували АРТ протягом 12 місяців

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ-1, РНК-копій/мл	Кількість пацієнтів	
	абсолютна	M±m
<40	118	85,51±2,99
від 40 до 1000	14	10,14±2,57
від 1000 до 40 000	3	2,17±1,24
>200 000	2	1,45±1,02
>500 000	1	0,70±0,71
Всього	138	

У трьох пацієнтів через 8-11 місяців від початку терапії виявлено високий рівень вмісту РНК ВІЛ-1 в плазмі крові, який у двох випадках перевищував 200 тис. РНК-копій/мл, а у 1 пацієнта становив більше 500 тис. РНК-копій/мл, що свідчило про вірусологічну неефективність застосованих схем АРВ-терапії (AZT/ЗТС/LPV/rtv, AZT/ЗТС/EFV). Зразки плазми крові вказаних пацієнтів підготовлено для проведення подальших досліджень (визначення в геномі вірусу мутацій резистентності).

Таким чином, 6 (4,32%) обстежених пацієнтів мали високий рівень вмісту вірусу в крові, що потребувало детального вивчення причин неефективності АРТ та, можливо, термінового перегляду схем лікування.

Другу групу склали пацієнти (64 особи), які отримували антиретровірусну терапію протягом 18 – 24 місяців (табл.2.3).

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ-1 пацієнтів, які отримували АРТ протягом 18 – 24 місяців

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ-1, РНК-копій/мл	Кількість пацієнтів	
	абсолютна	М±m
<40	61	95,31±2,64
від 40 до 1 000	1	1,56±1,55
>1 000	2	3,13±2,18
Всього	64	

Як видно із представлених даних, значне підвищення рівня вірусного навантаження ВІЛ-1 було виявлено у 2 пацієнтів (3,13%).

Отже, тривала АРТ дає позитивні результати більш ніж у 95% пацієнтів, проте у частини пацієнтів спостерігається стійка вірусологічна неефективність АРТ. Встановлені нами рівні вірусологічної неефективності у хворих через 12 міс. (4,32%) і 18-24 міс. (3,13%) від початку АРТ можуть бути наслідком тимчасових порушень режиму прийому препаратів. З іншого боку, вірусологічна неефективність АРТ може свідчити про формування стійкості ВІЛ до антиретровірусних препаратів, що потребує проведення молекулярно-генетичного аналізу геному вірусу для виявлення мутацій резистентності.

Висновки

Встановлено вірусологічну неефективність антиретровірусної терапії у 4,32% ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які приймали АРВ-препарати впродовж 12 місяців та у 3,13% пацієнтів, які отримували АРТ протягом 18-24 міс., що може бути як наслідком тимчасових порушень режиму прийому препаратів, так і результатом формування мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів. Для встановлення причин неефективності АРВ-терапії зразки плазми крові вказаних пацієнтів підготовлено для подальших досліджень (визначення в геномі ВІЛ мутацій резистентності).

Література

1. Бартлет Дж., Галант Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции: Пер. с англ. – М.: EnRus, 2007. – 557 с.

2. Youle M. Overview of boosted protease inhibitors in treatment-experienced HIV –infected patients // J. Antimicrob. Chemoter. – 2007. – Vol.60, N 6. – P. 1195 – 1205.

3. McCutchan FE. Understanding the genetic diversity of HIV-1// AIDS. – 2000. – Vol. 14. - P. 31-44.

4. Swanson P., Huang S., Holzmayer V. et al. Performance of the automated Abbott Real Time™ HIV-1 assay on genetically diverse panel of specimens from Brazil // J. of Virol. Methods. – 2006. – Vol. 134. – P. 237 – 243.

5. Екимов А.Н., Шипулин Г.А., Бочкарев Е.Г., Рюмин Д.В. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real Time PCR) / www.interlabservice.ru/catalog/faq/?id=3422.

6. Клінічний протокол антиретровірусної терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків // МОЗ України. - 2004. – 112 с.

Summary. *Virologic efficiency of therapy (ART) is studied for the patients which got it during 12 and 18-24 months. It is set that in 85,51% patients, which were on ART during 12 months and in 95,31% patients which accepted therapy during 18-24 months, the level of the viral loading (VN) VOL-1 did not exceed 40 RNK-kopiy/ml, that testified to efficiency of the appointed charts of ART. In 4,32% patients, which accepted therapy no less 12 months and in 3,13% persons which were on ART during 18-24 months, the high level of VN is set VOL-1 (more than 1000 RNK-kopiy/ml) or virologic inefficiency of APB-terapii, that could testify to forming of firmness of virus to APB.*

Keywords: *Vil-infektsiya, viral loading, preparations, mutations of is VOL*

Резюме. *Изучена вирусологическая эффективность антиретровирусной терапии (АРТ) у ВИЧ-инфицированных пациентов, которые получали ее в течение 12 и 18-24 месяцев. Установлено, что в 85,51% ВИЧ-инфицированных пациентов, которые находились на АРТ в течение 12 месяцев и в 95,31% пациентов, которые принимали терапию в течение 18-24 месяцев, уровень вирусной нагрузки (ВН) ВОЛ-1 не превышал 40 РНК-копий/мл, что свидетельствовало об эффективности назначенных схем АРТ. В 4,32% пациентов, которые принимали терапию не менее 12 месяцев и в 3,13% лиц, которые находились на АРТ в течение 18-24 месяцев, установлен высокий уровень ВН ВОЛ-1 (больше 1000 РНК-копий/мл) или вирусологическую неэффективность АРВ-терапии, что могло свидетельствовать о формировании стойкости вируса к АРВ-препаратам.*

Ключевые слова: *Вич-инфекция, вирусная нагрузка, антиретровирусные препараты, мутации резистентности ВОЛ.*