УДК 616.9.579.828.:616.921.5.:616.9.578.8.25.12–07

АНАЛІЗ ЧАСТОТИ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ВІЛ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ПАЦІЄНТІВ НА ТЛІ ПРИЙОМУ АНТИРЕТРОВІРУСНИХ ПРЕПАРАТІВ ПЕРШОГО РЯДУ

Люльчук М.Г.

ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім.Л.В.Громашевського НАМН України", м.Київ

Резюме. *Проведено когортні дослідження з визначення частоти та характеру мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів у ВІЛ-інфікованих пацієнтів з різних областей України. Визначено частоту вірусологічної неефективності АРТ в залежності від тривалості лікування: у 5,93% пацієнтів через 6 місяців, у 4,73% через 12 місяців та у 2,62% через 24 місяці від початку терапії. На основі молекулярно-генетичного аналізу геному ВІЛ встановлено спектр мутацій резистентності вірусу до АРВ-препаратів та частоту їх формування у ВІЛ-інфікованих пацієнтів в залежності від тривалості прийому АРВ-препаратів та приналежності їх до певної фармакотерапевтичної групи. Виявлено, що причиною вірусологічної неефективності лікування на ранніх строках АРТ найчастіше стає формування резистентності вірусу до ненуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази. Встановлено, що серед факторів, які впливають на формування вірусологічної неефективності АРТ, одне з головних місць займає низький рівень прихильності ВІЛ-інфікованих пацієнтів до лікування.*

Ключові слова: *ВІЛ-інфекція, рівень вірусного навантаження ВІЛ (ВН ВІЛ), антиретровірусна терапія (АРТ), антиретровірусні препарати (АРВ-препарати), мутації резистентності ВІЛ.*

Вступ. Проблема поширення резистентних штамів ВІЛ актуальна для всіх країн світу, де запроваджено високоактивну антиретровірусну терапію (АРТ), незалежно від рівня їх розвитку чи економічного стану. На формування резистентності ВІЛ до АРВ-

препаратів, окрім біологічних властивостей самого вірусу, значною мірою впливають деякі фармакологічні характеристики антиретровірусних препаратів: тривалість періоду активності препарату, здатність накопичуватися в окремих органах організму людини чи окремих компартментах клітини, токсичність, ефективність взаємодії з мішенню, генетичний бар'єр (мінімальна кількість мутацій, яка спричиняє стійкість вірусу до певного засобу), які, в цілому, визначають здатність препарату ефективно пригнічувати репродукцію ВІЛ. Недостатня концентрація антиретровірусних препаратів в крові значно підвищує ризик та швидкість формування резистентних штамів ВІЛ, які поступово стають домінуючими в вірусній популяції, що призводить до зниження ефективності лікування та зростання рівня вірусного навантаження (ВН) ВІЛ [1,2].

Метою роботи було визначити частоту формування резистентності ВІЛ при лікуванні ВІЛ-інфікованих пацієнтів антиретровірусними препаратами першого ряду.

Матеріали та методи. Дослідження проводились в рамках співробітництва між ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім.Л.В.Громашевського НАМНУ", ДУ "Український центр контролю за соцхворобами МОЗ України" та ФДУ "НДІ вірусології ім.Д.І.Івановського" (м. Москва, Росія). Фінансування забезпечувалося ВБО "Мережа людей, які живуть з ВІЛ/СНІД" за рахунок коштів Глобального фонду.

Проаналізовано 676 історій хвороб ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які перебували на диспансерному обліку в регіональних центрах профілактики та боротьби зі СНІДом.

Проведено секвенування геному ВІЛ у 49 зразках крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ.

Для одержання зразків плазми кров відбирали в пробірки типу "Vacuette®" з 6% розчином ЕДТА з розрахунку 50 мкл ЕДТА на 1 мл крові.

Секвенування геному ВІЛ проводили з використанням зареєстрованої в Україні тест-системи "ViroSeq™ Genotyping System v.2.1" (фірма Abbott, США) згідно з інструкцією виробника. Визначали послідовність нуклеотидів гену pol ВІЛ-1 в ділянках, які

кодують протеазу (кодони 1–99) та зворотну транскриптазу (кодони 1–335).

Результати дослідження та їх обговорення. Для встановлення впливу антиретровірусних препаратів на формування резистентних штамів ВІЛ, вперше в Україні, нами було організовано когортні дослідження з визначення частоти та характеру мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів у ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які протягом визначеного періоду часу (у 2009 році) розпочали прийом антиретровірусної терапії за схемою першого ряду. Основним критерієм залучення до участі у дослідженні було відсутність в анамнезі пацієнта попереднього досвіду прийому АРТ, одним із критеріїв вилучення – перевод пацієнта на схему АРТ другого ряду по причині вірусологічної, імунологічної або клінічної неефективності. Дослідження проводилося в регіонах, де програма розширення доступу до АРТ впроваджувалася протягом останніх 5-ти років і де продовжувала реєструватися значна кількість нових випадків ВІЛ-інфекції: в Кримському республіканському, Донецькому, Дніпропетровському, Миколаївському, Одеському обласних та Київському міському центрах профілактики і боротьби зі СНІД.

Когортні дослідження тривали протягом 2009–2012 років. З метою встановлення вірусологічної ефективності антиретровірусної терапії пацієнти проходили обстеження з визначення рівня ВН ВІЛ кожні 6 місяців. Нами проаналізовано дані історій хвороб щодо рівня ВН ВІЛ у пацієнтів через 6, 12 та 24 місяці АРТ. Виявлено вірусологічну неефективність АРТ у 5,93% пацієнтів через 6 місяців, у 4,73% пацієнтів через 12 місяців та у 2,62% через 24 місяці від початку терапії. Під вірусологічною неефективністю АРТ мається на увазі рівень ВН ВІЛ більше 1000 РНК-копій/мл через 6 та більше місяців лікування антиретровірусними препаратами (АРВ-препаратами).

Вірусологічна неефективність АРТ, з одного боку, може свідчити про формування стійкості вірусу до певних препаратів (виявити це можна за допомогою методу секвенування геному ВІЛ), з іншого боку – зростання рівня ВН ВІЛ може бути також наслідком тимчасових порушень режиму прийому препаратів

(не дотримання часу та дози прийому АРВ-препаратів або взагалі відмова від терапії). Вказані порушення прийнято об'єднувати в термін "низька прихильність пацієнта до АРТ" [3].

Для встановлення причин вірусологічної неефективності АРТ зразки плазми крові пацієнтів з рівнем вірусного навантаження більше 2000 РНК-копій/мл було підготовлено для проведення молекулярно-генетичного аналізу геному ВІЛ (тестувалися зразки крові з рівнем ВН ВІЛ більше 2000 РНК-копій/мл, оскільки чутливість тест-системи "ViroSeq™ Genotyping System v.2.1" складає 2000 РНК-копій/мл).

Аналіз на наявність мутацій резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів було проведено нами в 49 зразках плазми крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ через 6 (21 зразок), 12 (22 зразка) та 24 (6 зразків) місяці лікування.

Результати тестування зразків крові пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ показали, що в Україні відбувається формування резистентності ВІЛ, проте далеко не в усіх випадках саме резистентність вірусу стає причиною зростання рівня ВН ВІЛ.

Результати тестування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів через 6 місяців АРТ.

Із 6-ти протестованих зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Кримського республіканського центру СНІДу з вірусологічною неефективністю лікування (табл.1).

Таблиця 1

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Кримського республіканського центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 6 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
31АРК	ч	СІН	AZT/3TC/ EFV	L10I L	немає	немає
42АРК	ч	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	немає	немає
80АРК	ч	СІН	TDF/3TC/ EFV	немає	A62AV, K65R,	K101HN, Y181C,

					M184MV, T215A	G190S
84АРК	ч	СІН	TDF/FTC/ EFV	немає	K65R, D67DG	K101E, Y181CY, G190S
90АРК	ч	СІН	TDF/FTC/ EFV	немає	L74I, M184V, K219E	L100I, K101E, Y181C, G190S
91АРК	ч	статевий	TDF/FTC/ EFV	немає	K65R, V75L, M184V	K101EK, G190S, M230LM

Мутації резистентності ВІЛ виявлено тільки в 4-х зразках (у пацієнта 42АРК мутацій резистентності ВІЛ не виявлено взагалі, у пацієнта 31АРК виявлено так звану “мінорну” мутацію резистентності ВІЛ (L10IL), яка безпосередньо не впливає на стійкість вірусу до АРВ-препаратів) [4].

В більшості зразків крові виявлено мутацію резистентності M184V, яка в гені зворотної транскриптази найчастіше з’являється першою та закріплюється на тлі недостатньої вірусологічної відповіді на більшість схем, що складаються з НІЗТ – ламівудину (3TC) та емтрицитабіну (FTC) (чутливість вірусу до цих препаратів знижується більш ніж у 100 разів). Крім того, мутація M184V дещо знижує чутливість вірусу до абакавіру (ABC) і диданозину (ddI) (таке зниження не має клінічного значення за відсутності інших мутацій резистентності) [5, 6].

Разом з тим, мутація M184V значно підвищує чутливість вірусу до азидотимідину (AZT), ставудину (d4T), тенофовіру (TDF), що в ряді випадків обумовлює доцільність збереження штамів з цією мутацією на домінуючому рівні (тому препарати 3TC і FTC, у відповідь на які сформувалася мутація резистентності M184V, як правило, залишають у складі схем АРТ) [5, 6].

Ще одна мутація – K65R – викликає резистентність середнього рівня до ABC, ddI, 3TC, FTC, низького рівня – до d4T, приз-

водить до гиперчутливості до AZT. Комбінація мутацій M184MV та K65R посилює резистентність вірусу до ABC і ddI. Слід відзначити, що згідно деяких літературних даних, комбінація препаратів TDF/3TC або TDF/FTC найчастіше призводить до закріплення у вірусу мутацій K65R та M184V [7,8]. В наших дослідженнях вказану комбінацію мутацій виявлено в 3-х з 4-х зразків крові пацієнтів, які отримували схеми терапії TDF/3TC або TDF/FTC. В одному зразку крові визначено мутацію A62A, яка може призвести до формування резистентності вірусу до НІЗТ тільки у присутності мутацій комплексу Q151M (що сприяють розвитку мультирезистентності ВІЛ до НІЗТ).

Що стосується ненуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази, то із таблиці 1 видно, що в усіх зразках крові виявлено мутацію G190S**,** яка викликає резистентність до ННІЗТ: високого рівня – до ефавірензу (EFV), невірапіну (NVP) [9, 10]. При наявності мутації G190S терапію препаратом групи ННІЗТ, до якого виникла стійкість вірусу, необхідно припинити, оскільки продовження прийому такого препарату на тлі недостатньої вірусологічної відповіді вірусу на терапію з досить значною вірогідністю призведе до зростання кількості мутацій резистентності ВІЛ до всього переліку ННІЗТ (в тому числі до препаратів із групи ННІЗТ, які ще знаходяться на стадії розробки). Аналогічна ситуація з мутаціями резистентності K101E/H/N, Y181CY [11, 12, 13].

Результати тестування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Миколаївського та Одеського обласних центрів СНІДу, які знаходились на лікуванні 6 місяців, показали схожі дані. З двох центрів протестовано 10 зразків крові (по 5 з кожного), мутації резистентності виявлено в чотирьох (Ник12, Ник96 – в Миколаївському центрі та 15Од та 81Од – в Одеському) (табл. 2 і 3).

У решти пацієнтів (Ник7, Ник14, Ник27, 47Од, 50Од, 64Од) мутацій резистентності не виявлено взагалі або виявлені мутації поліморфізму (які не викликають стійкості вірусу до АРВ-препаратів за відсутності основних мутацій).

Таблиця 2

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Миколаївського обласного центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 6 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Ник7	ч	вертик	AZT/3TC/ Lpv/r	немає	немає	немає
Ник12	ч	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	немає	K103N
Ник14	ж	статевий	ddI/Lpv/r/ ABC	N83HN	немає	немає
Ник27	ж	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	немає	V106IV
Ник96	ч	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	L74V, M184V	G190Q

Таблиця 3

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Одеського обласного центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 6 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
15Од	ч	статевий	TDF/FTC/ EFV	немає	D67N, K70E, L74IL, M184V, L210FL,	K101EN, E138A, G190S
47Од	ж	статевий	TDF/FTC/ Lpv/r	L10IL, K43T	немає	немає
50Од	ж	СІН	AZT/3TC/ NVP	немає	немає	немає
64Од	ч	СІН	TDF/3TC/ EFV	немає	немає	немає
81Од	ж	вертик	AZT/3TC/ Lpv/r	немає	M184V	E138A

Привернув увагу наступний результат: у зразку крові пацієнтки 81Од (дівчинка, 2007р.н., інфікування шляхом вертикальної трансмісії ВІЛ) виявлено M184V, а також E138A – мутацію поліморфізму, яка потенційно може викликати мінімальне зниження чутливості вірусу до ненуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази. На момент обстеження дитина приймала схему AZT/3TC/Lpv/r протягом 10 місяців, проте вірусне навантаження ВІЛ (57428 РНК-копій/мл) вказувало на наявність вірусологічної неефективності лікування. Детальний аналіз показав, що зростання рівня ВН ВІЛ пов'язано не з мутаціями резистентності: незважаючи на стійкість вірусу до 3TC, мутація M184V призводить до гиперчутливості ВІЛ до AZT (тобто, повинна спостерігатися ефективність терапії при вказаній схемі АРТ), до Lpv/r також повинна бути збережена чутливість ВІЛ, оскільки стійкості вірусу до інгібіторів протеази не виявлено взагалі. Дівчинка, скоріше за все, не приймала АРВ-препарати. В даному випадку доцільніше було б працювати не над заміною схеми АРТ, а над прихильністю батьків до лікування дитини.

В Київському міському центрі СНІДу із 6 зразків крові мутації резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів виявлено лише в 1 зразку (табл.4). У решти пацієнтів рівень ВН ВІЛ зріс внаслідок порушення ними режиму прийому АРТ.

Аналогічна ситуація щодо порушень режиму АРТ склалася з 2-ма пацієнтами Донецького обласного центру СНІДу з вірусологічною неефективністю терапії, в чиїх зразках крові виявлено тільки мутації поліморфізму (до інгібіторів протеази (L10I, A71T) та до нуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази (T69N).

Загалом із 21 зразку крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів з вірусологічною неефективністю через 6 місяців АРТ, мутації резистентності ВІЛ стали причиною зростання рівня ВН ВІЛ тільки у 8 (38,1%) випадках. У решти 13 пацієнтів рівень ВН ВІЛ зріс внаслідок порушення ними режиму прийому терапії.

Таблиця 4

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Київського міського центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 6 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
7К	ж	СІН	AZT/3TC/ Lpv/r	немає	немає	немає
24К	ж	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	M184V	K103N, P225H
45К	ч	статевий	AZT/3TC/ EFV	немає	немає	немає
55К	ч	СІН	AZT/3TC/ EFV	немає	немає	немає
81К	ж	СІН	AZT/3TC/ Lpv/r	немає	немає	немає

Результати тестування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів через 12 місяців АРТ.

Із зразками крові пацієнтів, які отримували АРТ протягом 12 місяців, склалася схожа ситуація: із 22 зразків тільки в 5 (22,7%) зразках виявлено мутації резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів, які призвели до вірусологічної неефективності АРТ. Тобто, низька прихильність пацієнтів до АРТ залишається суттєвою проблемою системи надання АРТ в Україні.

В Кримському республіканському центрі СНІДу було зареєстровано 7 випадків вірусологічної неефективності терапії серед пацієнтів, які отримували її не менше 12 місяців. Із 7 зразків секвенування геному ВІЛ проведено в 5 зразках (в 2 зразках встановлено негативний результат ПЛР) (табл.5).

Привернули увагу результати тестування зразків крові пацієнтів 80АРК та 91АРК: вказані пацієнти мали в анамнезі вірусологічну неефективність АРТ також на 6-му місяці лікування. Ми порівняли між собою спектр мутацій резистентності ВІЛ через 6 та 12 місяців АРТ і отримали наступні результати (табл. 6).

Таблиця 5

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Кримського республіканського центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 12 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
18АРК	ч	статевий	AZT/3TC/Lpv/r	немає	немає	немає
45АРК	ч	статевий	AZT/3TC/EFV	L10V	M184V	K101E, G190S
58АРК	ч	СІН	AZT/3TC/Lpv/r	немає	T69NT	немає
80АРК	ч	СІН	TDF/3TC/EFV	немає	A62AV, K65R, M184V, T215A	K101H, Y181C, G190S
91АРК	ч	статевий	TDF/FTC/EFV	немає	K65R, V75LV, M184V	K101EK, Y181CY, G190S,

Таблиця 6

Мутації резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів у зразках крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Кримського республіканського центру СНІДу через 6 та 12 місяців АРТ

Код пацієнта	6 місяців АРТ			12 місяців АРТ		
	мутації резистентності ВІЛ			мутації резистентності ВІЛ		
	до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ	до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
80АРК	немає	A62AV, K65R, M184MV, T215A	K101HN, Y181C, G190S	немає	A62AV, K65R, M184V, T215A	K101H, Y181C, G190S
91АРК	немає	K65R, V75L, M184V	K101EK, G190S, M230LM	немає	K65R, V75LV, M184V	K101EK, Y181CY, G190S

Отже, спектр мутацій резистентності ВІЛ у зразку крові пацієнта 80АРК через 6 та 12 місяців АРТ був, практично, однаковим. У пацієнта 91АРК через 12 місяців АРТ зафіксовано появу ще однієї мутації резистентності ВІЛ – Y181CY, яка додатково посилює стійкість вірусу до ненуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази .

Із 3-х протестованих зразків крові пацієнтів Миколаївського обласного центру СНІДу, мутації резистентності виявлено тільки в двох (таблиця 7).

Таблиця 7

Результати секвенування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Миколаївського обласного центру СНІДу з вірусологічною неефективністю АРТ через 12 місяців лікування

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
Ник1	ж	вертик	AZT/3TC/Lpv/r	немає	M184V	немає
Ник14	ж	статевий	ddI/Lpv/r/ABC	немає	немає	немає
Ник51	ч	статевий	AZT/3TC/Lpv/r	немає	M184V	немає

Ретельний аналіз даних таблиці 7 дозволив зробити висновок, що всі троє пацієнтів не приймали терапію: як ми вже згадували, мутація резистентності M184V призводить до стійкості вірусу до препарату 3TC, проте водночас викликає гиперчутливість до AZT і, як наслідок, до вірусологічної ефективності вказаної комбінації АРВ-препаратів. Оскільки у пацієнтів не виявлено ніяких інших мутацій, а рівень вірусного навантаження не знизився нижче 1000 РНК-копій/мл, можна зробити висновок, що пацієнти порушували режим прийому антиретровірусних препаратів.

Із 5 протестованих зразків крові пацієнтів Одеського обласного центру СНІДу, в 1 зразку виявлено мутацію резистентності K101Q, що призводить до стійкості вірусу до ненуклеозідних ін-

гібіторів зворотної транскриптази, в решті зразків мутації резистентності не виявлено.

У пацієнтів Донецького та Дніпропетровського обласних центрів СНІДу випадків вірусологічної неефективності через 12 місяців терапії не було. Із 7 зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів Київського міського центру СНІДу, мутації резистентності виявлено в 1 зразку.

Результати тестування зразків крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів через 24 місяців АРТ.

Протестовано 6 зразків крові пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ: 5 зразків від пацієнтів Київського міського центру СНІДу та 1 зразок – від пацієнтки Миколаївського обласного центру СНІДу (табл.8).

Як видно з таблиці, мутації резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів стали причиною вірусологічної неефективності АРТ у 3-х пацієнтів (Ник76, 24К, 119К). В інших випадках причиною неефективності терапії була низька прихильність пацієнтів до АРТ (мутацій резистентності ВІЛ не виявлено). Цікавим виявився той факт, що пацієнтка 48К (споживач ін'єкційних наркотиків) тричі протягом 24 місяців лікування обстежувалася на наявність мутацій резистентності ВІЛ (через 6, 12 та 24 місяці АРТ) і тричі причиною зростання рівня ВН ВІЛ було порушення нею режиму прийому АРТ.

Привернув увагу результат тестування пацієнтки 24К (табл.9). У вказаної пацієнтки тричі протягом лікування спостерігалася вірусологічна неефективність АРТ (через 6, 12 та 24 місяці АРТ).

Як видно з таблиці, через 24 місяці АРТ в крові пацієнтки 24К спектр мутацій резистентності ВІЛ до нуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази значно розширився за рахунок приєднання мутацій, які входять до так званого комплексу МРАТ – "мутації резистентності до аналогів тимідину". В цей комплекс входять мутації M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/E. Існує декілька версій щодо механізмів підвищення стійкості вірусу, що забезпечуються МРАТ. Згідно літературних даних [Maldarelli F., 2005], за наявності МРАТ

зворотна транскриптаза відрізає зидовудин від ланцюга провірусної ДНК, що будується. Таке відрізання потребує затрат енергії і у якості джерела такої енергії у клітині використовується АТФ. Ділянка зв'язування АТФ у зворотній транскриптазі розташована дуже близько до амінокислотних позицій 67, 70, 210, 215, 219. Таким чином, зворотна транскриптаза мутантного штаму володіє підвищеною спроможністю відрізати НІЗТ від ланцюга майбутньої провірусної ДНК. В цьому випадку включення НІЗТ більш не припиняє синтез провірусної ДНК. Процес зворотної транскриптази продовжується далі і призводить до появи повноцінної провірусної ДНК.

Таблиця 8

Мутації резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів у зразках крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів когортних досліджень, які протягом 24 місяців отримували АРТ в центрах СНІДу

Код пацієнта	стать	шлях передачі ВІЛ	схема АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
				до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
Ник76	ж	статевий	AZT/3TC/EFV	немає	M184V	Y181C
24К	ж	статевий	AZT/3TC/EFV	немає	D67DN, K70KR, M184V, T215ST	K103N, P225H
48К	ж	СІН	AZT/3TC/Lpv/r	L10IL	немає	немає
84К	ж	статевий	AZT/3TC/Lpv/r	немає	немає	немає
91К	ч	СІН	AZT/3TC/EFV	немає	немає	немає
119К	ч	статевий	TDF/3TC/Lpv/r	L10IL	V75LV, M184V	G190S

У зразку крові пацієнтки 24К, через 24 місяці лікування виявлено 3 мутації, які входять до складу МРАТ. При такій кількості мутацій резистентність до AZT зростає, як правило, у 29–30 разів. В той же час, мутація M184V допомагає відновити чутливість вірусу до зидовудину (за умови наявності не більше 3-х

МРАТ). Враховуючи вище сказане, доцільно було б залишити у схемі комбінацію препаратів AZT/3TC (табл.8) та рекомендувати замінити у схемі АРТ тільки ННІЗТ (препарат EFV). Справа в тому, що оскільки мутація K103N викликає перехресну резистентність до всього переліку ННІЗТ, а мутацій резистентності до ІП в даному випадку не виявлено, доцільно було б замінити препарат EFV (який відноситься до ННІЗТ) на будь-який препарат з групи ІП.

Таблиця 9

Мутації резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів у зразках крові ВІЛ-інфікованої пацієнтки 24К Київського міського центру СНІДу через 6, 12 та 24 місяців АРТ

Тривалість АРТ	мутації резистентності ВІЛ		
	до ІП	до НІЗТ	до ННІЗТ
6 місяців	немає	M184M	K103N, P225H
12 місяців	немає	M184M	K103N, P225H
24 місяців	немає	D67DN, K70KR, M184V, T215ST	K103N, P225H

Висновки:

1. Вперше в Україні сумісно з ДУ "Український центр соціальних хвороб МОЗ України" проведено когортні дослідження з визначення частоти та характеру мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів у ВІЛ-інфікованих пацієнтів з різних областей України. Проаналізовано швидкість набуття резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів та фактори, що на неї впливають.

2. Визначено частоту вірусологічної неефективності АРТ в залежності від тривалості лікування: через 6 місяців АРТ у 5,93% пацієнтів, через 12 місяців у 4,73% пацієнтів та у 2,62% через 24 місяці від початку терапії.

3. На основі молекулярно-генетичного аналізу геному ВІЛ встановлено спектр мутацій резистентності вірусу до АРВ-препаратів та частоту їх формування у ВІЛ-інфікованих пацієнтів в залежності від тривалості прийому АРВ-препаратів та приналежності їх до певної фармакотерапевтичної групи. Виявлено,

що причиною вірусологічної неефективності лікування на ранніх строках АРТ найчастіше стає формування резистентності вірусу до ненуклеозідних інгібіторів зворотної транскриптази.

4. Встановлено, що серед факторів, які впливають на формування вірусологічної неефективності АРТ, одне з головних місць займає низький рівень прихильності ВІЛ-інфікованих пацієнтів до лікування.

Література

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

2. Nikolenko G.N., Palmer S., Maldarelli F., et al. Mechanism for nucleoside analog-mediated abrogation of HIV-1 replication: Balance between RNase H activity and nucleotide excision // Proc. Nat. Acad. Sci. USA – 2005. – Vol.102. – P.2093–2098.

3. Bangsberg D.R., Hecht F.M. et al. Comparing Objective Measures of Adherence to HIV Antiretroviral Therapy: Electronic Medication Monitors and Unannounced Pill Counts. AIDS and Behavior, 2001. – Vol. 5. – P. 275–281.

4. Clavel F., Hance A. HIV drug resistance// N Engl J Med. – 2004. – 350, N10. – P. 1023–1035.

5. Mansky L.M. Forward mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 in a T-lymphoid cell line // AIDS Res. Hum. Retroviruses. – 1996. – Vol. 12. – P. 307–314.

6. Castagna A., Danise A., Carini E. et al. E-184V. Pilot study to evaluate immunological response to lamivudine monotherapy treatment interruption in failing HIV-1 infected subjects, harbouring the M184V mutation // 15th International Conference on AIDS. – July 11–16, 2004. – Abst.WeOrB 1286.

7. Wagner T.A., Frencel L.M. Clinical significance of HIV-1 Drug Resistance Mutations //Lab. Med. – 2006. – Vol. 37(9). – P. 554–561.

8. Nikolenko G.N., Delviks-Frankenberry K.A., Pathak V.K. A Novel Molecular Mechanism of Dual Resistance to NRTIs and NNRTIs // J. Virol. – 2010. – Vol.84. – P.5238–5249.

9. Casado J.L., Moreno A., Hertods K. et al. Extend and importance of cross-resistance to efavirenz after nevirapine failure // AIDS Res. Hum.Retrovirus. – 2002. – Vol. 18 (11). – P. 771–775.

10. Paolucci S., Baldanti F., Campanini G., et al. NNRTI-selected mutations at codon 190 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase decrease susceptibility to stavudine and zidovudine // Antiviral Res. – 2007. – Vol.76. – P.99–103.

11. Sluis-Cremer N., Tachedjian G. Mechanisms of inhibition of HIV replication by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors // Virus Res. – 2008. – Vol.134. – P.147–156.

12. Hang J.Q., Li Y., Yang Y., et al. Substrate-dependent inhibition or stimulation of HIV RNase H activity by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2007. – Vol.352. – P.341–350.

13. Tachedjian G., Moore K.L., Goff S.P., Sluis-Cremer N. Efavirenz enhances the proteolytic processing of an HIV-1 pol polyprotein precursor and reverse transcriptase homodimer formation // FEBS Lett. – 2005. – Vol.579. – P.379–384.

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВИЧ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ НА ФОНЕ ПРИЕМА АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПЕРВОГО РЯДА

Люльчук М.Г.

Резюме. *Проведены когортные исследования по определению частоты и характера мутаций резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам у ВИЧ-инфицированных пациентов с разных областей Украины. Выявлено частоту вирусологической неэффективности АРТ в зависимости от длительности лечения: у 5,93% пациентов через 6 месяцев, у 4,73% через 12 месяцев и у 2,62% через 24 месяца от начала терапии. На основе молекулярно-генетического анализа генома ВИЧ установлены спектр мутаций резистентности вируса к АРВ-препаратам и частота их формирования у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от длительности приема АРВ-препаратов и принадлежности их к определенной фармакотерапевтической группе. Выявлено, что причиной вирусологической неэф-*

фективности лечения на ранних сроках АРТ чаще всего становится формирование резистентности вируса к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы. Установлено, что среди факторов, влияющих на формирование вирусологической неэффективности АРТ, одно из главных мест занимает низкий уровень приверженности ВИЧ-инфицированных пациентов к лечению.

Ключевые слова: *ВИЧ-инфекция, уровень вирусной нагрузки ВИЧ (ВН ВИЧ), антиретровирусная терапия (АРТ), антиретровирусные препараты (АРВ-препараты), мутации резистентности ВИЧ.*

ANALYSIS OF FREQUENCY FORMATION OF RESISTANCE HIV IN HIV-INFECTED PATIENTS, IN PATIENTS RECEIVING FIRST-LINE ANTIRETROVIRALS

M. Lyulchuk

Summary. *Cohort study to determine the frequency and nature of mutations in HIV resistance to antiretroviral drugs in HIV-infected patients from different regions of Ukraine were implemented. Revealed that the frequency of virologic treatment failure depended from the duration of treatment: 5.93% of patients had VL HIV >1000 PNA-copies/ml at 6 months, 4.73% at 12 months and 2.62% after 24 months of therapy. On the basis of molecular genetic analysis of the HIV genome fitted range of resistance mutations of the HIV to antiretroviral drugs and the frequency of their formation in HIV-infected patients, depending on the duration of ARVs and their belonging to specific pharmacotherapeutic groups. It was revealed that the cause of virological failure in the early stages of ART often was resistance of the virus to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. It found that among the factors which can influence on the formation of virological treatment failure was low level of adherence of HIV-infected patients for treatment.*

Keywords: *HIV-infection, viral load of HIV (VL HIV), antiretroviral therapy (ART), antiretroviral drugs (ARVs), mutation of resistance of HIV.*