

Дубинская Г. М., Кириченко Т. С., Коваль Т. И., Кайдашев И. П.

ВГУЗУ “Украинская медицинская стоматологическая академия”, Полтава, Украина

Эффективность антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных больных в зависимости от генотипа Asp299Gly TLR4

УДК: 616.98:578.828]-036.22-08

ВВЕДЕНИЕ

ВИЧ-инфекция занимает ведущее место среди проблем здравоохранения многих стран мира [1, 2, 3, 4]. Антиретровирусная терапия (АРТ) является обязательной составляющей частью комплексной медицинской помощи ВИЧ-инфицированным, поскольку эффективная АРТ приводит к существенному снижению заболеваемости и смертности, связанных с ВИЧ-инфекцией. Однако назначение АРТ не всегда подавляет репликацию ВИЧ и восстанавливает функцию иммунной системы, что обуславливает необходимость поиска факторов, в том числе генетических, которые влияют на прогрессирование ВИЧ-инфекции и эффективность АРТ [5, 6]. Активно изучается влияние полиморфизма Asp299Gly гена toll-like receptor 4 (TLR4) на клиническое течение ВИЧ - инфекции. Показано, что у ВИЧ-инфицированных больных с полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4 возрастает восприимчивость к туберкулезу, бактериальным, вирусным инфекциям, а развитие оппортунистических инфекций реализуется при показателях CD-4 лимфоцитов 350 клеток/мкл и выше достоверно чаще, сравнительно с больными без полиморфизма [7, 8, 9, 10]. На сегодня отсутствуют исследования, посвященные оценке эффективности АРТ у ВИЧ-инфицированных с полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4, что и стало предметом нашего изучения.

ЦЕЛЬ

Оценить эффективность АРТ у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от генотипа Asp299Gly TLR4 и иммунного статуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 106 ВИЧ-инфицированных, которые были разделены на 2 группы:

I – с гомозиготным (Asp/Asp) генотипом TLR4 – 88 (мужчин – 49, женщин – 39), возраст от 25 до 53 лет (средний – $35,11 \pm 5,31$);

II – с гетерозиготным (Asp/Gly) генотипом TLR4 – 18 (мужчин – 10, женщин – 8), возраст от 29 до 51 лет (средний – $35,32 \pm 5,29$).

В зависимости от количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ из числа больных I и II групп были сформированы подгруппы: Ia – с гомозиготным

(Asp/Asp) генотипом TLR4 и уровнем CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ > 350 клеток/мкл – 18; Iб – с гомозиготным (Asp/Asp) генотипом TLR4 и уровнем CD-4 лимфоцитов < 350 клеток/мкл – 61; IIа – с гетерозиготным (Asp/Gly) генотипом TLR4 и уровнем CD-4 лимфоцитов > 350 клеток/мкл – 9; IIб – с гетерозиготным (Asp/Gly) генотипом TLR4 и уровнем CD-4 лимфоцитов < 350 клеток/мкл – 9 человек. Сравнимые подгруппы были равноценны по возрасту, полу, клиническим стадиям ВИЧ-инфекции и уровнем вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ на момент назначения АРТ (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика обследованных больных перед назначением АРТ

Показатели	Подгруппы больных			
	I а (n=18)	I б (n=61)	II а (n=9)	II б (n=9)
Возраст, лет	36,6±5,21 (29-49)	37,2 ±4,79 (25-53)	35,4 ±5,22 (29-48)	37,7±5,36 (31-51)
Пол:				
муж.	9 (50%)	36 (59,1%)	4 (44,4%)	6 (66,7%)
жен.	9 (50%)	25 (40,9%)	5 (55,5%)	3 (33,3%)
Клинические стадии ВИЧ-инфекции:				
I	1 (5,5%)	5 (8,1%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)
II	3 (16,6%)	6 (9,8%)	2 (22,1%)	1 (11,1%)
III	9 (50,0%)	15 (24,5%)	3 (33,4%)	1 (11,1%)
IV	5 (27,7%)	35 (57,3%)	3 (33,4%)	6 (66,7%)
CD-4, среднее значение, клеток/мкл	423 ± 25,67	135,18 ± 10,3	439,56 ± 30,89	159,6 ± 23,12
ВН ВИЧ, среднее значение, копий/мл	177025± 25634	207542±32546	97013±11256	108228±15239
Больные с ВН > 100 000 копий/мл	6 (33,3%)	19 (31,1%)	3 (33,3%)	3 (33,3%)

Показания к началу и критерии эффективности АРТ определялись в соответствии с клиническим протоколом антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции у взрослых и подростков, 2010 год. [11]. Все больные получали схему АРТ зидовудин/ламивудин + эфавиренц. Критериями эффективности АРТ были показатели вирусологического, иммунологического и клинического ответа на лечение, которые мониторировали в течение 2 лет. Вирусологический ответ оценивали по уровню ВН ВИЧ каждые 6 месяцев. Вирусологическую неудачу определяли при неспособности достичь уменьшения ВН ВИЧ до неопределяемого уровня (ниже 50 копий/мл) через 6 месяцев от начала или модификации терапии. Иммунологическую эффективность оценивали по увеличению количества CD-4 лимфоцитов каждые 3 месяца лечения. Адекватный иммунологический ответ определяли при приросте CD-4 лимфоцитов 150 клеток/мкл за первый год терапии и 50-100 за второй. Иммунологическую неудачу констатировали при отсутствии повышения уровня CD-4 лимфоцитов более чем на 50 клеток/мкл в течение первого года АРТ при условии неопределяемого уровня ВН ВИЧ. Клиническую эффективность оценивали по уменьшению частоты оппортунистов в динамике в течение срока наблюдения. Клиническую неудачу определяли как появление новых или реактивацию имеющихся оппортунистических инфекций на фоне АРТ, которые имели место после 3 месяцев лечения.

Состояние клеточного звена иммунитета оценивали по количеству CD-4 лимфоцитов путем иммунофенотипирования моноклональными антителами с последующим анализом исследуемых образцов на цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

При определении уровня ВН ВИЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали амплификатор Abbott Real-time m2000rt (Real Time HIV -1 "Abbott", США) с соответствующими реактивами Abbott.

Определение полиморфизма Asp299Gly гена TLR4 проводилось методом ПЦР. Амплификацию специфического участка ДНК осуществляли на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», г. Москва) с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров с последующим рестрикционным анализом. Детекция продуктов амплификации проведена с помощью электрофореза в 3% агарозном геле («Helikon», Москва) в 1 x TBE (50 mM трис-НЗ ВОЗ и 2 mM ЭДТА, pH 8.0).

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 6. Вычисляли средние значения (M), средние ошибки средней арифметической (m). Статистическая значимость различий для количественных признаков оценивалась с

использованием t-критерия Стьюдента, для качественных – критериев χ^2 Пирсона, U Манна-Уитни. Различия считали достоверными при общепринятой в медико-биологических исследованиях вероятности ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Проведенные исследования показали, что у больных с Asp/Asp и Asp/Gly генотипами TLR4 эффективность АРТ зависела от иммунного статуса на ее старте. Так вирусологический ответ у подавляющего большинства обследованных оказался эффективным, и только у 12 (19,6%) больных Iб и 3 (33,3%) IIб подгрупп на 6 месяце лечения наблюдалась вирусологическая неудача (рис.1). После замены схемы АРТ на препараты 2 ряда (тенофовир/эмтрицитабин, лопинавир/ритонавир) вирусологический ответ был достигнут у всех больных.

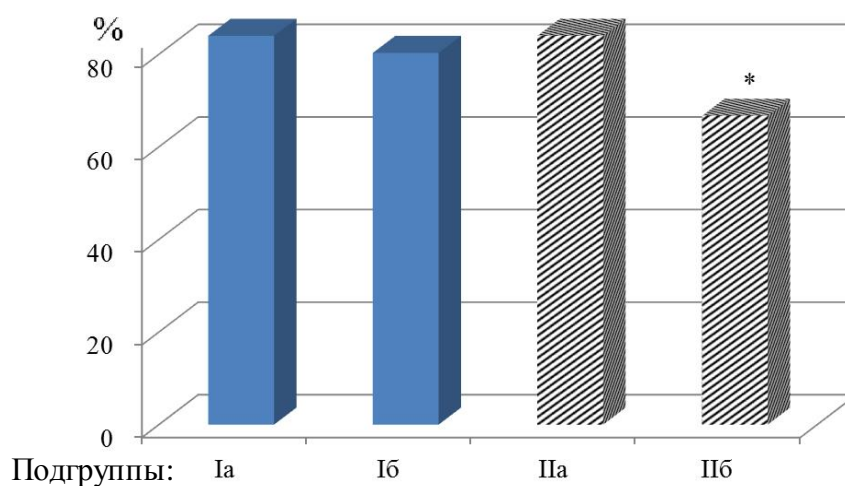


Рисунок 1

Вирусологическая эффективность АРТ у ВИЧ-инфицированных больных в зависимости от генотипа Asp299Gly гена TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения лечения. * – достоверная разница в сравнении с IIa подгруппой (6 месяцев АРТ)

Иммунологический ответ зависел от генотипа TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ. Так у больных Ia и Ib подгрупп, независимо от количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ, средний прирост CD-4 лимфоцитов составил: на 3 месяце – 63 и 114, на 6 – 109 и 137, на 9 – 146 и 148, на 12 – 167 и 159 клеток/мкл соответственно подгруппам, что свидетельствовало об адекватном иммунологическом ответе. У больных IIa подгруппы динамика прироста CD-4 лимфоцитов была аналогичной больным Ia подгруппы: на 3 месяце – 70, на 6 – 103, на 9 –

163, на 12 – 171 клеток/мкл, тогда как у больных Пб средний прирост CD-4 лимфоцитов в динамике определялся достоверно ниже и составил 19, 30, 42, 46 клеток/мкл на 3, 6, 9, 12 месяцев лечения (рис.2).

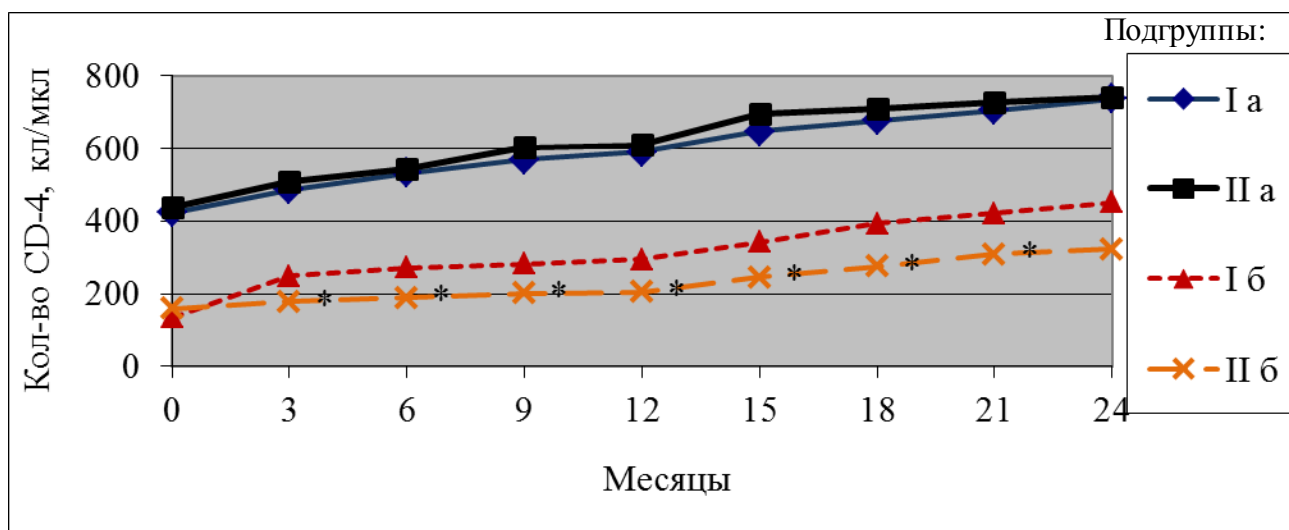


Рисунок 2

Динамика CD-4 лимфоцитов на фоне АРТ у ВИЧ-инфицированных больных в зависимости от генотипа Asp299Gly гена TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения лечения. * – достоверная разница показателей больных Пб в сравнении с Ia, Ib, IIa подгруппами

Полученные данные подтверждались индивидуальным анализом, согласно которому адекватный иммунологический ответ за первый год лечения был достигнут у 11 (61,1%) больных Ia, 29 (47,5%) Ib, 6 (66,7%) IIa и лишь у 2 (22,5%) IIb подгрупп. Недостаточный иммунологический ответ у больных IIb подгруппы нашел свое отражение в иммунологической неудаче АРТ. Так иммунологическая неудача регистрировалась в единичных случаях у больных Ia – 2 (11,1%), Ib – 10 (16,4%), IIa – 11 (11,1%) подгрупп, тогда как при наличии полиморфизма Asp299Gly гена TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов < 350 клеток/мкл на момент назначения лечения – у подавляющего большинства – 5 (55,6%) (рис.3).

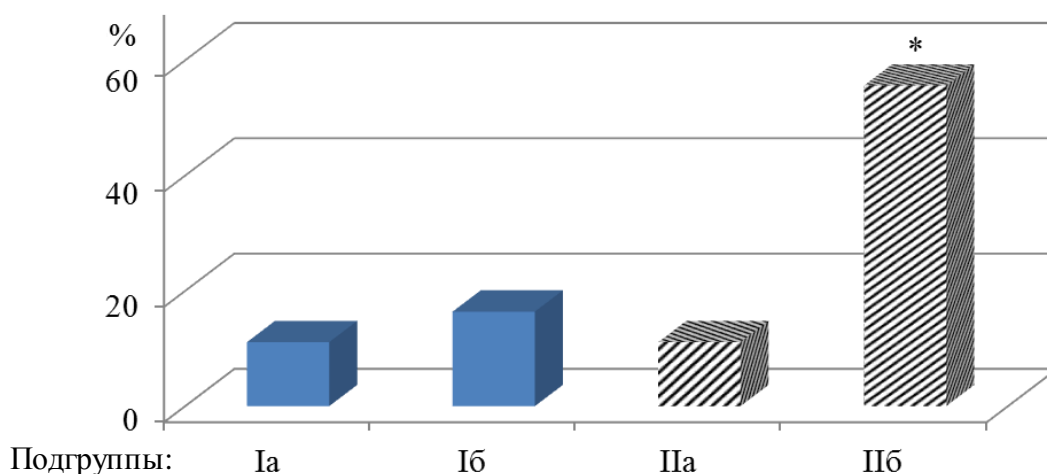


Рисунок 3

Частота иммунологической неудачи АРТ у ВИЧ-инфицированных больных в зависимости от генотипа Asp299Gly гена TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения лечения. * – достоверная разница показателей больных II б в сравнении с Ia, Iб, IIa подгруппами

На втором году АРТ иммунологический ответ определялся адекватным у больных всех подгрупп, но при этом прирост CD-4 лимфоцитов у больных IIб подгруппы оказался достоверно ниже в сравнении с показателями Iб (117 и 147 клеток/мкл соответственно подгруппам, $p < 0,01$). То есть иммунологическая эффективность АРТ зависела от генотипа TLR4 и количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ: иммунологический ответ был адекватным у всех больных с генотипом Asp/Asp TLR4 и с генотипом Asp/Gly при CD-4 лимфоцитах > 350 клеток/мкл; у больных с генотипом Asp/Gly TLR4 и количеством CD-4 лимфоцитов < 350 клеток/мкл иммунологическая неудача АРТ регистрировалась у подавляющего большинства больных – 55,6%.

Клиническая эффективность АРТ также зависела от иммунного статуса ВИЧ-инфицированных. Так, до назначения АРТ оппортунистические инфекции диагностировали у подавляющего большинства больных: Ia – 94,5% ($n=17$), Iб – 91,8% ($n=56$), IIa и IIб – по 88,8 % ($n=8$). На фоне АРТ частота оппортунистов достоверно снизилась у больных Ia – 22,2% ($n=4$), Iб – 31,1% ($n=19$) и IIa – 11,1% ($n=1$) подгрупп, в то время как у пациентов IIб оппортунисты продолжали регистрироваться у подавляющего большинства обследованных – 55,5% ($n=5$), что в 5 раз превысило показатели больных IIa подгруппы ($p < 0,05$) (рис.4).

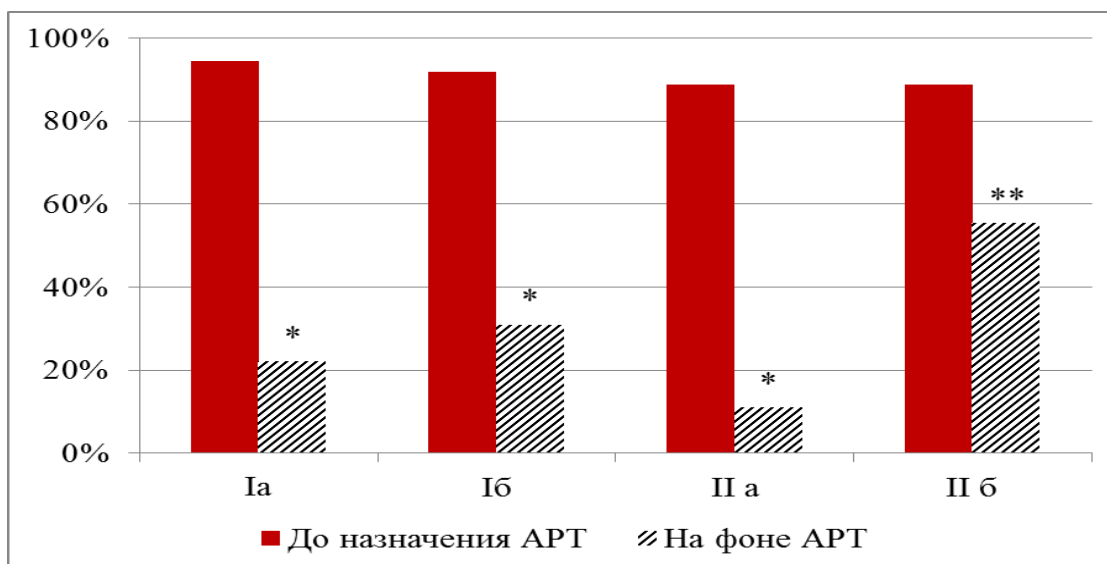


Рисунок 4

Количество больных с оппортунистическими инфекциями до и на фоне назначения АРТ. * – достоверная разница в сравнении с показателями соответствующей подгруппы до АРТ, ** – достоверная разница в сравнении с показателями IIa подгруппы на фоне АРТ

Впервые диагностированный туберкулез и реактивация токсоплазмоза на фоне АРТ имели место лишь у больных Ib и IIб подгрупп, т.е. при количестве CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ < 350 клеток/мкл: туберкулез – 5 (8,1%) и 1 (11,1%); токсоплазмоз – 2 (3,2%) и 1 (11,1%) соответственно подгруппам. Количество случаев реактивации герпесвирусных инфекций на фоне АРТ уменьшилось у подавляющего большинства больных, за исключением пациентов IIб подгруппы, у которых в ходе лечения реактивация герпесвирусов отмечалась у 3 (33,3%). В целом клиническая эффективность АРТ была достигнута у всех больных с Asp/Asp генотипом TLR4 и с Asp/Gly генотипом TLR4 при количестве CD-4 на момент назначения АРТ > 350 клеток/мкл, а у больных с полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4 при количестве CD-4 < 350 клеток/мкл клинический ответ оказался недостаточным.

ВЫВОД

Антиретровирусная терапия у ВИЧ-инфицированных больных с полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4 показала вирусологическую эффективность на уровне пациентов с генотипом Asp/Asp TLR4, а иммунологический и клинический ответы зависели от количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ: при CD-4 > 350 клеток/мкл были адекватными и определялись на уровне пациентов с генотипом Asp/Asp TLR4, при CD-4 < 350 клеток/мкл в 5 раз чаще отмечалась иммунологическая неудача (55,6% против

11,1%, $p < 0,05$), обусловившая недостаточную клиническую эффективность лечения. Повысить эффективность АРТ возможно при назначении лечения с уровня CD-4 лимфоцитов > 350 клеток/мкл.

Резюме

Эффективность антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных больных в зависимости от генотипа Asp299Gly TLR4

Дубинская Г. М., Кириченко Т. С., Коваль Т. И., Кайдашев И. П.

ВГУЗУ “Украинская медицинская стоматологическая академия”, Полтава, Украина

Антиретровирусная терапия у ВИЧ-инфицированных больных с полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4 показала вирусологическую эффективность на уровне пациентов с генотипом Asp/Asp TLR4, а иммунологический и клинический ответы зависели от количества CD-4 лимфоцитов на момент назначения АРТ: при CD-4 > 350 клеток/мкл были адекватными и определялись на уровне пациентов с генотипом Asp/Asp TLR4, при CD-4 < 350 клеток/мкл в 5 раз чаще отмечалась иммунологическая неудача (55,6% против 11,1%, $p < 0,05$), обусловившая недостаточную клиническую эффективность лечения. Повысить эффективность АРТ возможно при назначении лечения с уровня CD-4 лимфоцитов > 350 клеток/мкл.

Ключевые слова: эффективность антиретровирусной терапии, ВИЧ-инфекция, полиморфизм Asp299Gly гена TLR4.

Resume

Effectiveness of antiretroviral therapy in HIV-infected patients depending on Asp299Gly TLR4 genotype

G. M. Dubynska, T. S. Kyrychenko, T. I. Koval, I. P. Kaidashev

Ukrainian medical and Dental academy, Poltava, Ukraine

Antiretroviral therapy administered for HIV-patients with Asp299Gly TLR4 gene polymorphism has shown virological effectiveness on the level of the patients with Asp/Asp TLR4 genotype. Immunological and clinical responses have depended on the CD-4 lymphocytes number at the ART administration: when CD-4 > 350 cells/ μ l they were adequate and determined on the level of patients with Asp/Asp TLR4 genotype; when CD-4 < 350 cells/ μ l the immunological failure has been observed 5 times more frequent (55,6% against 11,1%, $p < 0,05$) resulting in insufficient treatment effectiveness. It is possible to increase ART effectiveness when administering treatment with CD-4 > 350 cells/ml level.

Key-words: antiretroviral therapy effectiveness, HIV-infection, Asp299Gly TLR4 gene polymorphism.

Литература

1. Голубовська О. А. HIV-infection–ВІЛ-інфекція / О. А. Голубовська, О. А. Гудзенко, І. В. Шестакова. – К. : Медицина, 2011. – 288 с.
2. Доклад ЮНЕЙДС о глобальной эпидемии СПИДа 2012 [Электронный ресурс] // Объединенная программа ООН по ВИЧ/СПИД. – Режим доступа: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_ru.pdf
3. ВІЛ-інфекція в Україні. Інформаційний бюлетень № 37 / МОЗ України, Державна служба України з питань протидії ВІЛ-інфекції / СНІДу та інших соціально небезпечних захворювань, ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”, Центральна санітарно-епідеміологічна станція МОЗ України. Програма з ВІЛ/СНІД, Бюро ВООЗ в Україні. – Київ. – 2012 р. – 82 с.
4. ВІЛ-інфекція в Україні. Інформаційний бюлетень № 39 / МОЗ України, ДУ “Український центр контролю за соцхворобами МОЗ України”, ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України”. – К., 2013. – С. 24.
5. Adeyinka A. Predictors of clinical failure in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy in a recourse limited setting, Nigeria: a comparative study / A. Adeyinka, A. Ogunniyi // HIV and AIDS Review. – 2012. – № 11. – P. 20-24.
6. Immune reconstitutions during the first year of antiretroviral therapy of HIV-1-infected adults in Rural Burkina Faso / F. Tiba, F. Nauwelaer, S. Traore [et al.] // The Open AIDS Journal. – 2012. – № 6. – P. 16-25.
7. Polymorphisms in toll-like receptor 4 and toll-like receptor 9 influence viral load in a seroincident cohort of HIV-1-infected individuals / S. Pine, M. McElrath, P. Bochud [et al.] // AIDS. – 2009. – Vol. 23, № 18. – P. 2387-2395.
8. Association of toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms with increased infection risk in patients with advanced HIV-1 infection / A. Papadopoulos, B. Ferwerda, A. Antoniadou [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 51, № 2. – P. 242-247.
9. The TLR4 ASP299GLY polymorphism is a risk factor for active tuberculosis in Caucasian HIV-infected patients / I. Pulido, M. Leal, M. Genebat [et al.] // Curr. HIV Res. – 2010. – Vol. 8, № 3. – P. 253-258.
10. Клинико-иммунологическая характеристика ВИЧ-инфекции у больных с полиморфизмом Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 / Т. С. Кириченко,

Т. И. Коваль, И. П. Кайдашев, Г. М. Дубинская // *Gergian medical news*. – 2013. – № 11 (224). – С. 30-35

11. Клінічний протокол антиретровірусної терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків / розроб. : С. М. Антоняк, А. О. Боброва, В. І. Курпіга ; затвердж. МОЗ України. – К., 2010. – 164 с.