

УДК: 578.242:[616.98:578.828.6 HIV] – 07 – 08

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТРОПИЗМА ВИРУСА

Токунова И. О. (Tokunova.ira@gmail.com), Матиевская Н. В. (natamati@mail.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Сравнительный анализ клинико-лабораторных проявлений ВИЧ-инфекции был выполнен в двух группах пациентов: 62 пациента, инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ и 35 пациентов, инфицированных не R5-тропным вариантом вируса. Тропизм ВИЧ определялся секвенированием региона V3 гена gp120 gene (FPR=20%). Не установлено достоверных различий в частоте клинических стадий ВИЧ-инфекции (WHO, 2012), СПИДа, оппортунистических инфекций, летальности, уровнях CD4+ и CD8+ лимфоцитов, вирусной нагрузке ВИЧ у пациентов с разным тропизмом ВИЧ. Был установлен более продолжительный стаж ВИЧ-инфекции в группе пациентов, инфицированных не R5-тропным вариантом вируса.

Ключевые слова: ВИЧ, тропизм, клиника, СПИД, туберкулез.

Мероприятия, направленные на изучение и разработку новых способов диагностики и лечения ВИЧ-инфекции, остаются одним из приоритетных направлений для системы здравоохранения во всех странах мира. Происходит постоянный рост первично инфицированных пациентов, увеличивается число людей, живущих с ВИЧ, по-прежнему отсутствует возможность полного выздоровления пациентов. Одна из главных характеристик вируса - его высокая степень изменчивости и способность к постоянным мутациям в организме пациента. Одним из проявлений изменчивости вируса является переключение тропизма ВИЧ к хемокиновым рецепторам (ХР) CCR5 и CXCR4 в динамике развития заболевания [3, 7].

Хемокины представляют собой молекулы с низкой молекулярной массой, вырабатываемые лимфоцитами, макрофагами, гранулоцитами и эозинофилами при воздействии на них антигенов [3, 4]. Хемокины классифицируются как С, СС, СХС и СХЗС в зависимости от структуры и количества остатков цистеина. В настоящее время известно, что ряд рецепторов для хемокинов являются и ко-рецепторами для ВИЧ [2].

Тропизм вируса к разным типам клеток определяется типом хемокиновых рецепторов, которые экспрессированы на их поверхности. Выделяют CCR5/R5-тропные вирусы, CXCR4/X4-тропные и вирусы с двойным тропизмом, которые могут использовать оба ко-рецептора. Исторически вирусы R5 часто называют так же, как макрофаг М-тропные вирусы из-за их склонности к заражению этих клеток. И наоборот, штаммы X4 названы лимфоцитарными Т-тропными, так как у них выражена способность к репликации на таком типе клеток [2].

Известно, что при прогрессировании ВИЧ-инфекции происходит смена используемого ко-рецептора с CCR5 на CXCR4, что также ассоциируется с ускоренным снижением числа Т-лимфоцитов и неблагоприятным прогнозом заболевания [4, 6]. Частота переключения тропизма различна при разных субтипах вируса, что подчеркивает важность определения субтипа вируса при определении тропизма [5]. Приблизительно у половины пациентов тропизм вируса не переключается на протяжении всего заболевания, что позволяет использовать у таких пациентов антагонисты CCR5 рецепторов при проведении ВААРТ.

Цель исследования – оценить клинико-лабораторные проявления ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса.

Материалы и методы

Определение тропизма ВИЧ-1 к ко-рецепторам CCR5 и CXCR4 было выполнено у 97 ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в Гродненской области РБ. В группе исследования было 55 (57,1%) женщин и 42 чел. (42,9%) – мужчины, средний возраст пациентов составил 36,4±5,8 лет. 38 пациентов во время проведения исследования находились на антиретровирусной терапии (кБАРТ). Половина пациентов из группы находились на I клинической стадии заболевания (ВОЗ, 2012) – 48 (50%). СПИД был диагностирован у 31 (31,6%) человека. Определение тропизма ВИЧ проводилось с помощью набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии (Россия) согласно инструкции производителя. Для разделения популяций R5 и не R5-тропных ВИЧ использовался показатель FPR – величина, определяющая вероятность, с которой данный вирус будет ложно определен как CXCR4-тропный, равная 20%. CCR5-тропным считался образец при наличии показателя FPR более 20%. При величине FPR менее 20% образцы считались не CCR5-тропными (CCR5/CXCR4 и/или CXCR4-тропными).

Иммунограмма выполнялась на проточном цитофлюориметре FACSCalibur (США), использовались BDMultitest CD3/CD8/CD45/CD4 with trucount tubes (Япония). Антитела (Jg М и G) к вирусу Эпштейна-Барра (ВЭБ), цитомегаловирусу (ЦМВ), токсоплазме (tox), вирусам простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ 1, 2) определялись методом ИФА с использованием наборов реактивов производства «Фарленд», Республика Беларусь и «Вектор Бест», Россия с применением микропланшетного фотометра Sunrise, Tecan (Австрия/Швейцария). Определение вирусной нагрузки ВИЧ выполняли с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс ВИЧ Монитор», производства Центрального НИИ эпидемиологии (г. Москва, Россия) согласно инструкциям, прилагаемым к наборам.

В зависимости от тропизма вируса пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа – 62 пациента, инфицированных R5-тропным (R5Tr) ВИЧ, 2-я группа - 35 пациентов, инфицированных не R5(не R5Tr)-тропным ВИЧ. Статистический анализ проводили с помощью пакета «Statistica», версия 10. Данные представлены как Me (медиана) и интерквартильный размах (25%-75%).

Результаты и обсуждение

В данном исследовании установлено преобладание пациентов, инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ в 1,8: 62 (63,9%) пациента и 35 (36,1%) пациентов, соответственно. Полученный результат сопоставим с данными других исследований [1, 2].

Сравнительный анализ частоты основных клинических проявлений ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ представлен в табл. 1. Как видно из таблицы, не отмечено различий в группах по возрасту, полу, путям инфицирования. В возрасте до 30 лет: в 1-й группе было 13 (21%) пациентов, во 2-й – 7 (20%) ($p > 0,05$, тест χ^2). В возрастной группе 30-50 лет находилось большинство исследуемых: в 1-й группе 43 (69,4%) пациента, во 2-й – 26 (74,3%) ($p > 0,05$, тест χ^2). Пациенты старше 50 лет также присутствовали в обеих группах: в 1-й группе 6 (9,6%), во 2-й – 2 (5,7%) ($p > 0,05$, тест χ^2).

Таблица 1. – Клиническая характеристика пациентов в группах исследования

| Показатель | 1-я группа R5Тр, n=62 | 2-я группа Не R5Тр, n=35 | P |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------|
| Мужчины | 36 (58,1%) | 20 (56,7%) | $>0,05^*$ |
| Женщины | 26 (41,9%) | 15 (43,3) | $>0,05^*$ |
| ПИН | 23 (37%) | 7 (20%) | $>0,05^*$ |
| Возраст (лет) | 37 (33-43) | 34 (30-41) | $>0,05^{**}$ |
| Клинические стадии ВИЧ | | | |
| 1-я стадия | 30 (48,3%) | 18 (56,7%) | $>0,05^*$ |
| 2-я стадия | 8 (12,9%) | 4 (13,3%) | $>0,05^*$ |
| 3-я стадия | 19 (30,6%) | 8 (20,0%) | $>0,05^*$ |
| 4-я стадия | 5(8,2%) | 5 (10,0%) | $>0,05^*$ |
| СПИД | 19 (30,6%) | 12 (34,3%) | $>0,05^*$ |
| КБАТ | 28 (45,2%) | 11 (31,4%) | $>0,05^*$ |
| Стаж ВИЧ-инфекции (лет) | 3 (1-5) | 4,6 (2-13) | $>0,05^{**}$ |

Примечание: * - * –Тест χ^2 , ** – Тест Манна-Уитни

Большинство пациентов, включенных в группы исследования, были инфицированы половым путем. Количество лиц, инфицированных при внутривенном введении наркотических препаратов, составило приблизительно одну треть в каждой группе ($p > 0,05$, тест χ^2). Пациенты на стадии СПИД присутствовали в обеих группах. При этом в структуре пациентов со СПИД пациенты с разным тропизмом вируса распределились приблизительно поровну: 19 (61%) пациентов из 1-й группы и 12 (39%) – со 2-й ($p > 0,05$, тест χ^2).

Количество пациентов, получающих кБАТ на момент забора крови для исследования на тропизм, было выше в первой группе в 2,5 раза. КБАТ в группе пациентов, инфицированных R5-тропным вариантом ВИЧ, получали 45,2%, а в группе инфицированных не R5тропным вариантом – 31,4%. Данный факт указывает на то, что прогрессирование заболевания с формированием иммунологических и клинических признаков иммуносупрессии, и как следствие – появление показаний для кБАТ у 45,2% пациентов, инфицированных R5-тропным вариантом вируса, возникает без переключения тропизма ВИЧ.

В то же время 68,6% пациентов, инфицированных не R5-тропным вирусом, не получали кБАТ. При этом у 17 пациентов (48,7%) 2-й группы на момент проведения исследования отсутствовали существующие в настоящее время показания для начала терапии, однако в динамике наблюдения у 11 пациентов этой группы кБАТ была начата, а у 6 (17,1%) показания по-прежнему отсутствуют. Семеро пациентов (20%) из данной группы отказались от лечения.

Стаж ВИЧ-инфекции, который оценивался, исходя из даты официального учета пациента как ВИЧ-инфицированного, не различался достоверно в группах пациентов. В то же время количество пациентов, имевших стаж ВИЧ-инфекции менее 5 лет, было больше в 1 группе: 47 (75,8%) по сравнению со 2-й – 18 (51,4%). Частота переключения тропизма в зависимости от стажа ВИЧ-инфекции представлена в табл. 2.

Таблица 2. – Частота переключения тропизма в зависимости от стажа ВИЧ-инфекции

| Стаж учета по ВИЧ-инфекции (годы) | 1-я группа R5Тр, n=62 | 2-я группа Не R5Тр, n=35 | p* |
|-----------------------------------|-----------------------|--------------------------|---------|
| 0-3 | 37(59,7%) | 14 (40%) | $>0,05$ |
| >3-5 | 10 (16,1%) | 4 (11,4%) | $>0,05$ |
| >5 – 10 | 10 (16,1%) | 12 (34,3%) | $>0,05$ |
| >10 | 5 (8,1%) | 5 (14,3%) | $>0,05$ |

Примечание: * - * –Тест χ^2

Как видно из таблицы 2, у 51,5% пациентов 2-й группы переключение тропизма вируса было установлено в течение первых 5 лет диспансерного наблюдения по ВИЧ-инфекции. При этом доля пациентов со стажем учета от 5 до 10 лет во 2-й группе более чем в 2 раза была больше по сравнению с 1-й группой. Среди пациентов обеих групп, имевших стаж ВИЧ-инфекции свыше 5 лет, доля пациентов с не R5тропным вирусом достигла 53,1% (17 из 32), в то время как среди пациентов, состоящих на учете менее 5 лет, – 27,7% (18 из 65), $p < 0,02$, тест χ^2 .

Результаты стандартных иммунологических и вирусологических исследований в группах наблюдения представлены в табл. 3.

Таблица 3. – Иммунологические показатели и уровень ВН ВИЧ пациентов в зависимости от тропизма ВИЧ-1

| Показатель | 1-я группа R5Тр, n=63 | 2-я группа Не R5Тр, n=35 | p* |
|-----------------|-----------------------|--------------------------|---------|
| CD4 Т-Л (%) | 24,5 (16,52 -34,7) | 22,0 (9,0 -32,5) | $>0,05$ |
| CD4 Т-Л (абс) | 353,42 (248,73-451,7) | 384,5 (199,7-560,5) | $>0,05$ |
| CD8 Т-Л (%) | 55,0 (44,0-65,0) | 55,5 (48,0-70,0) | $>0,05$ |
| CD8 Т-Л (абс) | 860,0 (600,86-1130,2) | 771,98 (378,8-1027) | $>0,05$ |
| ВН ВИЧ (коп/мл) | 795,5 (<116-36000) | 2000 (<116-46000) | $>0,05$ |

Примечание: * – Тест Манна-Уитни

Как видно из табл. 3, отсутствовали достоверные различия в относительном и абсолютном содержании CD4 и CD8 Т-лимфоцитов, а также уровне вирусной нагрузки ВИЧ, на момент определения тропизма ВИЧ в группах наблюдения.

Появление оппортунистических инфекций (ОИ) при ВИЧ-инфекции является признаком форми-

рования иммуносупрессии и прогрессирования заболевания. Переключение тропизма ВИЧ и увеличение популяции не R5-тропного вируса в динамике развития заболевания ассоциируется с развитием иммунодефицита, что позволяет предположить более высокую частоту ОИ у таких пациентов.

Лабораторные маркеры оппортунистических инфекций были определены у 43 пациентов, среди них было 26 пациентов 1-й группы и 17 пациентов 2-й группы. Маркеры острых инфекций – Ig M к вирусу простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа, токсоплазмозу (Тох) и вирусу Эпштейна-Барра (ВЭБ) – не определялись ни у кого из пациентов. Частота обнаружения иммуноглобулинов G к возбудителям ОИ представлена на рис. 1.

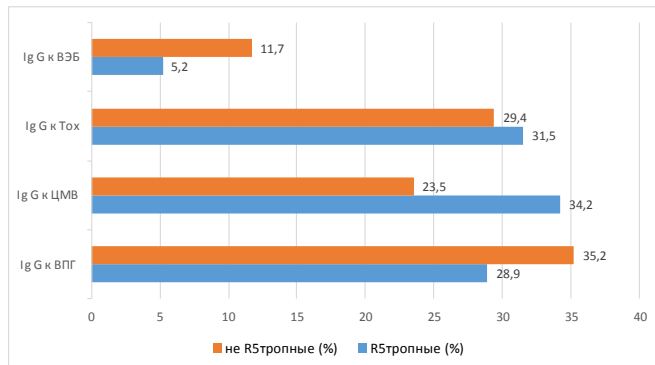


Рисунок 1. – Частота (%) лабораторных маркеров оппортунистических инфекций в группах пациентов

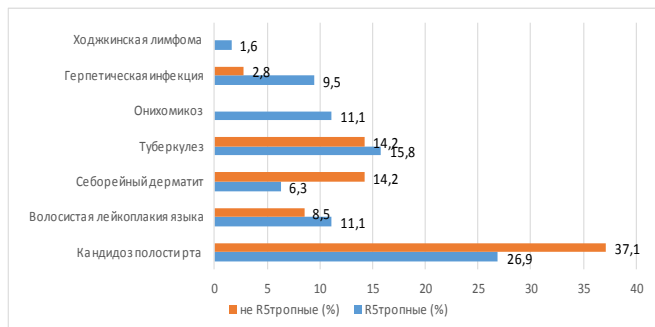


Рисунок 2. – Частота (%) оппортунистических заболеваний в группах пациентов

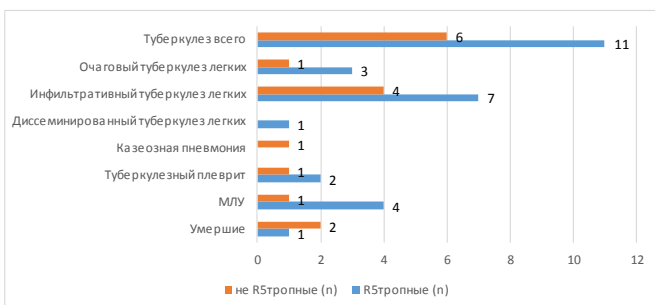


Рисунок 3. – Клинические формы туберкулеза в группах пациентов

Литература

1. Клинико-иммунологические и эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ-1 / Матиевская Н. В. [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2015. – Т. 7, № 1. – С. 52-59.

Как представлено на рис. 1, маркеры ВЭБ-инфекции (IgG) более чем 2 раза чаще определялись у пациентов 1-й группы по сравнению со 2-й ($p > 0,05$, тест χ^2). Не получено достоверных различий в частоте выявления Ig G к ЦМВ, Ig G к ВПГ 1 + Ig G к ВПГ 2 и Ig G к Тох в группах пациентов ($p > 0,05$, тест χ^2).

Частота возникновения оппортунистических заболеваний в группах наблюдения представлена на рис. 2. Как видно на рисунке, наиболее распространенным оппортунистическим заболеванием в группах наблюдения был орофарингеальный кандидоз. Также были зафиксированы случаи туберкулеза, онихомикоза, себорейного дерматита, волосистой лейкоплакии языка и один случай Ходжкинской лимфомы в 1-й группе, приведший к летальному исходу.

В обеих группах пациентов наиболее распространенной формой был инфильтративный туберкулез легких, составивший 7 (63,6%) случаев в 1-й группе и 4 (66%) во 2-й (рис. 3).

Частота летальных исходов в группах пациентов, инфицированных вирусом с разным тропизмом, а также причины летальных исходов, по данным официального учета пациентов в консультативно-диспансерном кабинете УЗ «Гродненская инфекционная клиническая больница», в динамике наблюдения за пациентами представлены в табл. 3. Летальные исходы зафиксированы у 7 (11,2%) пациентов в 1-й группе и 5 (14,2%) – во 2-й. Наиболее часто в 1-й группе к смерти привели тяжелые поражения печени – 3 (4,8%) случая. Туберкулез явился причиной смерти во 2-й группе в 2 (5,7%) случаях из пяти, в то время как в 1-й группе туберкулез как причина смерти установлен у 1 пациента (1,6%), $p > 0,05$, test χ^2 .

Выводы

1. Переключение тропизма вируса установлено у 36% включенных в исследование ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в Гродненской области. При этом у 51,5% пациентов, инфицированных не R5 тропным ВИЧ, переключение тропизма вируса отмечено в первые 5 лет наблюдения.

2. Из числа пациентов, имевших стаж ВИЧ-инфекции более 5 лет, доля пациентов с не R5 тропным вирусом достигла 53,1%, в то время как среди пациентов, состоящих на учете менее 5 лет, – 27,7% ($p < 0,02$).

3. Клинические и стандартно определяемые лабораторные данные ВИЧ-инфицированных пациентов не позволяют прогнозировать тропизм вируса, так как сравнительный анализ клинико-лабораторных проявлений ВИЧ-инфекции, включая частоту стадии СПИД, оппортунистических инфекций, летальных исходов, уровень CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, вирусной нагрузки ВИЧ, не выявил различий в группах пациентов, инфицированных ВИЧ с разным тропизмом.

Literatura

1. Kliniko-immunologicheskie i yepidemiologicheskie osobennosti VICH-infekcii v zavisimosti ot tropizma VICH-1 / Matievskaja N. V. [i dr.] // VICH-infekcija i immunosupressii. – 2015. – T. 7, № 1. – S. 52-59.

2. C-C chemokine receptor type five (CCR5): An emerging target for the control of HIV infection / F.Barmania, M.S.Pepper // Applied and Translational Genomics. – 2013. – Vol. 2, № 1. – P.3–16.

3. Epidemiology and predictive factors for chemokine receptor use in HIV-1 infection / G.J. Moyle [et al.] // J. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 191, № 6. – P.866–872.

4. Expansion of CCR5+ CD4+ T-lymphocytes in the course of active pulmonary tuberculosis / M.B.Santucci [et al.] // European Respiratory Journal. – 2004. – № 24. – P.638–643.

5. HIV–Mycobacterium tuberculosis co-infection: a ‘danger-couple model’ of disease pathogenesis Esaki M. Shankar, Ramachandran Vignesh, Rada Elleg, Muttiah Barathan, Yee K. Chong, M. Kahar Bador, Devi V. Rukumani, Negar S. Sabet, Adeeba Kamarulzaman, Vijayakumar Velu, Marie Larsson/Pathogens and Disease (2014), 70, 110–118, doi:10.1111/2049-632X.12108

6. Inhibition of Dual/Mixed Tropic HIV-1 Isolates by CCR5-Inhibitors in Primary Lymphocytes and Macrophages [Electronic resource] / M.Surdo [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – // <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0068076>– Date of access: 15.04.2016.

7. The envelope gene is a cytopathic determinant of CCR5 tropic HIV-1 / K.Oliveri [et al.] // Virology. – 2007. – Vol. 358, № 1. – P.23–38.

2. C-C chemokine receptor type five (CCR5): An emerging target for the control of HIV infection / F.Barmania, M.S.Pepper // Applied and Translational Genomics. – 2013. – Vol. 2, № 1. – R.3–16.

3. Epidemiology and predictive factors for chemokine receptor use in HIV-1 infection / G.J. Moyle [et al.] // J. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 191, № 6. – R.866–872.

4. Expansion of CCR5+ CD4+ T-lymphocytes in the course of active pulmonary tuberculosis / M.B.Santucci [et al.] // European Respiratory Journal. – 2004. – № 24. – R.638–643.

5. HIV–Mycobacterium tuberculosis co-infection: a ‘danger-couple model’ of disease pathogenesis Esaki M. Shankar, Ramachandran Vignesh, Rada Elleg, Muttiah Barathan, Yee K. Chong, M. Kahar Bador, Devi V. Rukumani, Negar S. Sabet, Adeeba Kamarulzaman, Vijayakumar Velu, Marie Larsson/Pathogens and Disease (2014), 70, 110–118, doi:10.1111/2049-632X.12108

6. Inhibition of Dual/Mixed Tropic HIV-1 Isolates by CCR5-Inhibitors in Primary Lymphocytes and Macrophages [Electronic resource] / M.Surdo [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – // <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0068076>– Date of access: 15.04.2016.

7. The envelope gene is a cytopathic determinant of CCR5 tropic HIV-1 / K.Oliveri [et al.] // Virology. – 2007. – Vol. 358, № 1. – R.23–38.

CLINICAL AND LABORATORY FEATURES OF HIV-INFECTION DEPENDING ON VIRAL TROPISM

Tokunova I. O., Matsiyevskaya N. V.

Educational Establishment “Grodno State Medical University”, Grodno, Belarus

A comparative analysis of the clinical and laboratory manifestations of HIV infection was performed in two groups of patients: 62 patients infected with R5-tropic HIV variant and 35 patients infected with non R5-tropic variant of the virus. HIV tropism was determined by sequencing the gene V3 region of gp120 gene (FPR = 20%). We found no significant differences in the frequency of clinical stages of HIV infection (WHO, 2012), AIDS, opportunistic infections, mortality, the level of CD4 + and CD8 + lymphocytes and HIV viral load in patients infected with different HIV tropism. A longer length of HIV infection in patients infected with non R5-tropic variant of the virus was established.

Keywords: HIV, tropism, clinical manifestations, AIDS, tuberculosis.

Поступила: 20.05.2016

Отрецензирована: 15.06.2016