

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.98:578.828.6HIV:578 .233.22]-036

ТОКУНОВА
Ирина Олеговна

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ
ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТРОПИЗМА ВИРУСА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Минск, 2018

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Матиевская Наталья Васильевна**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой инфекционных болезней учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Жаворонок Сергей Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Ключарева Анна Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и детских инфекций государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита диссертации состоится 30 января 2019 года в 12⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, телефон 277-16-21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «27» декабря 2018 года

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.18.04,
кандидат медицинских наук, доцент



А.П.Музыченко

ВВЕДЕНИЕ

ВИЧ-инфекция продолжает оставаться значимой проблемой здравоохранения в Республике Беларусь в связи с продолжающимся ростом новых случаев инфицирования, с вовлечением в эпидемический процесс преимущественно лиц молодого работоспособного возраста, с необходимостью пожизненного приема антиретровирусных лекарственных средств (АРВ-ЛС), высокой летальностью.

Тропизм ВИЧ – важное иммунобиологическое свойство вируса, которое заключается в тропности вируса к определенному хемокиновому рецептору CCR5 или CXCR4, выполняющему роль корецептора для внедрения вируса в клетки человека. При первичной ВИЧ-инфекции в организме инфицированного пациента определяется CCR5-тропный вариант ВИЧ. С течением времени у части пациентов происходит переключение тропизма и вирус начинает использовать наряду с CCR5 новый корецептор – CXCR4. В связи с этим постепенно появляются вирусы с двойным тропизмом (R5/X4-тропные), а на более поздних стадиях ВИЧ-инфекции – и «чистые» X4-тропные варианты (Jones R. et al., 2007; Berger E. A. et al., 1999; Wang Z. X. et al., 1998; Mosier D. E. et al., 2007). В клинической практике тропизм ВИЧ определяется для решения вопроса о возможности назначения пациенту АРВ-ЛС – антагониста CCR5. Данное лекарственное средство эффективно лишь при условии наличия у пациента R5-тропного (R5-тр) вируса (Gilliam B. L. et al., 2017; Dorr P. et al., 2017).

Тропизм ВИЧ-1 к хемокиновым рецепторам зависит от структуры изменяемого участка V1-V3 gp120 гена env оболочки ВИЧ. Большинство исследований по определению тропизма в мире выполнено на изолятах ВИЧ-1, относящихся к субтипам В и С, которые являются доминирующими в странах Западной Европы, Африки, в США (Samson M. et al., 1996; Paxton W. A. et al., 1996; Castagna A. et al., 2006). Известно, что на территории Республики Беларусь и в странах СНГ длительное время циркулирует субтип А, который выделяется более чем у 90% пациентов, при этом по своим филогенетическим характеристикам он идентичен вирусам, циркулирующим в России и в Украине (Lesenko E. V. et al., 2015; Eremin V. F. et al., 2016).

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами

Научное направление исследования соответствует перечню приоритетных направлений научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016-2020 гг. в соответствии с Указом Президента Республики

Беларусь от 22.04.2015 г. № 166 «О приоритетных направлениях научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016-2020 гг.», п. 4 «Медицина, фармацевция, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний».

Работа выполнена в рамках плановых научно-исследовательских работ учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» (ГрГМУ) по теме: «Разработка и внедрение новых методов диагностики и лечения социально-значимых инфекционных болезней» (2013-2017 гг., государственная регистрация № 20130881 от 10.06.2013 г.) и договора о сотрудничестве между Федеральным бюджетным учреждением науки «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) и ГрГМУ на 2013-2015 гг. № 27/3 от 01.07.2013.

Цель исследования: установить молекулярно-эпидемиологические, клинические и иммунологические особенности течения ВИЧ-инфекции, в зависимости от тропизма вируса.

Задачи исследования:

1. Установить тропизм и субтипы ВИЧ по нуклеотидной последовательности петли V3 белка оболочки (gp120) гена env ВИЧ-1 в группе пациентов, проживающих в Гродненской области Республики Беларусь.

2. Выявить особенности иммунологического статуса и экспрессии хемокиновых рецепторов CCR5 и CXCR4 в зависимости от тропизма ВИЧ-1.

3. Установить взаимосвязь клинико-лабораторных показателей ВИЧ-инфицированных пациентов при разном тропизме вируса с полиморфизмом генов цитокинов TNF-альфа (G-308A) и IL-2 (T330G).

4. Определить клинические особенности течения, исходов ВИЧ-инфекции и ответа на антиретровирусную терапию (АРТ) в зависимости от тропизма вируса.

5. Представить частоту, причины и прогноз замен АРВ-ЛС в схемах лечения ВИЧ-инфицированных пациентов, состоящих на диспансерном учете в консультативно-диспансерном кабинете (КДК) учреждения здравоохранения «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» (ГОИКБ).

Объект исследования. Пациенты с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции на разных стадиях заболевания, практически здоровые лица.

Предмет исследования. Данные анамнеза, результаты клинических, лабораторных исследований, тропизм ВИЧ, субтипы ВИЧ, полиморфизм генов фактора некроза опухоли- α (TNF- α) – G-308 A, интерлейкина-2 (IL-2) – T330G, иммунограмма, включающая показатели В-, Т-лимфоцитов (ТЛ) и их субпопуляций (Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов), экспрессию молекул HLA-DR, CD25, CCR5 и CXCR4 на Т-лимфоцитах крови и их

субпопуляциях; исходы ВИЧ-инфекции и эффективность АРТ в зависимости от тропизма вируса, оценка частоты, причин и прогноз замены антиретровирусных лекарственных средств в схемах АРТ.

Научная новизна

Впервые выполнено определение тропизма и субтипа ВИЧ у пациентов Гродненской области методом секвенирования участка V3 петли gp120 гена env ВИЧ-1. Установлены генетические, иммунологические и клинические особенности течения и исходов ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса, оценена эффективность АРТ у ВИЧ-инфицированных пациентов Гродненского региона, спрогнозированы сроки и частота замен АРВ-ЛС в схемах лечения. Выявлены иммунологические изменения при формировании иммуносупрессии у пациентов с разным тропизмом ВИЧ. Установлено, что у пациентов с переключением тропизма ВИЧ (наличие не R5-тр варианта) генетическими предикторами благоприятного течения были: наличие генотипа GA TNF- α (G-308A) и носительство аллели T гена IL-2 (T330G). Разработан метод прогнозирования неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции на основании характера тропизма вируса.

Положения, выносимые на защиту:

1. Среди ВИЧ-инфицированных Гродненского региона частота встречаемости пациентов, инфицированных R5-тропным ВИЧ, превышает количество пациентов, инфицированных не R5-тропным ВИЧ в 2 раза. Нуклеотидные последовательности участка V3 петли gp120 гена env ВИЧ-1 имеют высокую схожесть с последовательностями ВИЧ-1, изолированными на территории Российской Федерации, Республики Беларуси и Украины. Характер кластеризации нуклеотидных последовательностей петли V3 при филогенетическом анализе не зависит от характера тропизма ВИЧ.

2. У пациентов, не получающих АРТ, при инфицировании R5-тр ВИЧ имеет место более выраженная активация Т-клеточного иммунитета по сравнению с пациентами с не R5-тр ВИЧ. Формирование СПИДа при инфекции R5-тр ВИЧ связано со значительным снижением содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, в то время как при инфекции не R5-тр ВИЧ развитие СПИДа приводит, наряду со снижением Т-хелперов и иммунорегуляторного индекса (ИРИ), к значительному усилению процессов активации Т-клеточного иммунитета за счет повышения экспрессии HLA-DR на Т-лимфоцитах, увеличения экспрессии HLA-DR на CD8+Т-лимфоцитах, снижения содержания регуляторных CD4+CD25+Т-лимфоцитов, снижения экспрессии CXCR4 и CCR5 на лимфоцитах крови.

3. У пациентов с не R5-тр ВИЧ генотип GA TNF- α (G-308A) ассоциируется с более высоким содержанием CD4+Т-лимфоцитов и более выраженной экспрессией CXCR4+ на лимфоцитах крови, а носительство аллели

T (генотипы TT и GT) гена IL-2 ассоциируется с показателем FPR более 10%. Носительство аллели G (генотипы GG и GT) гена IL-2 (T330G) у ВИЧ-инфицированных пациентов без учета тропизма ассоциируется с более высоким содержанием CD8+HLA-DR+ T-лимфоцитов.

4. Клинико-лабораторные проявления ВИЧ-инфекции не позволяют предположить характер тропизма ВИЧ. Наличие у пациента не R5-тр варианта вируса позволяет прогнозировать неблагоприятное течение ВИЧ-инфекции, так как отсутствие АРТ у таких пациентов ассоциируется с высокой частотой летальных исходов.

5. У ВИЧ-инфицированных пациентов, находящихся на АРТ более трех лет, частота замены лекарственных средств в схемах в связи с иммунологической и вирусологической неэффективностью, развитием нежелательных явлений на АРВ-ЛС и другими причинами достигает 50,0%. Прогнозируется, что первая смена АРВ-ЛС наступает через 17,0 месяцев от начала лечения у 16,0%, вторая смена – через 29 месяцев у 8,5%, третья – через 60,0 месяцев приблизительно у 2% пациентов, получающих АРТ, что обосновывает необходимость постепенного расширения спектра используемых групп АРВ-ЛС для лечения ВИЧ-инфекции.

Личный вклад соискателя ученой степени

Определение темы, формулировка цели и задач исследования проведены автором совместно с научным руководителем. Диссертантом самостоятельно выполнен отбор и наблюдение 98 пациентов с определенным тропизмом ВИЧ, ретроспективный анализ медицинской документации (амбулаторные карты, истории болезни) 434 ВИЧ-инфицированных пациентов, состоящих на учете в КДК ГОИКБ. Соискателем проведены патентно-информационный поиск с анализом современных литературных данных по теме исследования, статистическая и графическая обработка полученных данных, подготовлены публикации по теме диссертации. Анализ и интерпретация полученных результатов осуществлялись автором самостоятельно при консультативной помощи научного руководителя. Основные научные результаты исследований представлены в изданной монографии с долей личного участия соискателя 70% [1], в статьях [2-10], вклад соискателя – 85%; сборниках материалов конференций [11-28], тезисов докладов [29-32], вклад соискателя – 85%. В соавторстве подготовлена и утверждена инструкция по применению [33], вклад диссертанта – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на научных конференциях и съездах: «Современные достижения молодых ученых в медицине» (Гродно, ГрГМУ, 2014,2015); «Актуальные проблемы

медицины» (Гродно, 2015-2017); VII Ежегодном Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, Россия, 2015); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Современные проблемы инфекционной патологии человека», посвящённой 90-летию РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, 2014); Международной научно-практической конференции «ВИЧ-ассоциированный туберкулез: эпидемиологические, клинические и социальные аспекты» (Гродно, 2015); на X и XI международных медицинских конгрессах молодых ученых в Белостоке (Польша, 2015, 2016); Республиканской научно-практической конференции «Дни Лабораторной Медицины» (Гродно, 2016), областной конференции с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии», посвященной 55-летию кафедры инфекционных болезней ГрГМУ (Гродно, 2017).

Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре инфекционных болезней Гродненского государственного медицинского университета, в лечебную работу КДК учреждения здравоохранения Гродненская областная инфекционная больница.

Опубликование результатов диссертации

По теме диссертации опубликованы: 1 монография; 9 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих п. 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, общим объёмом 4,53 авторского листа; 18 статей в сборниках, материалах республиканских и международных научно-практических конференций; 4 тезиса докладов в сборниках международных и республиканских конференций. Без соавторов опубликованы 3 работы в материалах республиканских и международных научно-практических конференций. Результаты исследования использованы при разработке 1 инструкции по применению [33], подана 1 заявка на изобретение [34].

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из оглавления, введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 главы собственных исследований, заключения, библиографического списка и приложений. Диссертация изложена на 100 страницах (без списка литературы и приложений), содержит 6 рисунков, 36 таблиц (объемом 10 страниц). Библиографический список включает 195 источников (на русском языке – 36, на иностранном языке – 164), список публикаций автора.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ РАБОТЫ

Объект, материал и методы исследования

Тропизм ВИЧ был определен у 98 пациентов. В группу исследования были включены 55 (56,1%) женщин и 43 (43,9%) мужчины (средний возраст – $36,4 \pm 5,8$ года). В среднем стаж врачебного наблюдения за пациентами составил ($3,5 \pm 1,8$ года). На 1-й стадии ВИЧ-инфекции находились 49 (50%) человек, на 2-й – 12 (12,2%), на 3-й – 27 (27,6%), на 4-й – 10 (10,2%). СПИД диагностирован в 32 (32,7%) случаях. АРТ получали 62 (63,2%) пациента. В зависимости от тропизма ВИЧ, обследуемые были разделены на 2 группы: 1-я группа – 63 (64,2%) пациента, инфицированных R5-тр вариантом ВИЧ, 2-я группа – 35 (35,8%) пациентов, инфицированных не R5-тр вариантом. За время наблюдения умерли 13 (13,2%) человек. Группу контроля составили 16 здоровых лиц (3 мужчин и 13 женщин, без маркеров парентеральных гепатитов и ВИЧ-инфекции, средний возраст $32,5 \pm 15,1$ года).

Выполнен ретроспективный анализ медицинских документов 434 ВИЧ-инфицированных пациентов, состоящих на учете в консультативно-диспансерном кабинете учреждения здравоохранения «Гродненская областная клиническая больница», которые получали разные схемы АРТ на 30.12.2017 г. Оценивались причины замен АРВ-ЛС в схемах: вирусологическая неэффективность (ВНЭ) схемы – наличие определяемого уровня вирусной нагрузки ВИЧ (более детектируемого уровня) при проведении АРТ более 6 месяцев, иммунологическая неэффективность (ИНЭ) – отсутствие прироста или снижение содержания CD4+Т-лимфоцитов в течение 6-ти и более месяцев получения АРТ, нежелательные явления на АРВ-ЛС, коррекция схемы АРТ в силу разных причин. Пациенты с отсутствием приверженности к АРТ исключались из исследования.

Определение тропизма ВИЧ-1 к корецепторам CCR5 и CXCR4 выполнено генотипическим методом, основанным на анализе петли V3 gp120 гена env ВИЧ в 107 образцах лимфоцитов и плазмы 98 пациентов. Редактирование нуклеотидных последовательностей и получение консенсусной нуклеотидной последовательности проводилось с помощью программного обеспечения «ДЕОНА» (МедАйТи Групп, Россия). Анализ нуклеотидной последовательности производился на сайте <http://www.geno2pheno.org/> института информатики Макса Планка (Max Planck Institut Informatik, Германия). Показатель FPR (False Positive Rate) был принят равным 20%.

Определение субтипа ВИЧ проводилось на основании нуклеотидных последовательностей фрагмента петли V3 gp120 гена env ВИЧ с помощью ресурса REGA HIV-1 Subtyping Tool – Ver,3.0. Филогенетический анализ последовательностей петли V3 gp120 гена env ВИЧ проводился при помощи ПО MEGA ver.6.06. Дерево построено методом Maximum Likelihood с

использованием модели эволюции НКУ. Полученное дерево протестировано методом статистического бутстрэпа, количество выборок составило 1000.

Иммунофенотип клеток крови определяли методом проточной цитометрии. Использовали следующие панели антител: 1) CD4 FITC, клон MEM-241, CD8 PE, клон MEM-31, CD3 PerCP, клон UCHT1, HLA-DR APC, клон MEM-12 (ExBio, Чехия); 2) CD3 FITC, клон UCHT1, CD16 PE, клон 3G8, CD56 PE, клон LT56, CD45 PerCP, клон MEM-28, CD19 APC, клон LT19 (ExBio, Чехия); 3) CD195 (CCR5) FITC, клон 2D7/CCR5 (BD, США), CD184 (CXCR4) PE, клон 12G5 (BD, США), CD4 PerCP-Cy5.5, клон MEM-241 (ExBio, Чехия), CD25 APC, клон MEM-181 (ExBio, Чехия).

Полиморфизм гена TNF- α (G-308A) осуществляли методом realtime PCR (ПЦР в режиме реального времени, анализатор Rotor-Gene 6000) с аллель-специфичными праймерами, синтезированными в НПФ «Литех», Россия. Определение полиморфного варианта T330G гена интерлейкина-2 (И-2) проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией результата с применением соответствующего набора реактивов производства «Литех» (РФ).

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программного обеспечения STATISTICA на персональном компьютере с использованием пакета «Statistica», версии 10 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897. Для сравнения двух независимых выборок применен U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения зависимых выборок использовался критерий Вилкоксона. Для определения зависимости между показателями применяли коэффициент корреляции Спирмена (R). Анализ значимости различий по частоте встречаемости признаков оценивался с помощью критерия χ^2 , в таблицах сопряженности 2×2. На рисунках, в таблицах и в тексте результаты представлены в виде медианы (Me), интерквартильных размахов (ИКР: Q25-Q75), пределов (min-max), среднего \pm SD. Построение моделей выживаемости и кривых Каплана-Майера проводилось с помощью пакета «SURVIVAL» расширения языка «R». Достоверность различий в группах была принята при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты определения тропизма и субтипов ВИЧ по нуклеотидной последовательности участка V3 петли gp120 гена env ВИЧ-1. При анализе распределения образцов крови 98 ВИЧ-инфицированных пациентов по уровню FPR были получены следующие результаты: у 64,3% подтверждена инфекция R5-тропным вирусом, в то время как у 35,7% пациентов установлен не R5-тропный тип вируса, представленный популяцией X4-тропного варианта и

X4/R5-тропного (с двойным тропизмом) вируса (таблица 1). При этом группа пациентов, инфицированных не R5-тропным вариантом ВИЧ, неоднородна по своей структуре: количество пациентов, имеющих низкие показатели FPR (до 5%), которые могут быть отнесены к «чистым» X4 вариантам, использующим для входа в клетки корецептор CXCR4, было невелико – 5 (5,1%) случаев, 30 пациентов (30,6%), имели показатель FPR более 5%, но менее 20% (таблица 1).

Таблица 1. – Распределение пациентов по показателю FPR при определении тропизма ВИЧ (n=98)

FPR	n	%
0,0-2,0 (не-R5-тропный)	3	3,06
2,0-10,0 (не-R5-тропный)	14	14,29
10,0-20,0 (не-R5-тропный)	18	18,37
20,0-40,0 (R5-тропный)	25	25,51
40,0-60,0 (R5-тропный)	18	18,37
60,0-100,0 (R5-тропный)	20	20,4
Всего	98	100

Субтип ВИЧ по региону V3 gp120 гена env определен у 94 пациентов в группе. У 91 (96,8%) пациента установлен субтип А, у 3 – субтип В (3,2%). Примеры определения тропизма ВИЧ по нуклеотидной последовательности петли V3 gp120 гена env представлены в таблице 2. Таким образом, у подавляющего большинства пациентов с определенным тропизмом вируса установлен субтип А, что послужило дополнительным обоснованием для выбора показателя FPR, равного 20% при определении тропизма с использованием алгоритма geno2pheno (European guidelines on the clinical management of HIV-1 tropism testing, 2011) в группе исследования.

Таблица 2. – Тропизм и субтипы ВИЧ по результатам секвенирования петли V3 gp120 гена env ВИЧ-1

Матрица	FPR	Тропизм	Нуклеотидная последовательность петли V3 gp120 гена env ВИЧ-1	Субтип ВИЧ
ДНК	1,5	CXCR4	TGTRTCAGRCCTKACARMAAAAMTATA ASAACAAGTATACGTATAGGACCAGGA MAAMCCTTCTATGCAACAGGTGATGTA ATAGGGGACCCAAGGAAAGCAYATTGT	А
ДНК	30,1	CCR5	TGTGCAAGACCCAACAACAATACAAGA AAAAGTATACATATAGGACCGGGGAGA GCAATGTATGCMACAGGAGACATAATA GGAGATATAAGACAAGCACATTGT	В

Как показано в таблице 2, матрицей для определения тропизма в двух случаях была ДНК лимфоцитов крови. По уровню FPR в первом случае у пациента, инфицированного субтипом А ВИЧ, установлен не R5-тропный вирус, во втором случае у пациента с субтипом В ВИЧ – R5-тропный вирус.

Результаты филогенетического анализа последовательности V3 петли белка gp120 гена env ВИЧ-1 в зависимости от тропизма вируса



Рисунок 1. – Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей петли V3 белка gp120 гена env ВИЧ-1, изолированных от пациентов, проживающих в Гродненском регионе Республики Беларусь

Результаты филогенетического анализа последовательности V3 петли белка gp120 гена env ВИЧ-1 в зависимости от тропизма вируса показаны на рисунке 1. В анализ включались 51 последовательность, полученная в ходе данного исследования (R5-тр варианты отмечены на дереве закрашенными треугольниками, неR5-тр – пустыми треугольниками) и 22 последовательности, полученные ранее на территории Российской Федерации, Республики Беларусь и Украины и хранящиеся в базе данных Национальной лаборатории Лос-Аламос, США (отмечены на дереве кругом).

Большинство последовательностей, полученных в ходе данного исследования, образовали единый кластер. В этот кластер вошли также 7 последовательностей субтипа А из базы данных Национальной лаборатории Лос-Аламос. Отдельно от остальных находится последовательность 403, которая кластеризуется совместно с последовательностями субтипа В из базы данных Лос-Аламос. Зависимости между характером кластеризации исследуемых образцов и их тропизмом не обнаружено.

Иммунный статус ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса. Экспрессия HLA-DR на Т-лимфоцитах была изучена у пациентов, не получающих АРТ. Среди таких пациентов было 17 человек, инфицированных R5-тр вариантом ВИЧ, и 12 – инфицированных не R5-тр вариантом (таблица 3).

Таблица 3. – Экспрессия HLA-DR на Т-лимфоцитах у пациентов, не получающих АРТ, в зависимости от тропизма ВИЧ

Показатель, медиана (min-max)	1-я группа R5-тр, n=17	2-я группа Не R5-тр, n=12	p*
HLA-DR+ лимфоциты (%)	53,29 (18,5-70,6)*	37,90 (16,9-68,4)	0,03
HLA-DR+лимфоциты (кл/мкл)	1038,14 (324,7-1669,7)*	541,18 (215,3-1470,1)	0,02
CD3+HLA-DR+Т-лимфоциты (кл/мкл)	713,49 (206,1-1626,5)*	427,67 (143,0-1023,8)	0,05
Экспрессия HLA-DR Т- хелперами (%)	26,3 (8,0-133,7)	18,5 (13,1-31,1)	0,03
CD8+HLA-DR+ Т-ЦТЛ ¹ (кл/мкл)	764,52 (61,6-1655,3)*	417,30 (152,3-952,4)	0,03

Примечания –

1) *– p<0,05 – ТестМанна-Уитни;

2) ¹–ЦТЛ – цитотоксические лимфоциты

Как видно из таблицы 3, при сравнении иммунологических показателей пациентов, не получающих АРТ, при разном тропизме ВИЧ установлены достоверные различия в абсолютном содержании активированных

Т-лимфоцитов (ТЛ). При инфицировании R5-тр вариантом ВИЧ имели место более выраженная экспрессия маркера активации HLA-DR на лимфоцитах крови, а также большее содержание активированных ТЛ (CD3+HLA-DR+) и активированных CD8+HLA-DR+ цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) – эффекторных клеток иммунной системы. Установлен ряд прямых коррелятивных связей показателя FPR с абсолютным содержанием (кл/мкл) клеток, экспрессирующих HLA-DR: с HLA-DR+лимфоцитами – R=0,5, p<0,006; с CD3+HLA-DRA+ТЛ – R=0,45, p<0,01; с CD4+HLA-DRA+ТЛ – R=0,52, p<0,004; с CD8+HLA-DRA+ТЛ, – R=0,51, p=0,005.

При инфекции R5-тр ВИЧ у пациентов с наличием СПИДа по сравнению с пациентами без СПИДа установлено значительное снижение содержания: Т-лимфоцитов (CD3+ Т-клетки) (медиана, ИКР), кл/мкл– 982,0 (935,0-1231,0) и 1352,0 (1109,0-1646,0), соответственно, p<0,05; Т-хелперов (CD3+CD4+ Т-лимфоциты), –333,1 (126,4-381) и 478,0 (267,0-608,3) кл/мкл, соответственно, p<0,05; достоверное снижение Т-хелперов, экспрессирующих HLA-DR(CD4+HLA-DR+ активированные Т-хелперы), кл/мкл, – 40,1 (34,9-50,7) и 87,1 (63,09-119,7), соответственно, p<0,05.

Таблица 4. – Показатели экспрессии HLA-DR+,CD4+CD25+, CXCR4+, CCR5+на Т-лимфоцитах у пациентов с не R5-тропным ВИЧ в зависимости от наличия СПИДа

Показатели медиана (ИКР)	не R5тр ВИЧ СПИД «+», n=7	не R5тр ВИЧ СПИД «-», n=12
HLA-DR+ клетки (%)	47,19 (41,84-59,1)*	34,18 (25,02-39,36)
HLA-DR+ клетки (кл/мкл)	595,8 (224,7-1213,7)	541,1 (388,8-117,35)
CD3+HLA-DR+ Т-клетки (%)	36,08 (33,9-50,6)*	29,9 (17,5-31,3)
CD3+HLA-DR+Т-клетки (кл/мкл)	549,4 (190,1-958,3)	427,6 (297,9-580,2)
CD4+HLA-DR+ Т-хелперы (кл/мкл)	37,8 (26,2-51,5)*	62,81 (51,9-84,6)
Интенсивность экспрессии HLA-DR Т-хелперами (усл. ед.)	116,2 (108,4-132,6)*	76,7 (57,2-83,2)
Экспрессия HLA-DRCD3+CD8+ лимфоцитами (%)	62,79 (57-70,3)*	46,46 (36,7-56,6)
CD4+CD25+ (%)	1,16 (0,34-1,3)*	1,58 (1,1-2,15)
CD4+CD25 (кл/мкл)	8,6 (4,76-22,1)*	23,8 (13,9-41,7)
CXCR4+ клетки (%)	13,7 (7,8-15,8)*	26,54 (15,7-48,28)
CXCR4+ клетки (кл/мкл)	153 (52,74-280)	276,8 (152,63-391,7)
CD4+CCR5+ Т-хелперы (%)	1,62 (0,63-3,8)	3,18 (2,26-5,83)
CD4+CCR5+ Т-хелперы кл/мкл	18,58 (8,52-32,6)*	55,67 (43,65-85,43)

Примечания –

1) *– p<0,05 , тест Манна-Уитни;

2) ИКР – интерквартильный размах

Как отражено в таблице 4, при инфекции не R5-тр ВИЧ у пациентов с наличием СПИДа по сравнению с пациентами без СПИДа установлено значительное усиление процессов активации Т-клеточного иммунитета за счет повышения интенсивности экспрессии HLA-DR лимфоцитами крови, Т-лимфоцитами, Т-хелперами, увеличения интенсивности экспрессии HLA-DR Т-хелперами, экспрессии HLA-DR Т-цитотоксическими лимфоцитами, снижения содержания регуляторных CD4+CD25+Т-лимфоцитов, CD4+CCR5+Т-хелперов и снижения экспрессии CXCR4+ лимфоцитами крови. У пациентов с не R5-тр ВИЧ при СПИДе отмечено также значительное снижение содержания: Т-хелперов (CD3+CD4+) (медиана, ИКР), кл/мкл – 128(79-271) и 388 (328,9-560,9), соответственно, $p < 0,05$; ИРИ – 0,3 (0,08-0,4) и 0,44 (0,36-1,01), соответственно, $p < 0,05$.

Взаимосвязь иммунологических показателей ВИЧ-инфицированных пациентов при разном тропизме вируса с полиморфизмом генов цитокинов TNF-альфа (G-308A) и IL-2 (T330G). Отмечено соответствие наблюдаемого распределения генотипов для изученных вариантов генов распределению, ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. Доминирующим генотипом TNF- α (G-308A) было гомозиготное носительство GG, частота встречаемости которого в группах пациентов с разным тропизмом вируса оказалась примерно одинаковой, составив 66,7 и 77,6%, соответственно, $p > 0,05$. Частота носительства аллели G гена TNF- α (G-308A) во всей исследуемой группе составила 0,87; аллели A – 0,13. В обеих группах отсутствовал гомозиготный вариант генотипа AA. В группе пациентов с не R5-тр типом вируса отмечены достоверные различия (тест Манна-Уитни) при сравнении пациентов с гетерозиготным вариантом генотипа GA TNF- α (G-308A) и с гомозиготным вариантом генотипа GG в содержании CD4+Т-лимфоцитов хелперов (%): 24,4 (22,0-31,0) и 16,7 (6,4-25,5), соответственно, $p = 0,047$; CXCR4+клеток (кл/мкл): 157,0 (93,0-258,0) и 51,0 (14,5-166,0), соответственно, $p = 0,034$.

Установлено, что у пациентов без учета тропизма ВИЧ, имеющих G аллель (генотипы GG и GT) гена IL-2 (T330G) по сравнению с пациентами с генотипом TT имело место более высокое содержание CD8+HLA-DR+ активированных Т-цитотоксических лимфоцитов (кл/мкл) (тест Манна-Уитни): 764,0 (563,0-698,0) и 412,9 (237,7-632,4) кл/мкл, соответственно, $p = 0,032$. У пациентов, инфицированных не R5-тр вариантом ВИЧ, носительство аллели T (генотипы TT и GT) имело прямую достоверную корреляцию с показателем FPR более 10%: $R = 0,56$, $p < 0,003$, что свидетельствует о благоприятном влиянии носительства аллели T у данных пациентов.

Клинико-лабораторные проявления, исходы ВИЧ-инфекции и ответ на АРТ в зависимости от тропизма вируса. Распределение по клиническим стадиям ВИЧ-инфекции (классификация ВОЗ, 2012) пациентов 1-й и 2-й групп

было следующим: 1-я стадия заболевания – 31 (49,2%) и 18 (51,4%) пациентов, 2-я стадия – 8 (12,7%) и 4 (11,4%), 3-я стадия – 19 (30,2%) и 8 (22,8%), 4-я стадия – 5 (7,9%) и 5 (14,2%) пациентов, соответственно ($p>0,05$). СПИД диагностирован у 19 (30,2%) пациентов 1-й группы и у 13 (37,1%) – 2-й группы, $p>0,05$. Наиболее распространенной оппортунистической инфекцией (ОИ) в группах наблюдения был орофарингеальный кандидоз – 17 (26,9%) пациентов в 1-й группе и 10 (28,6%) – во 2-й, $p>0,05$. На втором месте был туберкулез:

13 (20,6%) в 1-й группе и 8 (22,8%) – во 2-й, $p>0,05$. Количество пациентов, у которых выделены антитела к ВГС составило: 29 (46%) пациентов в 1-й группе и 18 (51,4%) – во 2-й, $p>0,05$.

Установлено достоверное различие в уровне показателя FPR в группах на одинаковых стадиях ВИЧ-инфекции, что обосновывает включение данных пациентов в группы разного тропизма вируса, несмотря на одинаковые клинические стадии заболевания (таблица 5).

Таблица 5. – Показатели FPR (%) у пациентов на разных стадиях ВИЧ-инфекции

Клиническая стадия ВИЧ-инфекции**	1-я группа R5Tr, n=63		2-я группа He R5Tr, n=35	
	FPR, Ме	Min-max	FPR, Ме	Min-max
1-я	45,6	21,2-98,9	9,3*	1,3-18,3
2-я	49,6	21,2-74,3	14,3*	13,8-19,1
3-я	41,6	23,4-94,1	8,4*	3,2-15,8
4-я	64,4	55,5-78,7	16,5*	5,3-19,4
СПИД	45,9	21,2-98,9	14,1*	1,2-19,4

Примечания –

1) * – $p<0,05$ при сравнении групп, Тест Манна-Уитни;

2) ** – классификация ВОЗ, 2012

Таким образом, представленные в таблице 5 данные свидетельствуют об отсутствии связи между клиническими проявлениями заболевания и характером тропизма вируса, что подчеркивает необходимость обязательного лабораторного исследования для установления характера тропизма ВИЧ в каждом конкретном случае.

АРТ была назначена 41 (65%) пациенту 1-й группы и 21 (60%) – 2-й группы ($p>0,05$). Комбинации из двух нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) и одного ненуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы (ННИОТ) были у 32 (78%) пациентов 1-й группы и у 13 (62%) – во 2-й группе. Схемы с ингибитором протеазы (ИП) – лопинавиром/ритонавиром – были у 9 (22%) пациентов 1-й группы и у 8 (38%) – 2-й группы. У большинства

пациентов обеих групп продолжительность лечения составляла от 1 года до 5 лет: у 31 (75,6%) пациента в 1-й группе и у 11 (52,3%) – во 2-й группе. Продолжительность АРТ в целом в группах не различалась достоверно: в 1-й группе она составляла: Me (ИКР) – 2,5 (0-11) года, во 2-й – 1,3 (0-8) года. Не установлено достоверных различий в частоте замен АРВ-ЛС в схемах лечения, а также в частоте вирусологического ответа (ВО) и иммунологического ответа (ИО) в зависимости от тропизма ВИЧ. Частота летальных исходов у пациентов в 1-й и 2-й группах наблюдения в целом не различалась достоверно – 12,6 и 17,1% ($p > 0,05$). Среди пациентов обеих групп, не получавших АРТ, частота летальных исходов была достоверно выше у инфицированных не R5-тр ВИЧ (42,8%) по сравнению с пациентами без АРТ, инфицированными R5-тр ВИЧ (13,6%, $p < 0,05$).

При анализе частоты и причин замен АРВ-ЛС у 434 пациентов установлено, что однократные замены имелись у 16,4% ($n=71$) [95% ДИ: 12,41-21,27] пациентов, двукратные – у 8,5% ($n=37$) [95% ДИ: 5,74-12,49], 3 раза и более – у 1,6% ($n=7$) [95% ДИ: 0,65-3,95]. У пациентов, получающих АРТ более 3 лет ($n=196$), частота замены АРВ-ЛС достигала 49,5% [95% ДИ: 40,72-58,29]. Однократная замена АРВ-ЛС среди них составила 28,6% [95% ДИ: 21,27-37,19], двукратные замены – 17,3% [95% ДИ: 11,63-25,08], три и более раз – 3,6% случаев [95% ДИ: 1,44-8,56]. Причины замен АРВ-ЛС в схемах АРТ были связаны с вирусологической и иммунологической неэффективностью АРТ в 11,7% [95% ДИ: 8,42-16,16] случаев, нежелательными явлениями на АРВ-ЛС – 10,1% [95% ДИ: 7,07-14,34], коррекция схемы в связи с беременностью и наличием сопутствующей патологии – в 2,1% [95% ДИ: 0,93-4,58] случаев, другие причины (коррекция схемы для упрощения режима приема АРТ, отказ от приема и др.) – 8,2% [95% ДИ: 5,65-12,12]. Нами была построена модель, в рамках которой максимальная длительность лечения до смены лекарственных средств (t) в среднем является функцией количества смен следующего вида: $t(x) = \exp(6,1 + 0,5 \cdot x) \cdot 12/365$, где x – порядковый номер смены АРВ-ЛС. Таким образом, на основании предложенной модели можно прогнозировать, что 1-я замена АРВ-ЛС наступает через (Me) 17,1 [95% ДИ: 11,6-22,1] месяца от начала АРТ, вторая замена – через 28,8 [95% ДИ: 27,0-48,2] месяца, 3-я – через 60,6 месяца, 4-я – через 98,1 месяца. Это обосновывает необходимость постепенного внедрения в клиническую практику новых групп АРВ-ЛС, которые не имеют перекрестной резистентности с длительно используемыми лекарственными средствами. Расчетное количество пациентов, инфицированных R5-тропным ВИЧ, потенциальных кандидатов для назначения антагонистов CCR5 на 01.01.2018 г. в Гродненской области составило 542 [95% ДИ: 459-616].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Среди ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории Гродненской области Республики Беларусь, частота встречаемости пациентов, инфицированных R5-тр ВИЧ, составила 64,3% [95% ДИ: 54,4-73,1], инфицированных не R5-тр ВИЧ – 35,7% [95% ДИ: 26,9-45,6]. Субтип А ВИЧ-1 по региону гена env установлен у 91 (96,8%) пациента, субтип В – у 3 (3,2%). Не обнаружено зависимости между характером кластеризации нуклеотидных последовательностей участка V3 петли gp120 гена env ВИЧ-1 на филогенетическом дереве и их тропизмом. Выявлена высокая схожесть нуклеотидных последовательностей V3 петли gp120 гена env ВИЧ-1 с последовательностями ВИЧ-1, полученными ранее на территории России, Беларуси и Украины и депонированными в базу данных Национальной лаборатории Лос-Аламоса [1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 20, 21, 24, 28, 32].

2. У пациентов, инфицированных R5-тр ВИЧ, не получающих АРТ, имела место более выраженная экспрессия HLA-DR Т-лимфоцитами, Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами при сравнении с инфицированными не R5-тр ВИЧ. У пациентов, инфицированных R5-тр ВИЧ, при наличии СПИДа установлено значительное снижение содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, активированных Т-хелперов по сравнению с пациентами без СПИДа. У пациентов, инфицированных не R5-тр ВИЧ, при наличии СПИД, наряду со снижением Т-хелперов и ИРИ, установлено усиление интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, а также значительное повышение экспрессии HLA-DR лимфоцитами крови, Т-лимфоцитами, увеличение экспрессии HLA-DR CD8+Т-лимфоцитами, снижение экспрессии CXCR4 лимфоцитами крови и экспрессии CCR5 Т-хелперами, снижение содержания CD4+CD25+Т-лимфоцитов по сравнению с пациентами без СПИДа ($p < 0,05$) [1, 3, 7, 9, 18, 21, 23, 26, 28, 29].

3. У пациентов с наличием не R5-тр варианта ВИЧ генетическими предикторами благоприятного течения были: генотип GA TNF- α (G-308A) и носительство аллели T гена IL-2 (T330G). Генотип GA TNF- α (G-308A) ассоциировался с более высоким содержанием CD4+Т-лимфоцитов: 24,4 (22-31) и 16,7 (6,4-25,5), соответственно, $p = 0,047$, и более выраженной экспрессией CXCR4+на лимфоцитах крови: 157 (93-258) и 51 (14,5-166), соответственно, $p = 0,034$. Носительство аллели T гена IL-2 (T330G) имело прямую достоверную корреляцию с показателем FPR более 10%: $R = 0,56$, $p < 0,003$. Носительство аллели G (генотипы GG и GT) гена IL-2 (T330G) у ВИЧ-инфицированных пациентов без учета тропизма ассоциировалось с более высоким содержанием

CD8+HLA-DR+ активированных Т-цитотоксических лимфоцитов: 764 (563-698) и 412,9 (237,7-632,4) кл/мкл, соответственно, $p=0,032$ [1,9].

4. Клинические проявления ВИЧ-инфекции не отражают характер тропизма ВИЧ, так как не выявлены различия в группах пациентов, инфицированных ВИЧ с разным тропизмом в частоте стадий ВИЧ-инфекции, оппортунистических инфекций. Так, у пациентов с R5-тр и не R5-тр ВИЧ частота 1-й стадии составила 49,2 и 51,4%, 2-й стадии – 12,7 и 11,4%, 3-й стадии – 30,2 и 22,8%, 4-й стадии – 7,9 и 14,2%, соответственно ($p>0,05$). Наличие у пациента не R5-тр варианта вируса позволяет прогнозировать неблагоприятное течение ВИЧ-инфекции, так как отсутствие АРТ у таких пациентов ассоциируется с высокой частотой летальных исходов (42,8%,) по сравнению с пациентами, инфицированными R5-тр ВИЧ (13,6%, $p<0,05$) [1, 2, 3, 5, 8, 10, 16, 17, 19, 25, 27, 29, 30, 31, 33, 34].

5. Частота замены лекарственных средств в схемах АРТ у пациентов, находящихся на лечении более трех лет, составила 49,5% [95% ДИ: 40,72-58,29]. Прогнозируется, что 1-я смена АРВ-ЛС наступает через 17,1 [95% ДИ: 11,6-22,1] месяца от начала АРТ у 16,4% [95% ДИ: 12,41-21,27], вторая смена – через 28,8 [95% ДИ: 27,0-48,2] месяца у 8,5% [95% ДИ: 5,74-12,49], 3-я – через 60,6 месяца у 1,6% [95% ДИ: 0,65-3,95] пациентов, получающих лечение. Замены лекарственных средств в схемах АРТ были связаны с вирусологической и иммунологической неэффективностью АРТ в 11,7 % [95% ДИ: 8,42-16,16] случаев, нежелательными явлениями на АРВ-ЛС – 10,1% [95% ДИ: 7,07-14,34], коррекция схемы в связи с беременностью и наличием сопутствующей патологии – в 2,1% [95% ДИ: 0,93-4,58] случаев, другие причины (коррекция схемы для упрощения режима приема АРТ, отказ от приема и др.) – 8,2% [95% ДИ: 5,65-12,12]. Необходимо постепенное внедрение в клиническую практику новых групп АРВ-ЛС, которые не имеют перекрестной резистентности с длительно используемыми АРВ-ЛС. Расчетное количество пациентов, инфицированных R5-тр ВИЧ, потенциальных кандидатов для назначения антагониста ССR5 на 01.01.2018 г. в Гродненской области составило 542 [95% ДИ: 459-616] [8, 10, 15, 22].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработан метод оценки факторов риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции, основанный на определении тропизма ВИЧ и при установлении не R5-тропного варианта вируса у пациентов, не получающих АРТ, прогнозируется высокий риск наступления летального исхода [8, 33, 34].

2. Монография «Тропизм ВИЧ-1: клинико-эпидемиологические, иммунологические, генетические аспекты» (2018), дополняет существующую информационную базу по ВИЧ-инфекции при подготовке специалистов, получающих высшее медицинское образование и проходящих последипломную подготовку [1].

Список публикаций автора

Монографии

1. Матиевская, Н. В. Тропизм ВИЧ-1: Клинико-эпидемиологические, иммунологические, генетические аспекты: монография / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова – Гродно: ГрГМУ, 2018. – 140 с.

Статьи в рецензируемых журналах

2. Клинико-иммунологические и эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ-1 / Н. В. Матиевская, Д. Е. Киреев, М. Ю. Дмитриюкова, И. О. Токунова, И. А. Кондратович // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2015. – Т. 7, № 1. – С. 52-59.

3. Матиевская, Н. В. Сравнительный анализ клинико-лабораторных проявлений ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, П. В. Малышева // Мед. панорама. – 2015. – № 7. – С. 3-6.

4. Матиевская, Н. В. Методы определения тропизма ВИЧ-1: современное состояние вопроса / Н. В. Матиевская, Д. Е. Киреев, И. О. Токунова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 26-38.

5. Токунова, И. О. Клинико-лабораторные особенности ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса / И. О. Токунова, Н. В. Матиевская // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2016. – №3(55). – С. 75-78.

6. Матиевская, Н.В. Определение тропизма и субтипов ВИЧ по нуклеотидной последовательности петли V3 белка gp 120 гена env ВИЧ-1 / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Здоровоохранение. – 2017. – № 1. – С. 4-8.

7. Изменение показателей клеточного иммунитета и экспрессии CCR5, CXCR4 у ВИЧ-инфицированных пациентов при формировании СПИД в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская, А. Е. Гончаров, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 2. – С. 61-70.

8. Токунова, И. О. Эффективность антиретровирусной терапии в зависимости от тропизма вируса / И. О. Токунова, Н. В. Матиевская // Журн. ГрГМУ. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 333-337.

9. Ассоциация полиморфизма генов цитокинов TNF-альфа (G-308A) и IL-2 (T330G) с иммунологическими показателями ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская,

И. О. Токунова, А. Е. Гончаров, Т. Л. Степура, А. К. Стасюкевич // Клиническая инфектология и паразитология. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 445-453.

10. Частота, причины и прогноз замен антиретровирусных препаратов в схемах терапии при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов // Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Т. И. Кашевник, А. В. Капыцкий, Л. М. Казыро // Клиническая инфектология и паразитология. – 2018. – Т. 7, № 1. – С. 96-107.

Статьи в материалах конференций

11. Тропизм ВИЧ-1 к CCR5 и CXCR4 / И. О. Токунова, И. А. Кондратович, Н. В. Матиевская, М. Л. Дмитриюкова // Современные достижения молодых учёных в медицине : материалы Респ. науч.-практ. конф. молодых учёных, [Гродно], (20 ноября 2014 г.) / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – С. 205-207.

12. Матиевская, Н. В. Характер тропизма ВИЧ-1 у ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в Гродненском регионе Республики Беларусь / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Общие угрозы – совместные действия. Ответ государств БРИКС на вызовы опасных инфекционных болезней : материалы междунар. конф., 23-24 июня 2015 г. / под ред. А. Ю. Поповой. – Москва, 2015. – С. 263-266.

13. Молекулярная эпидемиология ВИЧ-1 в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев, М. Ю. Дмитриюкова, И. А. Кондратович // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., г. Гродно, 27 янв. 2015 г. : в 2 ч. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – Ч. 2. – С. 28-30.

14. Особенности экспрессии маркеров активации и торможения иммунитета при ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев, М. Ю. Дмитриюкова, И. А. Кондратович // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., г. Гродно, 27 янв. 2015 г. : в 2 ч. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – Ч. 2. – С. 26-28.

15. Обоснование внедрения антагониста CCR5 в схемы антиретровирусной терапии / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, И. А. Кондратович, Б. Валиев // Современные достижения молодых ученых в медицине : сб. материалов II Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 27 нояб. 2015 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – С. 196-198.

16. Токунова, И. О. Клинические особенности ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ-1 / И. О. Токунова // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., г. Гродно, 27 янв. 2015 г. : в 2 ч. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – Ч. 2. – С. 250-252.

17. Токунова, И. О. Особенности туберкулеза у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса / И. О. Токунова, Н. В. Матиевская, П. В. Малышева // ВИЧ-ассоциированный туберкулез: эпидемиологические, клинические и социальные аспекты : материалы междунар. науч.-практ. конф., (г. Гродно, 29-30 окт. 2015 г.) / РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии, Гродн. гос. мед. ун-т, Белорус. респиратор. о-во [редкол.: Г. Л. Гуревич (пред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – С. 77-79.

18. Экспрессия HLA-DR на Т-лимфоцитах ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса / И. О. Токунова, Н. В. Матиевская, Д. Е. Киреев, М. Ю. Дмитриюкова, А. Е. Гончаров // Приоритетные направления диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний : сб. тез. 2 съезда инфекционистов Узбекистана, 4-6 нояб. 2015 г. – Ташкент, 2015. – С. 96-97.

19. Токунова, И. О. Частота оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса / И. О. Токунова, П. В. Малышева // Материалы конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Ю. Г. Бойко [г. Гродно], 23-24 апр. 2015 г. [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО «ГрГМУ», Каф. патол. анатомии, СНО, Совет молодых ученых; редкол.: В. А. Снежицкий [и др.]. – Электрон. текстовые данные. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – С. 595-596. – 1 эл. опт. диск.

20. Тропизм ВИЧ субтипа А на разных стадиях ВИЧ-инфекции / Н. В. Матиевская, М. Ю. Дмитриюкова И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Республиканская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-летию медико-профилактического факультета: сб. науч. тр. / Белорус. гос. мед. ун-т; редкол. : А. В. Сикорский [и др.]. – Минск: БГМУ, 2015. – С. 280-288.

21. Expression of HLA-DR on T lymphocytes in HIV-positive patients in dependence of HIV-1 tropism / N. V. Matsiyeuskaya, D. E. Kireev, M. Y. Dmitryukova, I. O. Tokunova // 28th International Conference on Antiviral Research (ICAR): program and abstr., May 11th. – Rome, 2015. – P. 137.

22. Давыдовский, Н. Н. Эффективность антиретровирусной терапии в зависимости от тропизма ВИЧ / Н. Н. Давыдовский, И. О. Токунова, И. А. Кондратович // Сборник материалов конференции студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения А. З. Нечипоренко,

21-22 апр. 2016 г. [Электронный ресурс] / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Электрон. текстовые данные. – Гродно: ГрГМУ, 2016. – Гродно: ГрГМУ, 2016. – С. 170. – 1 эл. опт. диск.

23. Expression of CCR5 and CXCR4 on CD +4 T-Lymphocytes in HIV-Positive Patients in Dependence on HIV-1 Subtype A Tropism / N. V. Matsiyevskaya, I. O. Tokunova, D. E. Kireev, A. E. Hancharou // 29th International Conference on Antiviral Research (ICAR): program and abstr., April 17. – La Jolla, 2016. – P. 85.

24. Матиевская, Н. В. Определение субтипов и тропизма ВИЧ по результатам секвенирования фрагмента гена *env* / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Актуальные проблемы медицины [Электронный ресурс] : материалы ежегод. науч.-практ. конф., [г. Гродно], 28-29 янв. 2016 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (6, 65 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2016. – С. 379-381. – 1 эл. опт. диск (CD-ROM).

25. Матиевская, Н. В. Результаты определения тропизма ВИЧ генотипическим методом / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова // Дни лабораторной медицины [Электронный ресурс] : сб. материалов Респ. науч.-практ. конф., 5 мая 2016 г., [г. Гродно / редкол.: Воробьев В. В. (отв. ред.), Ляликов С. А.]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (1, 18 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2016. – С. 67-68. – 1 эл. опт. диск.

26. Показатели клеточного иммунитета и экспрессии CCR5, CXCR4 у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, А. Е. Гончаров // Актуальные проблемы медицины [Электронный ресурс] : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., 26-27 янв. 2017 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, Н. М. Курбат]. – Электрон. текстовые дан. (8, 5 Мб). – Гродно: ГрГМУ, 2017. – Гродно: ГрГМУ, 2017. – С. 618-622. – 1 эл. опт. диск.

27. Токунова, И. О. Показания для приоритетного назначения антиретровирусной терапии ВИЧ-инфицированному пациенту на основании характера тропизма ВИЧ: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 55-летию каф. инфекц. болезней УО «ГрГМУ», Гродно, 27 окт. 2017 г. / И. О. Токунова // Клин. инфектология и паразитология. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 580-581.

Статьи в научных сборниках

28. Экспрессия CCR5 и CXCR4 иммунокомпетентными клетками при ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская, А. Е. Гончаров, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. ст. / РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. – Минск : ГУ РНМБ, 2015. – Вып. № 8. – С. 199-201.

Тезисы докладов

29. Dzemjanchuk, С. Clinical and immunological features of HIV infection in dependence on HIV-1 tropism / С. Dzemjanchuk, I. Tokunova, P. Malysheva // 10th Bialystok International medical congress for young scientists: book of abstr., May 14-16th 2015 / [red.: M. Łukasik, K. Cicha]. – Bialystok, 2015. – S. 219.

30. Davydouski, M. Evaluating the effectiveness of antiretroviral therapy and need for introduction new groups / M. Davydouski, I. Tokunova, I. Kondratovich // 11th Bialystok International medical congress for young scientists: book of abstr., May 5-7 2016. – Bialystok, 2016. – S. 92.

31. Matsiyeuskaya, N. V. Lipodystrophy in HIV/HCV coinfecting patient (casereport) / N. V. Matsiyeuskaya, I. O. Tokunova, V. S. Golyshko // 1st International Workshop on Healthy Living with HIV: abstr., Barcelona, Spain, Sept. 2-3. – Barcelona, 2016. – P. 27.

32. Matsiyeuskaya, N. V. HIV-1 Tropism in Patients Living in Grodno Region of Belarus / N. V. Matsiyeuskaya, I. O. Tokunova, D. E. Kireev // Abstracts of the 30th International Conference on Antiviral Research (ICAR). – Atlanta, 2017. – P. 56.

Инструкции по применению

33. Метод прогнозирования неблагоприятного течения ВИЧ-инфекции: инструкция по применению № 001-0118: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 16 марта 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Учреждение-разработчик УО «Гродн. гос. мед. ун-т», РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; сост.: Н. В. Матиевская, А. Е. Гончаров, И. О. Токунова. – Гродно: ГрГМУ, 2018. – 4 с.

Заявка на патент

34. Способ определения показаний для приоритетного назначения антиретровирусной терапии ВИЧ-инфицированному пациенту: положительный результат предварительной экспертизы от 24.08.2017 г., заявка на изобретение № а20170259 от 10.07.2017/ Н. В. Матиевская, И. О. Токунова. МПК G 01N 33/48.



Такунова Ірына Алегаўна

Клініка-эпідэміялагічныя і імуналагічныя асаблівасці працяга ВІЧ-інфекцыі ў залежнасці ад трапізму віруса

Ключавыя словы: ВІЧ-інфекцыя, хемакінавыя рэцэптары CCR5 і CXCR4, трапізм, імуналогія, антырэтравірусныя лекавыя сродкі, палімарфізм гена, ген TNF α , ген IL-2, СНІД.

Мэта даследавання: высветліць малекулярна-эпідэміялагічныя, клінічныя і імуналагічныя асаблівасці, зыходы ВІЧ-інфекцыі ў залежнасці ад трапізму віруса.

Метады даследавання: агульнаклінічныя, малекулярна-генетычныя, імуналагічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У групе даследвання частата сустракаемасці пацыентаў, інфіцыраваных R5-тропным (R5-тр) ВІЧ, склала 64,3% [95% ДІ: 54,4-73,1], не R5-тр ВІЧ – 35,7% [95% ДІ: 26,9-45,6]. У 91 (96,8%) пацыента ўсталяваны субтып А ВІЧ-1, у 3 (3,2%) – субтып В па рэгіёну гена env. Паказана, што развіццё СНІДа пры інфекцыі не R5-тр ВІЧ асацыявалася разам са зніжэннем Т-хелпераў і імунарэгуляторнага індэксу, значным узмацненнем інтэнсіўнасці экспрэсіі HLA-DR на Т-хелперах, павышэннем экспрэсіі HLA-DR на лімфацытах крыві, Т-лімфацытах, павелічэннем экспрэсіі HLA-DR на CD8 + Т-лімфацытах, зніжэннем экспрэсіі CXCR4 + на лімфацытах крыві, CCR5 + на Т-хелперах. У пацыентаў з не R5-тр ВІЧ генетычнымі спрыяльнымі прэдыктарамі былі: наяўнасць генатыпу GA TNF- α (G-308A) і алелі Т гена IL-2 (T330G).

Распрацаваны метады прагназавання неспрыяльнага працяга ВІЧ-інфекцыі па выніках вызначэння трапізму віруса, пры ўсталяванні не R5-тропнага варыянту віруса ў пацыентаў, якія не атрымліваюць антырэтравіруснае лячэнне, прагназуецца высокая рызыка наступлення смяротнага зыходу. Выкананы аналіз частаты, прычын і прагноз замены антырэтравірусных лекавых сродкаў у схемах лячэння, абгрунтавана неабходнасць паступовага ўвядзення новых груп антырэтравірусных лекавых сродкаў для лячэння ВІЧ-інфекцыі.

Выкарыстанне вынікаў: распрацавана і ўкаранёна ў практыку аховы здароўя насельніцтва інструкцыя па ўжыванні «Метады прагназавання неспрыяльнага зыходу ВІЧ-інфекцыі».

Вобласць ужывання: інфекцыйныя хваробы, эпідэміялогія, лабараторная дыягностыка, вірусалогія, імуналогія, клінічная фармакалогія.

РЕЗЮМЕ**Токунова Ирина Олеговна****Клинико-эпидемиологические и иммунологические особенности течения ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма вируса**

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, хемокиновые рецепторы CCR5 и CXCR4, тропизм, иммунология, антиретровирусные лекарственные средства, полиморфизм гена, ген TNF alpha, ген IL-2, СПИД.

Цель исследования: установить молекулярно-эпидемиологические, клинические и иммунологические особенности, исходы ВИЧ-инфекции, в зависимости от тропизма вируса.

Методы исследования: общеклинический, молекулярно-генетический, иммунологический, статистический.

Полученные результаты и их новизна. В группе исследования частота встречаемости пациентов, инфицированных R5-тр ВИЧ, составила 64,3% [95% ДИ: 54,4-73,1], не R5-тр ВИЧ – 35,7% [95% ДИ: 26,9-45,6]. У 91 (96,8%) пациента установлен субтип А ВИЧ-1, у 3 (3,2%) – субтип В по региону гена env. Показано, что развитие СПИДа при инфекции не R5-тр ВИЧ наряду со снижением Т-хелперов и ИРИ установлено усиление интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, значительное повышение экспрессии HLA-DR на лимфоцитах крови, Т-лимфоцитах, увеличение экспрессии HLA-DR на CD8+Т-лимфоцитах, снижение экспрессии CXCR4+ на лимфоцитах крови, CCR5+ на Т-хелперах. У пациентов с не R5-тр ВИЧ генетическими предикторами благоприятного течения были: наличие генотипа GA TNF- α (G-308A) и носительство аллели Т гена IL-2 (T330G).

Разработан метод прогнозирования неблагоприятного течения ВИЧ-инфекции по результатам определения тропизма вируса, при установлении не R5-тропного варианта вируса у пациентов, не получающих АРТ, прогнозируется высокий риск наступления летального исхода. Выполнен анализ частоты, причин и прогноз замены антиретровирусных лекарственных средств в схемах лечения, обоснована необходимость постепенного введения новых групп антиретровирусных лекарственных средств для лечения ВИЧ-инфекции.

Использование результатов: разработана и внедрена в практическое здравоохранение инструкция по применению «Метод прогнозирования неблагоприятного течения ВИЧ-инфекции».

Область применения: инфекционные болезни, эпидемиология, лабораторная диагностика, вирусология, иммунология, клиническая фармакология.

SUMMARY**Tokunova Iryna Olegovna****Clinical, epidemiological and immunological features of the course of HIV infection depending on the tropism of the virus**

Key words: HIV infection, chemokine receptors CCR5 and CXCR4, tropism, immunology, antiretroviral drugs, gene's polymorphism, gene TNF alpha, gene IL-2, AIDS.

Aim of study: to specify the molecular epidemiological, clinical and immunological features, outcomes of HIV-infection depending on the tropism of the virus.

Methods: clinical, molecular-genetic, immunological, statistical.

The obtained results and their novelty. In the study group the incidence of patients infected with R5-tropic (R5-tr) HIV was 64.3% [95% ДИ: 54,4-73,1], with nonR5-tr HIV – 35,7% [95% CI: 26,9-45,6]. For 91 (96,8%) patients subtype A of HIV-1 was specified, for 3 (3,2%) - subtype B in the region of the env gene. It is shown that the development of AIDS during infection with non-R5-tr HIV is associated with a decrease in T-helper and an immunoregulatory balance, an increase in the intensity of HLA-DR expression on T-helpers, a significant increase in HLA-DR expression on lymphocytes, T-lymphocytes, and an increase in HLA-DR expression on CD8 + T-lymphocytes, decreased expression of CXCR4 + on blood lymphocytes, CCR5 + on T-helpers. For patients with non-R5-tr HIV, genetic predictors of a positive course were: the presence of the GA TNF- α genotype (G-308A) and the carriage of the T allele of the IL-2 gene (T330G).

A method was developed for predicting the adverse course of HIV infection basing on the results of determining the virus tropism. When a non-R5 tropic variant of the virus is detected for patients who do not receive ART, a high risk of death is predicted. The analysis of the frequency, causes and prognosis of antiretroviral drugs replacement in treatment regimens is carried out, the necessity of the gradual introduction of new groups of antiretroviral drugs for the treatment of HIV infection is justified.

Use of results: the instruction on the use of the “Method for predicting the adverse course of HIV infection” was developed and introduced into practical healthcare.

Area of application: infectious diseases, epidemiology, laboratory diagnostics, virology, immunology, clinical pharmacology.

ТОКУНОВА
Ирина Олеговна

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ
ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТРОПИЗМА ВИРУСА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Подписано в печать 26.12.2018.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 1,62. Уч.-изд. л. 1,44. Тираж 60 экз. Заказ 249.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.

