

AIDS

www.aidsonline.com

EDITORS

Jay A Levy (Editor-in-Chief, *San Francisco*)

Brigitte Autran (*Paris*)

Roel A Coutinho (*Amsterdam*)

John P Phair (*Chicago*)

EDITORIAL BOARD

JP Allain, *Cambridge* (2010)

P Aggleton, *London* (2008)

J Angel, *Ottawa* (2010)

AA Ansari, *Atlanta* (2009)

A Bloom, *New York* (2010)

T Boerma, *Geneva* (2009)

M Bulterys, *Atlanta* (2008)

H Burger, *Albany* (2010)

S Butera, *Atlanta* (2009)

A Buvé, *Antwerp* (2008)

A Carr, *Sydney* (2010)

M Carrington, *Bethesda* (2008)

H Coovadia, *Natal* (2008)

A Cossarizza, *Modena* (2010)

D Costagliola, *Paris* (2008)

E Daar, *Los Angeles* (2008)

F Dabis, *Bordeaux* (2009)

E Delwart, *San Francisco* (2009)

T Folks, *Atlanta* (2009)

A Fontanet, *Paris* (2008)

M French, *Perth* (2010)

A Ghani, *London* (2009)

J Glynn, *London* (2010)

F Gotch, *London* (2009)

R Gray, *Baltimore* (2009)

A Greenberg, *Atlanta* (2010)

S Gregson, *London* (2008)

S Grinspoon, *Boston* (2009)

A Grulich, *Sydney* (2009)

D Havlir, *San Francisco* (2008)

NA Hessol, *San Francisco* (2009)

JP Ioannidis, *Ioannina* (2010)

C Katlama, *Paris* (2009)

D Katz, *London* (2008)

D Katzenstein, *Stanford* (2009)

S Kippax, *Sydney* (2008)

A Landay, *Chicago* (2010)

J Lundgren, *Hvidovre* (2009)

W McFarland, *San Francisco* (2010)

D Margolis, *Chapel Hill* (2009)

J-P Moatti, *Marseille* (2008)

J Montaner, *Vancouver* (2010)

M-L Newell, *London* (2009)

G Pantaleo, *Lausanne* (2008)

M Peeters, *Montpellier* (2009)

D Pieniazek, *Atlanta* (2009)

G Poli, *Milan* (2008)

B Polsky, *New York* (2009)

M Prins, *Amsterdam* (2008)

B Richardson, *Seattle* (2009)

D Richman, *La Jolla* (2010)

CA Rietmeijer, *Denver* (2010)

Y Rivière, *Paris* (2009)

S Rowland-Jones, *Oxford* (2008)

C Sabin, *London* (2010)

E Sandstrom, *Stockholm* (2010)

H Schuitemaker, *Amsterdam* (2008)

Y Shao, *Beijing* (2008)

P Shapshak, *Tampa* (2010)

V Soriano, *Madrid* (2009)

S Spector, *La Jolla* (2008)

S Strathdee, *La Jolla* (2008)

M Tardieu, *Paris* (2008)

P van de Perre, *Montpellier* (2009)

C van der Horst, *Chapel Hill* (2009)

D Winslow, *San Jose* (2010)

D Wolday, *Addis Ababa* (2008)

Statistical advisers:

L Bansi (Royal Free and University College Medical School, London), VT Farewell (University College London, London), A Cozzi Lepri, R Lodwick, A Mocroft, J Reekie, C Sabin, C Smith, Z Fox, W Bannister (Royal Free and University College Medical School, London).

AIMS AND SCOPE

AIDS publishes papers reporting original scientific, clinical, epidemiological, and social research which are of a high standard and contribute to the overall knowledge of the field of the acquired immune deficiency syndrome. The Journal publishes Original Papers, Concise Communications, Research Letters and Correspondence, as well as invited Editorial Reviews and Editorial Comments.

 Lippincott
Williams & Wilkins
a Wolters Kluwer business

AIDS

AIDS (ISSN 0269-9370) is published at 16522 Hunters Green Parkway, Hagerstown, MD 21740. Business offices are located at 530 Walnut Street, Philadelphia, PA 19106-3621. Correspondence should be addressed to the production office: *AIDS*, 250 Waterloo Road, London SE1 8RD, UK.

Publishing Editor: Phil Daly (Phil.Daly@wolterskluwer.com)

Production Editor: Ranadi Johnston
(Ranadi.Johnston@wolterskluwer.com)

Supplements and Special Projects Manager: Bridie Selley
(bridie.selley@wolterskluwer.com)

Submission of manuscripts: Papers should be submitted online at www.editorialmanager.com/aids, where full instructions can be found. Any enquiries regarding the submission process should be directed to Chris Mowat, Editorial Co-ordinator, e-mail: chris.mowat@wolterskluwer.com

Advertising: For further information contact Christopher Ploppert, Tel: +1 215 521 8570; Fax: +1 215 521 8411; e-mail: Christopher.Ploppert@wolterskluwer.com (USA and Canada) or Dick Bower, The Point of Difference Ltd. Tel: +44 (0)20 8542 3200; Fax: +44 (0)20 8543 3810; e-mail: pointofdiff@btinternet.com (rest of world).

This journal accepts advertising and publishes supplements on behalf of academic and corporate sponsors. Supplements are normally supplied to subscribers at no extra charge (enquiries should be directed to e-mail: supplements@pharma.wkhealth.com). Article offprints can be ordered by authors (prices are available from the Offprints Administrator, e-mail: offprint@lww.co.uk) or larger quantities of reprints can be ordered to meet corporate requirements (enquiries should be directed to Christopher Bassett, e-mail: Christopher.Bassett@wolterskluwer.com).

Author guidelines: The guidelines are available in the January issue of the journal and the journal's web site at www.aidsonline.com

Address for subscription information, orders, or change of address: (except Japan, India, Bangladesh, Sri Lanka, Nepal and Pakistan) Lippincott, Williams & Wilkins, 16522 Hunters Green Parkway, Hagerstown, MD 21740; call +1 301 223 2300 outside North America, or +1 800 638 3030 in USA, Canada and Mexico; fax +1 301 223 2320 e-mail: customerservice@lww.com. In Japan, contact Wolters Kluwer Health Japan Co. Ltd., 3-23-14 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan. Tel: +81 3 5689 5400; fax: +81 3 5689 5402. In India, Bangladesh, Sri Lanka, Nepal and Pakistan: contact Globe Publication Pvt. Ltd. B-13, 3rd FL, A Block, Shopping Complex, Naraina Vihar, Ring Road, New Delhi 110028, India. Tel: +91 11 5793211; fax: +91 11 579 8876.

Annual subscription rates worldwide (volume 22, 18 issues): \$515.00 Individual; \$1,995.00 United States Institutions, \$2,095.00 rest of the world institutions (This includes the handling fee; The Canadian GST tax of 7% will be added to the subscription price of all orders shipped to Canada. Lippincott Williams & Wilkins' GST Identification Number is 130876246. Other sales taxes are added where applicable.) Please add \$41.00 for Airfreight for shipping outside Europe (Airfreight delivery usually occurs within 7 to 21 days.)

Subscriptions outside United States must be prepaid. Payment must be in US funds drawn on a US bank. Subscriptions at the personal rate must

Publishing information: *AIDS* is indexed and abstracted by Cambridge Scientific Abstracts, Chemical Abstracts Service, Current AIDS Literature, Current Awareness in Biological Sciences, Current Contents, Excerpta Medica, Index Medicus/MEDLINE, Laboratory Performance Information Exchange System, Research Alert, Science Citation Index, Scisearch, Telegen Abstracts, Biosis, Embase and PsycInfo.

© 2007 Lippincott Williams & Wilkins: All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise without either the prior written permission of the publisher or a licence permitting restricted photocopying issued in the UK by the Copyright Licensing Authority and in the USA by the Copyright Clearance Center.

Applications for permission should be addressed to the Permissions Department, Lippincott Williams & Wilkins, 351 West Camden Street, Baltimore, MD 21201, USA. Fax: +1 410 528 8550; e-mail: journalpermissions@lww.com

Disclaimer: Although every effort is made by the publisher and editorial board to see that no inaccurate or misleading data, opinion or statement appear in this journal, they wish to make it clear that the data and opinions appearing in the articles and advertisements herein are the responsibility of the contributor or advertiser concerned. Accordingly, the publisher, the editorial board and their respective employees accept no liability for the consequences of any such inaccurate or misleading data, opinion or statement.

Drugs and drug dosages: Readers are advised that new methods and techniques described involving drug usage should be followed only in conjunction with drug manufacturers' own published literature.

Paper type ECF – Typeset by Thomson Digital, Noida Special Economic Zone, Noida, India; and printed by COS Printers Pte, Singapore on recyclable elemental chlorine free paper from sustainable forests meeting the requirements of ISO 9706, ISO 14001 and ISO 9001.

be paid by personal cheque or charge. Charges are accepted on VISA, MasterCard, American Express, Diners Card, or Discover cards. Please have the card number and expiration date available when calling. Prices subject to change without notice. Copies will be replaced without charge if the publisher receives a request within 90 days of the mailing date, both in the US and worldwide. Individual and institutional subscribers receive supplements to *AIDS* at no extra cost. Members of the International AIDS Society are entitled to reduced subscription rates. See application form in journal.

Site licences are available to all institutions. Visit www.lww.com/librarians.htm to download the site licence most appropriate to your organization. For additional information, contact Marylou O'Connor at +1 215 521 8452. In the U.S. and Canada, contact Heidi Alexander at +1 800 326 1685.

AIDS (USPS No.: 000-933) is published every three weeks by Lippincott Williams & Wilkins and distributed in the US by DSW, 75 Aberdeen Road, Emigsville, PA 17318-0437. Periodicals postage paid at Emigsville, PA.

POSTMASTER: send address changes to *AIDS*, PO Box 1550, Hagerstown, MD 21741.

AIDS

РУССКОЕ ИЗДАНИЕ

Председатель редакционного совета

А.П. Сельцовский, *Москва*

Редакционный совет

А.Л. Гинцбург, *Москва*

Н.Д. Ющук, *Москва*

Д.К. Львов, *Москва*

С.В. Поляков, *Москва*

А.П. Козлов, *Санкт-Петербург*

М.М. Гараев, *Москва*

В.Г. Нестеренко, *Москва*

Ю.В. Мартынов, *Москва*

Главный редактор

А.И. Мазус, *Москва*

О ПРОЕКТЕ

Журнал AIDS, официальный орган *International AIDS Society*, публикует материалы оригинальных научных, клинических, эпидемиологических и социальных исследований, которые содержат самые последние данные, касающиеся синдрома приобретенного иммунодефицита.

Журнал включает разделы:

обзоры редакции, фундаментальные исследования, клинические исследования, эпидемиология и социальные вопросы, сообщения исследователей, комментарии редакции.

ООО ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ
практическая медицина

Адрес для корреспонденции

115516 Москва, а/я 20
тел.: +7(495) 324-9329
e-mail: medprint@mail.ru
www.medprint.ru

Шеф-редактор

канд. мед. наук Д.Д. Проценко

Ответственный редактор

Н.Г. Иванова

Технический редактор

Т.А. Львова

Корректоры

Е.Б. Родина
Т.Е. Белоусова

Производство

Д.Р. Сысоев tezey@obook.su

Компьютерная верстка

А.Н. Дубок

Переводчики

О.А. Боченина
А.М. Тетюев, канд. мед. наук
Н.Г. Голованова

Консультанты

В.П. Леонов, канд. техн. наук (Томск) —
биостатистика

Отпечатано

в типографии «Тисо Принт»,
127018, г. Москва, ул. Складочная, д. 3, стр. 6;
www.tiso.ru, тел. +7 (495) 504-13-56

Формат 60 × 90 ¹/₈
Тираж 2000 экз.

ISSN 1730-8801 (англ.)
ISSN 1997-9398 (русск.)

Журнал распространяется среди специалистов бесплатно.

AIDS

Том 3 • №1 • Январь – март 2010

ОБЗОРЫ РЕДАКЦИИ

-
- 3 **Ротовая полость: входные ворота для ВИЧ-инфекции или преграда на ее пути?**
Daniel Malamud, Sharon M. Wahl

Ротовая полость: входные ворота для ВИЧ-инфекции или преграда на ее пути?

Daniel Malamud^{a,b}, Sharon M. Wahl^c

AIDS 2010, **24**:5–16

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, гликопротеид gp340, неспецифический иммунитет, секреторный ингибитор лейкоцитарных протеаз, слизистая оболочка.

Введение

Главными входными воротами ВИЧ-инфекции являются слизистые оболочки, однако слизистая рта обладает уникальной устойчивостью к ВИЧ-1. Поскольку через ротовую полость не происходит ни заражения, ни передача ВИЧ-инфекции, изучение факторов, обеспечивающих устойчивость к ВИЧ-1, особенно компонентов неспецифического иммунитета и механизмов их действия, может открыть новые возможности для предотвращения заражения данным вирусом через другие слизистые оболочки. Хотя большинство факторов неспецифического иммунитета, по современным данным, проявляет антибактериальную и противовирусную активность, молекулы, ингибирующие ВИЧ-1, обладают специфичностью по отношению к данному типу вируса. Идентификация, описание и применение данных факторов неспецифического иммунитета внесут большой вклад в профилактику и лечение острой фазы ВИЧ-1-инфекции. Эндогенные молекулы, которые действуют по отдельности или синергично и вызывают минимум побочных эффектов, могут представлять новый альтернативный способ уменьшения риска заражения и предотвращения ВИЧ-инфекции. Хотя заражение ВИЧ через грудное молоко происходит посредством ротовой полости и является важным предметом для изучения, здесь мы коснемся его лишь кратко. Основное внимание в этой статье уделяется ротовой полости и содержащимся в слюне веществам, которые могут повлиять на ВИЧ-инфекцию.

Эпидемиология передачи ВИЧ-инфекции через ротовую полость

Более чем за 25 лет пандемии СПИДа точно установлено, что основными входными воротами ВИЧ-инфек-

ции у взрослых наряду с кровью являются слизистые оболочки половых органов и прямой кишки. Данных же, свидетельствующих о передаче ВИЧ-инфекции через другие слизистые, недостаточно. В частности, остается невыясненным вопрос о возможности передачи ВИЧ-1 через ротовую полость. Вопрос о передаче инфекции через слизистые оболочки весьма важен, поскольку, несмотря на успехи комбинированного лечения ВИЧ-инфекции, заболеваемость остается высокой, ситуация усугубляется существованием недиагностированных случаев, устойчивостью к антиретровирусной терапии и отсутствием эффективной вакцины и возможности излечения. Хотя считается, что заражение через ротовую полость маловероятно или невозможно, мы не смогли использовать эту информацию для определения механизма защиты на поверхности слизистой рта. Эти механизмы могут открыть новые возможности профилактики и лечения в области более уязвимых для вируса входных ворот.

В начале пандемии предполагалась возможность заражения через ротовую полость, поскольку в ней был обнаружен ВИЧ-1.^{1,2} В то время как некоторые ранние исследования³⁻⁷ не смогли установить передачу вируса через ротовую полость, несколько других рассматривали последнюю как возможный, даже весьма вероятный путь передачи ВИЧ-инфекции.⁸ В крупных, тщательно спланированных когортных клинических исследованиях, в которых оценивалась возможность передачи вируса через слизистую оболочку рта, была доказана редкость случаев заражения ВИЧ-1 через ротовую полость. Однако возможные недостатки этих исследований, включая недостаточно точное документирование определенного пути заражения ВИЧ-инфекцией, не дают полной уверенности относительно риска заражения через слизистую оболочку рта.^{10,11}

^a Department of Basic Sciences, NYU College of Dentistry, ^b Department of Medicine, NYU College of Medicine, New York, New York, ^c Oral Infection and Immunity Branch, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.

Автор, ответственный за переписку: Dr Daniel Malamud, Department of Basic Sciences, NYU College of Dentistry, HIV/AIDS Research Program, 345 East 24th Street, Room 917 Schwartz Bldg, New York, NY 10010, USA.

Tel: +1 212 998 9331; fax: +1 212 995 4362; e-mail: daniel.malamud@nyu.edu

Получено 17 сентября 2009 г.; принято в печать 22 сентября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e328333525f

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Низкая частота подтвержденной передачи ВИЧ-1 через ротовую полость может объясняться низкой концентрацией жизнеспособного вируса в слюне. Хотя в слюне могут определяться высокие титры РНК и антигенов ВИЧ-1, активный жизнеспособный вирус в слюне не обнаружен, несмотря на вирусемию ни в ходе ранних исследований,^{12,13} ни в крупных когортных исследованиях последних лет¹⁴ (S.M. Wahl et al., в печати).

Передача ВИЧ-инфекции через грудное молоко

В отличие от взрослых у детей ротовая полость является подтвержденными воротами ВИЧ-инфекции при постнатальной вертикальной передаче вируса. Риск передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку при кормлении грудью в отсутствие антиретровирусной терапии высок (~16 %) и зависит от продолжительности кормления и концентрации РНК ВИЧ в молоке.¹⁵ Даже если грудное молоко содержит относительно низкую концентрацию РНК ВИЧ, следует иметь в виду, что оно употребляется в большом количестве (до 1 л в день)¹⁶ и многократно воздействует на слизистые оболочки ротовой полости и ЖКТ.

Факторы, влияющие на передачу ВИЧ-инфекции через грудное молоко

Ряд факторов может влиять на восприимчивость грудных детей к ВИЧ-инфекции через слизистую оболочку рта, такие как высокая концентрация вируса, незрелый неспецифический иммунитет, недостаточная концентрация ингибиторов вируса либо сочетание всех перечисленных факторов. В то же время содержащийся в слюне грудных детей секреторный ингибитор лейкоцитарных протеаз (SLPI) может препятствовать заражению.¹⁷ Очень важна продолжительность кормления, поскольку, хотя в молозиве высока концентрация иммуноглобулинов и факторов неспецифического иммунитета,¹⁸ через определенный период времени эти вещества утрачивают свои защитные свойства, поэтому для уменьшения риска заражения рекомендуется сокращать период грудного вскармливания.¹⁵

Липиды и другие компоненты материнского молока также могут способствовать передаче вируса, в качестве примера можно привести семейство кислых белков молочной сыворотки (WAP), таких как рs20, кодируемых геном четырехдисульфидного ядерного домена кислых белков молочной сыворотки 1 (*WFDC1*), который содействует распространению инфекции.¹⁹ Грудное молоко содержит как свободный, так и внутриклеточный ВИЧ. Неизвестно, какой из них передается с большей вероятностью, согласно последним данным, внутриклеточный ВИЧ имеет большее значение, чем считалось ранее.²⁰ Хотя вирус попадает в организм ребенка через ротовую полость, до сих пор точно не установлено, где происходит заражение, поскольку входными воротами ВИЧ-инфекции могут быть слизистые оболочки и рта, и небных миндалин, и верхних отделов ЖКТ, и желудка, содержимое которого у ребенка менее кислое, чем у взрослого. Однако пути передачи, факторы устойчивости и восприимчивости при вертикальной передаче ВИЧ-инфекции выходят за рамки данной статьи.

Эпителиальные факторы устойчивости к передаче ВИЧ-инфекции через слизистую оболочку рта

Выявление того факта, что заражение через ротовую полость происходит редко (но все же иногда случается), привело к поиску основных механизмов защиты, которыми может обладать слизистая оболочка рта, и попыткам установить, уникальны ли эти механизмы для ротовой полости. Эпителий — первый барьер на пути инфекционных агентов, таких как ВИЧ, структура его в разных тканях различна, и эпителий ротовой полости может представлять более труднопреодолимый для ВИЧ барьер по сравнению с эпителием слизистых влагалища, шейки матки, прямой кишки.²¹ Считается, что ВИЧ-1 проникает через неповрежденную слизистую оболочку, взаимодействуя с мембранными рецепторами. Уникальным свойством неповрежденной слизистой рта, которое может объяснить уменьшение восприимчивости к ВИЧ-1, является небольшое количество клеток Лангерганса (CD1, антиген HLA класса II) и дендритных клеток, рецепторов Fc-фрагмента IgG на поверхности эпителиальных клеток и эпителиальных антигенов HLA класса II. Эти клетки расположены дальше от поверхности слизистой оболочки рта по сравнению с эпителием влагалища, шейки матки и прямой кишки.²¹

Трансцитоз (транспорт через межклеточные контакты) происходит при участии галактозилцерамида (GalCer), белка DC-SIGN, маннозного рецептора, гепарансульфата и гликопротеида (gp) 340, которые способствуют передаче вируса через эпителий. Наличие данных веществ в эпителии слизистой оболочки рта все еще до конца не изучено, в то время как точно известно об их наличии в слизистой половых путей и кишечника.²²⁻²⁴ Нет определенности в отношении доступности эпителия, наименования, расположения и количества рецепторов, с которыми связывается вирус, механизмов его проникновения и доступности клеток-мишеней в различных слизистых. Несмотря на это, в настоящее время предпринимаются попытки установить различия, которые определяют устойчивость слизистой оболочки к вирусу либо восприимчивость к нему.

Доступность клеток-мишеней в слизистых оболочках

Доступность лимфоцитов CD4 и корецепторов имеет решающее значение для инфицирования ВИЧ-1, однако лимфоциты CD4 и CD8 также участвуют в формировании иммунного ответа против вируса. Лимфоциты слизистой оболочки расположены на базолатеральной поверхности эпителия слизистой рта и других эпителиальных тканей наряду с клетками Лангерганса и антигенпредставляющими дендритными клетками. Локальные различия здесь состоят в том, что в эпителии рта данных клеток меньше и они расположены дистальнее по отношению к полости рта.²¹ После встречи с ВИЧ-1 дендритные клетки могут представлять вирусный антиген Т-лимфоцитам, которыми особенно богата собственная пластинка слизистой оболочки, затем они мигрируют в регионарные лимфоузлы, где потенцируют ответ Т-хелперов. Является ли передвижение дендритных клеток и лимфоцитов от слизистой ротовой полост-

ти в регионарные лимфоузлы аналогичным таковому в слизистой оболочке кишечника, точно не установлено.²⁸ Следует отметить, что экспрессия активированного рецептора адгезии $\alpha 4\beta 7$ на инфицированных лимфоцитах CD4 способствует их связыванию с gp120 на ВИЧ-1.²⁹ Также неясно, происходит ли в лимфоидной ткани слизистой рта³¹ такая же резкая и быстрая утрата собственной пластинкой лимфоцитов CD4 при инфицировании ВИЧ, как в ЖКТ.³⁰ Если происходит, то это может усилить восприимчивость к инфекционным агентам, находящимся в ротовой полости, и коинфекциям. Исследование слизистой оболочки рта у лиц, которые, несмотря на многократное воздействие ВИЧ-1, остаются серонегативными, и у лиц с низким содержанием вируса, уровень РНК ВИЧ-1 у которых не поддается оценке, с целью установить, являются ли компоненты их слизистой более устойчивыми к ВИЧ-инфекции, не проводилось.

Защитные механизмы неспецифического иммунитета

Поверхность слизистой оболочки защищается как факторами неспецифического, так и специфического иммунитета. Эволюционно более древний неспецифический механизм защиты срабатывает быстрее, сразу после воздействия инфекционного агента.³² Еще предстоит выяснить, каким образом и действительно ли различаются эпителиальные, дендритные клетки, макрофаги, НК-клетки, эндотелиальные и другие клетки неспецифического иммунитета различных слизистых оболочек, поскольку их способность распознавать и формировать иммунный ответ на ВИЧ-1 может быть органоспецифической. Такие факторы неспецифического иммунитета, как лизоцим, дефенсины, SLPI, цитокины, хемокины, интерфероны I типа, которые распознают вирус и запускают противовирусный иммунный ответ, включая усиление экспрессии внутриклеточного фермента, редактирующего мРНК апопротеина В, цитидиндезаминазы,³³⁻³⁵ могут влиять на антивирусную активность в ротовой полости. Слюнные железы, секретирующие молекулы с ферментативной и защитной активностью,³⁶ также вносят свой специфический, но несовершенный вклад в иммунный ответ против ВИЧ. Помимо факторов иммунитета, взрослые вырабатывают в день до 1 л слюны, которая смывает поступающие извне инфекционные агенты в нижележащие, менее уязвимые и более кислотные отделы ЖКТ.

Не следует также забывать и о многочисленных микроорганизмах, обитающих в ротовой полости, включая бактерии, вирусы и простейшие, которые, вероятно, также влияют на реакцию организма на ВИЧ. Прежде всего, под действием бактерий и продуктов их жизнедеятельности изменяется проницаемость слизистой оболочки, привлекаются и активируются клетки, участвующие в воспалительной реакции, а протеазы и цитокины, в свою очередь, влияют на восприимчивость организма к инфекции. Рецепторы, распознающие патоген-ассоциированные молекулярные структуры и активирующие неспецифический иммунный ответ, особенно Toll-подобные рецепторы (TLR), как, вероятно, и другие, в частности лектиновые рецепторы С-типа, белок, аналогичный RIG-I, NOD-подобные рецепторы, служат первой линией молекулярной защиты про-

тив многих инфекционных агентов. Активация TLR-2 на дендритных клетках усиливает репликацию ВИЧ-1 и его передачу на лимфоциты CD4, в то время как TLR-4 стимулирует образование интерферонов типа I, которые подавляют репликацию и передачу ВИЧ-1³⁷ посредством стимулируемых интерфероном генов. Инфицирование другими вирусами, включая герпесвирус человека 8-го типа и цитомегаловирус (ЦМВ), непосредственно влияет на репликацию ВИЧ-1.^{38,39} Отсутствие либо уменьшение нормальной микрофлоры, как это показано для лактобактерий влагиалища,⁴⁰ увеличивают вероятность заражения ВИЧ-1, что подчеркивает ее значение в защите от вируса.

В результате запуска патогенным агентом механизмов неспецифического иммунитета высвобождается ряд растворимых факторов, секретируемых в слизистой оболочке рта. Предположение о противовирусной активности этих факторов возникло после того, как в исследованиях *in vitro* было установлено, что слюна блокирует инфицирование активированных фитогемагглютинином Т-лимфоцитов.^{41,42} Эти исследования вызвали интерес к поиску в слюне молекул, активных против ВИЧ.

Обзор противовирусной активности слюны человека

Со времени первого сообщения Fultz⁴¹ о том, что инкубация ВИЧ-1 со слюной человека или шимпанзе приводит к инактивации вируса, поступало сотни сообщений о том, что слюна и ее компоненты блокируют активность ВИЧ-1 *in vitro*. В данной статье мы остановимся на публикациях, посвященных двум молекулам, которые постоянно демонстрировали способность подавлять активность ВИЧ-1 и для которых установлен вероятный механизм действия.

Молекулы слюны, обладающие активностью против ВИЧ-1, включают лактоферрин, лактопероксидазу, лизоцим, тромбоспондин, муцин, богатые пролином белки, дефенсины, SLPI и gp340 (также известный как агглютинин слюны (SAG)/отсутствующий при опухолях мозга типа 1 (DMBT1) (табл. 1).⁴³⁻⁶¹ Большая часть этих белков также обладает антибактериальной активностью, и хотя механизмы их действия тщательно изучались, информация об их специфической активности против ВИЧ-1 очень ограничена. В табл. 1 представлены возможные механизмы антивирусной активности. Интересен тот факт, что большая часть этих белков — факторы неспецифического иммунитета. Также сообщается о том, что молекулы, вырабатываемые микробами ротовой полости, подавляют активность ВИЧ-1,⁶² противовирусной активности может способствовать и гипотоничность слюны,⁶³ что может вызывать лизис вирусов, покрытых внешней оболочкой.

Такое разнообразие факторов в слюне, активных против ВИЧ-1, достойно удивления. На это можно ответить, что в ротовой полости также содержится большое количество антибактериальных белков, обладающих разнообразными механизмами действия, которые могут участвовать в защите организма от широкого спектра обитающей в ротовой полости патогенной и условно-патогенной микробной флоры. А поскольку ротовая полость подвер-

Таблица 1. Факторы, активные против ВИЧ-1, и механизм их действия

Фактор	Предполагаемый механизм действия	Источник
Лактоферрин	Связывается с gp120 и блокирует проникновение ВИЧ-1	[49–52]
Лизоцим	Разрывает пептиды вируса или изменяет сигнальные пути	[53]
Тромбоспондин	Пептид CSVTCG связывается с gp120	[54]
Муцин	Связывает и образует скопления вирусов	[46, 55, 56]
Богатые пролином белки	Неизвестен	[57]
Дефенсины α , β , θ	Связываются с ВИЧ-1 и CD4, много механизмов	[58–60]
Лактопероксидаза	Свободнорадикальное окисление	[61]
SLPI	Связывается с аннексином АII на клетке-мишени хозяина	[43–45]
gp340 (DMBT1/SAG)	Связывается N-концевым фрагментом с участком петли V3 gp120	[47, 48]

гаются воздействию широкого спектра патогенных вирусов, в ней также должно существовать большое количество противовирусных молекул, хотя публикации об антивирусной активности слюны в основном посвящены ВИЧ-1. Однако многие другие патогенные вирусы, включая вирус простого герпеса, Эпштейна—Барр, бешенства и гриппа, легко проникают через ротовую полость. Также следует отметить, что большинство факторов, перечисленных в табл. 1, обладают и антибактериальной, и противовирусной активностью.

Действие многих молекул слюны против ВИЧ-1 было описано лишь в единичных работах; однако существует множество публикаций в отношении анти-ВИЧ-1 активности дефенсинов и этот вопрос хорошо освещен.^{64,65} В данной статье мы уделим внимание двум молекулам, которым посвящено немало работ, включающих информацию об активности этих молекул против различных штаммов ВИЧ-1 с установленными механизмами действия: gp340, который подавляет активность ВИЧ-1, связываясь с вирусом, и SLPI, который подавляет вирусную активность, взаимодействуя с белками мембраны клеток-мишеней.

Активность секреторного ингибитора лейкоцитарных протеаз против ВИЧ-1

SLPI — полипептид с молекулярной массой 11,7 кДа, содержится в секрете слизистых оболочек и препятствует заражению ВИЧ-1. Этот катионный секреторный полипептид принадлежит к семейству WAP, он имеет два богатых цистеином WAP-участка, каждый из которых содержит четыре дисульфидные связи⁶⁶ (рис. 1, а). SLPI обладает мощной активностью против сериновых протеаз, особенно эластазы нейтрофилов и катепсина G. В дополнение к способности защищать ткани от вызванного протеазами лейкоцитов повреждения при воспалении и влиять на рост клеток и восстановление тканей^{68–72} SLPI принадлежит ключевая роль в неспецифической иммунной защите организма против вирусов, бактерий и грибов.^{6,18,67}

SLPI в основном вырабатывается в эпителии слюнных желез и находится в большом количестве в слюне (уровень измеряется в мкг), но также входит в состав и других слизистых секретов, включая секрет бронхов, полости носа, цервикальной слизи и семенной жидкости.⁷⁴ Хотя у грызунов SLPI — основное вещество, синтезируемое лейкоцитами, у человека секреция SLPI менее изучена,⁷⁵ главным же его источником является эпителий. На содержание SLPI в секрете слизистых оболочек

влияют инфекционные агенты; так, его концентрация снижается под влиянием вируса простого герпеса⁷⁶ и повышается при воздействии ЦМВ, *Candida albicans*, бактериального вагиноза^{77–79} и ВИЧ-1.⁸⁰ Кроме того, содержание SLPI регулируется некоторыми гормонами⁸¹ и факторами воспаления,⁸² что также может влиять на устойчивость к ВИЧ-1-инфекции. Хотя концентрация SLPI в эпителии ротовой полости и слюне считается достаточно высокой, чтобы воспрепятствовать заражению ВИЧ-1 (≥ 100 нг/мл) даже в отсутствие дополнительных стимулов, в эпителии небных миндалин концентрация SLPI ниже, что потенциально может способствовать проникновению ВИЧ-1 в этой области.²⁵ Важно, что при отсутствии SLPI в слюне антивирусный потенциал этой жидкости снижается,⁴⁴ а уровень SLPI в слюне, грудном молоке и секретах влагалища положительно коррелирует с риском передачи инфекции.^{17,83,84}

Механизм действия секреторного ингибитора лейкоцитарных протеаз против ВИЧ-1

Способность SLPI препятствовать заражению ВИЧ-1-инфекцией впервые была показана на макрофагах моноцитарного происхождения, полученных из периферической крови человека, в которых рекомбинантный SLPI блокировал рецептор CCR5-тропного штамма ВИЧ-1.^{43,44} Заражения не происходило, если макрофаги перед воздействием ВИЧ-1 ненадолго подвергались действию SLPI в физиологических концентрациях, при этом SLPI связывался с макрофагами с высокой степенью сродства.^{43,44} Эти открытия скорее предполагали действие на клеточную мишень, чем непосредственно на вирус. Блокада произошла после связывания вирусного gp120 с CD4 и его взаимодействия с CCR5 (рецептор хемокинов 5, подкласс C-C), но до начала обратной транскрипции вируса,⁴³ вероятно препятствуя проникновению вируса в клетку или его слиянию с ней. В поисках потенциальной молекулы-лиганда SLPI был обнаружен уникальный мембранный рецептор макрофагов — кальцийсвязывающий белок аннексин II⁴⁵ (рис. 2, а), который также связывается с актином, что может пролить свет на механизм проникновения вируса внутрь макрофага. Рецептор встроен в мембрану клетки и участвует в эндоцитозе, его также обнаруживают на ранних эндосомах, где он обеспечивает биогенез мультивезикулярного транспорта веществ, предназначенных для поздних эндосом через фосфорилирование Туг-23.⁸⁵ Поскольку активность мембранного аннексина II зависит от его N-концевого фрагмента и мембранного холестерина, эти наблюдения весьма ак-

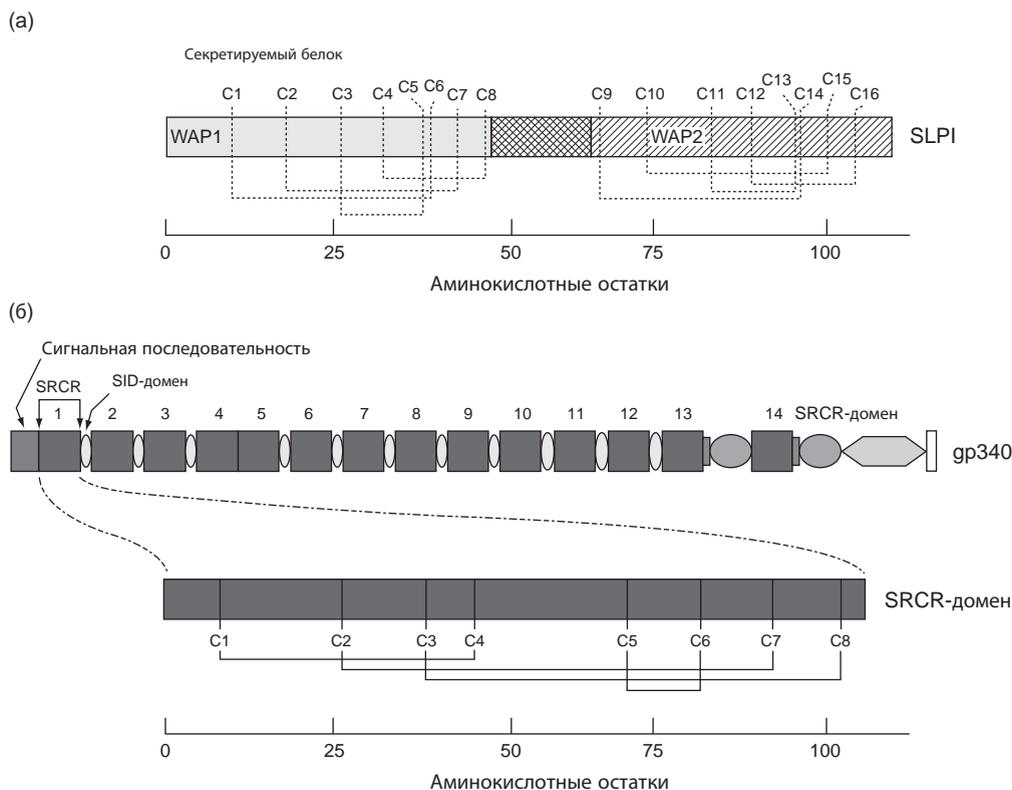


Рис. 1. Структура секреторного ингибитора лейкоцитарных протеаз и gp340 с указанием консервативных цистеинов. (а) SLPI и (б) gp340. SLPI — секреторный ингибитор лейкоцитарных протеаз; SRCR — богатый цистеином рецептор-мусорщик; WAP — кислые белки молочной сыворотки.

туальны в свете новых открытий в отношении ВИЧ-1: вирус проникает в клетку не только посредством слияния с плазматической мембраной, но и после взаимодействия с соответствующими рецепторами. Процесс проникновения вируса в клетку может включать холестерин-зависимый эндоцитоз и ГТФаза(динамин)-зависимое слияние с эндосомами с последующим высвобождением вирусной РНК в цитоплазме.⁸⁶ Локализация этих событий на мембране и в эндосомах вполне согласуется с участием мембранного аннексина II в следующем после взаимодействия с рецепторами CD4/CCR5 этапе проникновения вируса,⁴⁵ а также с тем фактом, что уменьшение количества рецепторов аннексина II или их блокада посредством SLPI подавляет размножение вируса. Проникновение во внутриклеточную систему эндоцитоза позволяет ВИЧ-1 ускользать от факторов неспецифического иммунитета, антител и ингибиторов слияния вируса с клеточной мембраной.

В ходе жизненного цикла ВИЧ-1 транскрибируется, созревает и покидает клетки, несущие CD4 и хемокиновые корецепторы, и при этом, отпочковывая участок мембраны макрофага, захватывает ее компоненты, включая фосфатидилсерин, который далее может быть избирательно опознан клетками-мишенями реципиента, содержащими аннексин II.^{45,87} Способность SLPI связывать аннексин II блокирует фосфатидилсерин-аннексин II-зависимое раннее взаимодействие клеток реципиента с вирусом (см. рис. 2, а). Кроме того, в макрофагах репликация и транскрипция вируса происходят во внутриклеточных вакуолях,⁸⁸ или поздних эндосомах, где расположен аннексин II, который взаимодействует с предшественником полипротеина Gag ВИЧ-1, p55Gag,⁸⁹ что способствует вирусной транскрипции. Хотя пока неизвестно, устойчив ли SLPI к действию

кислоты, он может сохраняться внутри эндосом и влиять на вирус в процессе его транскрипции, созревания и высвобождения, воздействуя на его поступление в клетку и выход из нее.

Заражение макрофагов CD4 ВИЧ-1 и репликация вируса в них происходят одновременно с такими же процессами в лимфоцитах CD4, но разными путями. Это касается механизмов проникновения, слияния, транспорта в ядро, транскрипции вируса, а также сборки новых вирусов и их отпочковывания от мембраны клетки-хозяина.⁹⁰ Это отчасти связано с экспрессией различных тропных белков. SLPI препятствует проникновению инфекции в Т-лимфоциты,^{90,91} мембрана которых не содержит аннексин II.⁴⁵ Это можно объяснить наличием на мембране Т-лимфоцитов недавно открытой молекулы-лиганда скрамблазы 1, белка — переносчика фосфолипидов с одной стороны мембраны на другую.⁹³ Скрамблаза взаимодействует с С-концевым цитоплазматическим участком CD4, а SLPI конкурентно соединяется с этим же участком связывания скрамблазы, предотвращая заражение штаммом Х4 ВИЧ (рис. 2, б)⁹³. Следовательно, SLPI может на ранних стадиях взаимодействия с вирусом предотвратить проникновение ВИЧ-1 и в Т-клетки, и в макрофаги.

Другой возможный механизм предотвращения ВИЧ-1-инфекции с помощью SLPI — подавление активации ядерного фактора NFκB, необходимого для репликации ВИЧ-1.⁹⁴ Помимо действия на поверхности клетки⁴⁵ SLPI может проникать через клеточные мембраны и выполнять ряд функций внутри клетки, включая подавление активации NFκB⁹⁵ и провоспалительного TLR-сигнала.⁹⁶ В ядре происходит взаимодействие SLPI и NFκB, самым важным функциональным значением которого является

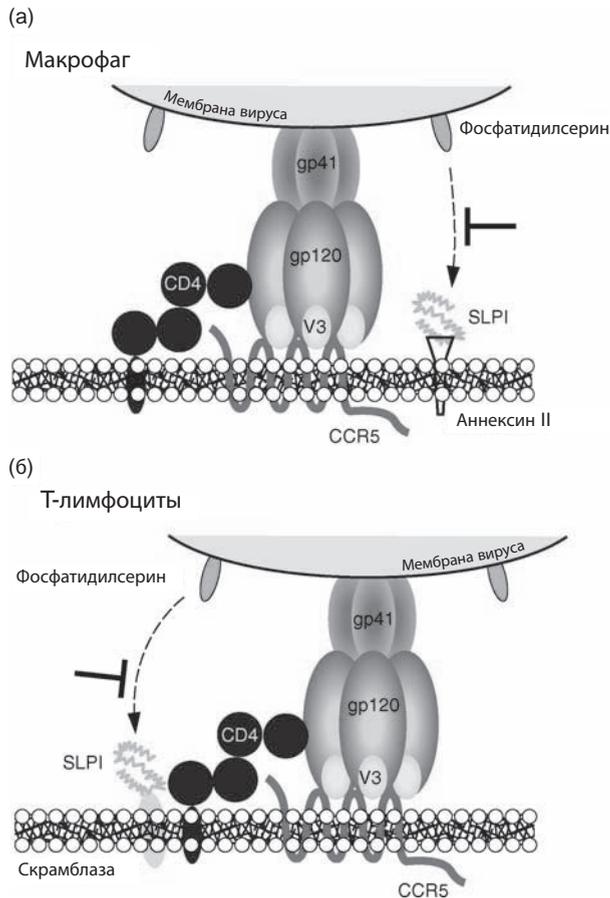


Рис. 2. Сравнительная диаграмма механизма действия секроторного ингибитора лейкоцитарных протеаз на макрофагах и на Т-лимфоцитах. (а) Макрофаги и (б) Т-лимфоциты. CCR5 — рецептор хемокинов 5 (подкласс C-C); SLPI — секроторный ингибитор лейкоцитарных протеаз.

подавление важных для патогенеза ВИЧ воспалительных реакций. Способность SLPI подавлять активацию NFκB, воспалительную реакцию, его антипротеолитическая активность, а также угнетающее действие на коинфекции может тормозить развитие ВИЧ-инфекции. SLPI, который уже применяется при муковисцидозе без выраженных побочных эффектов,⁹⁷ может стать идеальным антимикробным средством, препятствующим взаимодействию вируса с клетками хозяина и представляющим новый подход к профилактике ВИЧ-1-инфекции.

Активность gp340 (агглютинин слюны) против ВИЧ-1

Агглютинин слюны человека (SAG), так называемый gp340, продукт гена *DMBT1* (рис. 1, b), уже многие годы известен как фактор, участвующий в агрегации и адгезии бактерий. SAG, выделенный из слюны человека, в растворенном состоянии способен связывать многие разновидности бактерий, вызывая их агрегацию и удаление из ротовой полости.⁹⁸ Некоторые бактериальные рецепторы SAG были выявлены и клонированы, они взаимодействуют и с углеводной, и с белковой детерминантой¹⁰¹ SAG. Однако, когда SAG иммобилизован, например, на поверхности зуба, то он способствует адгезии бактерий и, следовательно, развитию болезни.¹⁰²

SAG также связывается с ВИЧ-1 *in vitro* и подавляет ВИЧ-1-инфекцию.⁴⁶ Prakobphol et al.,¹⁰³ используя про-

теомический анализ, продемонстрировали, что SAG идентичен прежде выявленному и клонированному легочному рецептору-мусорщику, богатому цистеином (SRCR), — gp340, продукту гена *DMBT1*. Существует много работ, посвященных гену *DMBT1* как ингибитору опухолевого роста при различных видах эпителиальных опухолей.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶

Семейство SRCR включает широкий спектр белков, содержащих высококонсервативный домен SRCD, который состоит из 100 аминокислотных и либо 6 (группа А), либо 8 (группа В) консервативных цистеиновых остатков.¹⁰⁷ Члены семейства имеют от 1 до 20 доменов SRCR. 14 доменов SRCR gp340 содержат 8 цистеиновых остатков и разделены SID-доменами (см. рис. 1, b). Кроме того, в области С-конца есть два домена CUB и домен прозрачной зоны.¹⁰⁹ Представители группы В семейства SRCR представлены в различных тканях (ЖКТ, поджелудочной железе, молочных железах, легких, трахеи и глаз) и могут располагаться как на поверхности клеток, так и в слизистых секретах; они могут быть в слюне, слезах, бронхиальном и влагалищном секрете. Hohenester et al.¹⁰⁹ представили кристаллическую структуру одного SRCR-домена Мас-2-связывающего протеина, опухолевого антигена и матриксного белка, в качестве модели для всего суперсемейства SRCR протеинов. Более подробное описание суперсемейства SRCR можно найти в ряде обзоров последних лет.^{107,110} Механизм, позволяющий данной молекуле подавлять опухолевый рост и участвовать в неспецифической иммунной защите, остается загадкой.¹¹¹

Гликопротеид gp340 в ротовой полости

Исследования выделенного из слюны gp340 свидетельствуют, что он секретируется и околоушной, и поднижечелюстной слюнной железой. Активность против ВИЧ-1 скорее обусловлена действием непосредственно на вирус, а не на клетки-мишени хозяина.¹¹² При инкубации со слюной gp120 был удален с поверхности вириона, что предполагает наличие мишени, участка связывания для gp340, на оболочке ВИЧ-1.⁴⁶ Для уточнения этого вопроса исследовали активность против ВИЧ-1 фракцию слюны поднижечелюстной слюнной железы, содержащую два высокомолекулярных белка, SAG и MG2, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.⁴⁶ Противовирусная активность SAG была узко специализирована по отношению к ВИЧ-1 и вирусу гриппа А.¹¹³ SAG почти не проявил активности против вируса простого герпеса, аденовируса, вируса иммунодефицита обезьян и ВИЧ-2,¹¹² однако показал широкий спектр противовирусной активности против исследуемых штаммов ВИЧ-1 (R5 и X4).^{47,114,115} SAG был обнаружен в слюне большинства исследуемых, хотя и в различной концентрации. По данным близнецовых исследований, антибактериальная активность SAG обусловлена генетически.¹¹⁶ Молекула SAG представляет собой высокомолекулярный гликопротеид, который содержит углеводные остатки у атомов азота и кислорода. При иммуноэлектронной микроскопии выявили высокую концентрацию меток в секреторных гранулах отдельно от амилазы, что позволяет предположить различные пути секреции SAG и амилазы. Небольшое количество меток было на поверхности аппарата Гольджи и в протоках слюнных желез.¹¹⁷⁻¹¹⁹

Исследование на биосенсоре *BiaCore* показало, что связь *SAG* с иммобилизованным *gp120* была кальций-зависимой, а константа диссоциации при взаимодействии с *gp120*, полученным от различных штаммов ВИЧ-1, варьировала от 10^{-7} до 10^{-10} моль/л, что сравнимо с аффинитетом *gp120* к *CD4*. Было показано, что участки связывания *SAG* расположены отдельно от *CD4*-связывающих участков на *gp120*, а предварительное соединение *gp120* с *CD4* усиливало его синтез с *SAG*.⁴⁷ С помощью набора перекрывающихся пептидов, содержащих 15 аминокислотных остатков, которые были получены из *gp120*, иммобилизованного на микропланшете из 96 лунок, были идентифицированы участки связывания для *gp340*, кодируемые геном *env*. Первичный участок связывания представлен консервативной последовательностью аминокислот (СТРPNYNKRKR) на участке петли V3 *gp120*⁴⁷ (рис. 3); эта последовательность консервативна у большинства штаммов ВИЧ-1, но менее консервативна у ВИЧ-2 и вируса иммунодефицита обезьян. С помощью клона *DMBT1* (предоставлен проф. Holmskov, Университет Южной Дании, Оденс, Дания) была получена вся молекула, а также N-концевой фрагмент *SRCR* и усеченная молекула *gp340*, которые при экспрессии в культурах клеток млекопитающих проявляли активность против ВИЧ-1.⁴⁸ Свойства N-концевого фрагмента *SRCR* сходны с таковыми всей молекулы *gp340*: он связывает те же участки *gp120* и требует присутствия Ca^{2+} , а также эффективно блокирует *CCR5*- и *CXCR4*-тропные штаммы вируса.

Мембранный и растворимый *gp340*

Хотя *gp340* обнаружен в слюне и выделениях из влагалища, его концентрация в них в 100 раз ниже, чем в слюне.¹²⁰ Кроме того, как показали гистохимические и иммунологические исследования культуры клеток и тканей женских половых органов, в отличие от *gp340* ротовой полости *gp340* влагалищного секрета связан с клеточной мембраной.¹²¹ Линии клеток, полученные из эпителия влагалищной части шейки матки, канала шейки матки и влагалища,¹²² подвергались действию моноклональных антител к *gp340* и исследовались методом проточной цитофлюориметрии и иммуногистохимического анализа. Эти исследования показали, что *gp340* расположен на поверхности клеток.¹²¹ Напротив, изучение клеток, полученных из ротовой полости методом проточной цитофлюориметрии, выявило отсутствие мембранного *gp340*, поскольку молекулы последнего в клетках ротовой полости изначально содержатся в секреторных гранулах. Для исследования функции мембранного *gp340* эмбриональные клетки почки человека, линии 293, подвергали воздействию плазмиды, экспрессирующей полноразмерный *gp340*, молекула которого была расположена на поверхности клетки. Клетки, экспрессирующие *gp340* на своей поверхности, связывались с ВИЧ-1 и 4 дня спустя были способны передавать вирус на *CD4*-клетки. Это происходило с эпителиальными клетками влагалища и шейки матки, но не в клетках глотки.¹²¹ В следующем исследовании¹¹¹ было обнаружено, что макрофаги моноцитарного происхождения экспрессировали *gp340* на своей поверхности, ВИЧ-1 у этих клеток блокировался пептидами, полученными от *gp120*, прежде известными как участки связывания с *gp340*. Недавно мы пока-

зали, что *gp340* также может участвовать в стимуляции прямого транскитоza ВИЧ-1 с апикальной на базолатеральную поверхность эпителиальных клеток половых органов в культуре клеток и в образцах эндоцервикальных тканей.²² На основе этих исследований можно предположить, что *gp340*, расположенный на поверхности клетки, может способствовать инфицированию ВИЧ-1, отделяя вирионы для их последующей передачи на клетки-мишени *CD4*. Более того, это может облегчить проникновение ВИЧ-1 через слизистую оболочку; процесс сходен с таковым, описанным для гепарансульфата.¹²³

Имеющиеся данные позволяют предположить, что растворимый *gp340* (как он представлен в слюне) может связывать консервативные участки *gp120* на ВИЧ-1 и, как следствие, блокировать ВИЧ-1. В противоположность этому мембранный *gp340* (как он представлен во влагалище и шейке матки) может связываться с ВИЧ-1, представлять жизнеспособный вирус *CD4*-клеткам хозяина и транспортировать его через интактный слой клеток в женских половых органах. Таким образом, также как *SLPI*, растворимый *gp340* (ингибитор взаимодействия клеток-мишеней с ВИЧ-1) представляет со-

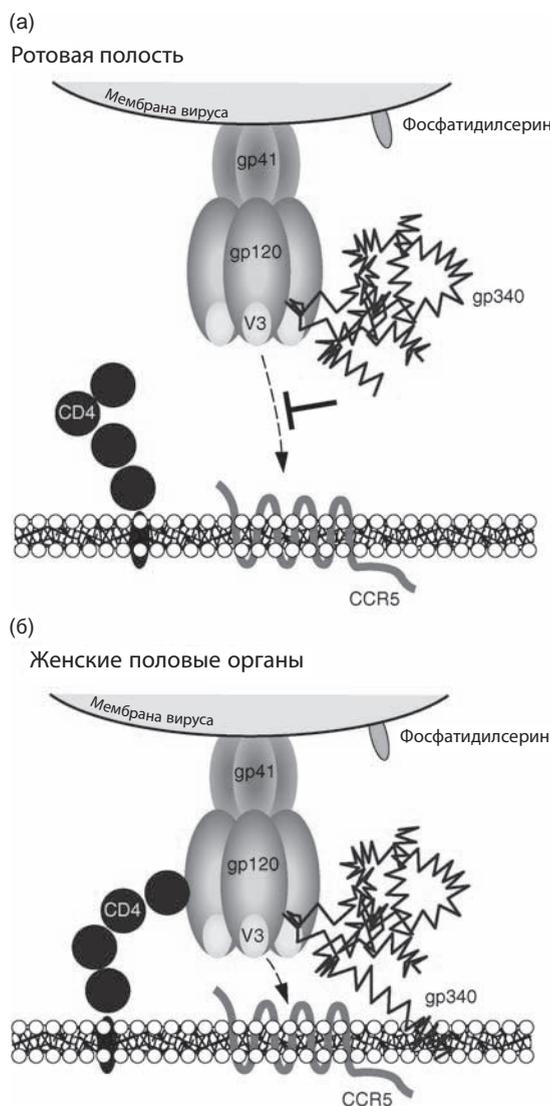


Рис. 3. Сравнительная диаграмма блокирования ВИЧ-1 растворимым *gp340* в ротовой полости (а) и связывания мембранного *gp340* с ВИЧ-1 в женских половых органах (б). *CCR5* — рецептор хемокинов 5 (подкласс С-С).

бой потенциальное антимикробное средство, которое можно использовать для предотвращения заражения ВИЧ-1 через влагалище или прямую кишку.

Краткие характеристики растворимого и мембранного gp340 представлены в табл. 2. При анализе двух наиболее изученных ингибиторов ВИЧ в ротовой полости, SLPI и gp340, нас поразили некоторые сходные черты этих двух медиаторов неспецифического иммунитета, а также влияние окружающей среды на их функции. Хотя SLPI и gp340 находятся и в ротовой полости, и в слизистых оболочках половых органов, микросреда каждой из этих слизистых уникальна и, вероятно, влияет на восприимчивость или устойчивость к ВИЧ-инфекции. Чтобы понять разницу в возможности заражения через ротовую полость, с одной стороны, и половые органы и прямую кишку — с другой, мы рассмотрели этот вопрос в свете нескольких различных аспектов.

1. Физиологический — в ротовой полости постоянно происходит секреция слизи и медиаторов, которые эффективно удаляют инфекционные агенты в менее для них благоприятную кислую среду ЖКТ. Непрерывное смывание инфекционных агентов в нижележащие отделы ЖКТ, а также особенности структуры и функций эпителия ограничивают доступность слизистой оболочки рта. Кроме того, pH ротовой полости максимально благоприятен для ферментативной активности — 6,0–7,0, в то время как pH женских половых органов ниже и составляет около 4,0, но быстро возрастает примерно до 7,0 при попадании в них спермы.

2. Молекулярный — уровень растворимого gp340 и SLPI в 10–100 раз выше в ротовой полости по сравнению с женскими половыми органами, и во многом благодаря gp340 ротовая полость является преградой на пути ВИЧ, в то время как SLPI обеспечивает устойчивость слизистой оболочки. Еще одним ключевым фактором может быть то обстоятельство, что gp340 женских половых путей расположен на клеточной мембране, где он может отделить и транспортировать вирус, в противоположность захвату и удалению ВИЧ в ротовой полости. Другие факторы неспецифического иммунитета, по-видимому, обладают таким же спектром активности в ротовой полости, как и в половых органах.

Обсуждаемые здесь сходные черты между SLPI и gp340 суммированы в табл. 3.

Заключение

Определение событий, которые происходят на ранней стадии защиты слизистой оболочки от ВИЧ-1 в ротовой полости, механизма проникновения вируса и заражения в слизистую половых путей и прямой кишки служит ключом к пониманию того, каким образом ВИЧ-1 успешно преодолевает неспецифический иммунитет и как защитить слизистые от заражения. Слизистые оболочки являются главной мишенью для вакцин и антимикробных средств, и разочаровывающие в настоящее время результаты их применения подчеркивают необходимость более глубокого изучения механизмов действия иммунитета слизистой. Поскольку специфический иммунный ответ может формироваться слишком медленно и оказаться неэффективным, возможность применять факторы неспецифического иммунитета открывает новые перспективы для профилактики и лечения. Быстрота устранения вирусии и подавление репродукции вируса у инфицированных индивидуумов остаются главной целью антиретровирусной терапии, однако всегда предпочтительнее предотвратить инфекцию, и неспецифический иммунитет предлагает новые возможности на этом пути. Два фактора неспецифического иммунитета: gp340 и SLPI, один из которых действует на вирус, а другой — на клетку-мишень, могут, дополняя друг друга, предотвратить заражение ВИЧ-1 и репродукцию вируса. Активные домены gp340 и SLPI и мишени, расположенные на вирусе и на клетке хозяина, могут обеспечить новый подход для блокирования ВИЧ-1-инфекции в области ее входных ворот — слизистых оболочек.

Благодарности

Исследование проводилось при поддержке грантов № U01DE017855 (D.M.), U19DE018385 (D.M.), R01AI050484 (D.W.), R01AI060505 (D.W.) системы Национальных институтов здоровья (НИ), Национального института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (NIDCR), Института аллергических и инфек-

Таблица 2. Свойства gp340: растворимого и встроенного в мембрану клетки

Растворимый gp340	gp340 клеточных мембран
ПЦР с обратной транскрипцией показала, что gp340 синтезируется главным образом в слюнных железах, трахее, легких, тонкой кишке и желудке, а также в мозге, яичках, матке, поджелудочной железе, молочных железах и глазах	Обнаружен на поверхности макрофагов в крови, легких, тонкой кишке, на апикальной поверхности клеток эпителия тонкой кишки, эпителиальных клетках шейки матки и влагалища; в меньшем количестве — на поверхности клеток роговицы и конъюнктивы
Обнаружен в слюне, слезной жидкости, секрете желез эпителия тонкой кишки, секрете трахеи и бронхов; в меньших концентрациях — в цервикальной слизи, секретах влагалища, эпидермисе и волосных фолликулах	Связывается с ВИЧ-1, связанный вирус может транспортироваться к CD4-клеткам
Обладает антибактериальной и противовирусной активностью	На клетках эпителия половых путей способствует передаче ВИЧ и его транзитозу
Выделен из слюны, рекомбинантный gp340 также ингибирует ВИЧ-1	
Связывается с консервативной последовательностью аминокислот на участке петли V3 gp120	
ПЦР — полимеразная цепная реакция.	

Таблица 3. Сходство между секреторным ингибитором лейкоцитарных протеаз и gp340

	SLPI	gp340
Секретируется эпителиальными клетками	+	+
Находится на поверхности слизистых всего организма	+	+
Содержит консервативные дисульфидные связи	+	+
Требуется Ca ²⁺ для связывания	+	+
Проявляет антибактериальную, и противовирусную активность	+	+
Подавляет или стимулирует рост опухоли	+	+
При воспалении его концентрация повышается	+	+

ционных заболеваний (NIAID), а также Общества по поддержке науки, технологий и инноваций штата Нью-Йорк (NYSTAR, D.M.) и Программы интрамуральных исследований Национальных институтов здоровья, Национального института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (S.W.). Мы весьма признательны д-рам Holmskov и Ligtenberg, Программе научных исследований и передаче реагентов по СПИДу Национальных институтов здоровья, за предоставленные реагенты и д-ру Fichogova за вагинальную и цервикальную линии клеток.

Авторы хотели бы поблагодарить своих коллег д-ров Drew Weissman, Michael Poles, Nancy Vazquez и Lary Wahl за внимательное прочтение рукописи, а также д-ра William R. Abrams за визуализацию данных. Д-ра D. Demuth, W. Wu, W.R. Abrams, C. Barber, H. Friedman, T.B. McNeely, T. Greenwell-Wild и M. Ge внесли важный вклад в работу, результатом которой стали представленные здесь данные.

Литература

- Groopman JE, Salahuddin SZ, Sarngadharan MG, Markham PD, Gonda M, Sliki A, Gallo RC. HTLV-III in saliva of people with AIDS-related complex and healthy homosexual men at risk for AIDS. *Science* 1984; 226:447–449.
- Goto Y, Yeh CK, Notkins AL, Prabhakar BS. Detection of proviral sequences in saliva of patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991; 7:343–347.
- Page-Shafer K, Sweet S, Kassaye S, Ssali C. (C2) Saliva, breast milk, and mucosal fluids in HIV transmission. *Adv Dent Res* 2006; 19:152–157.
- Dassey D, Detels R, Visscher B, Rozenbaum W, Gharakhanian S, Gardon B, et al. HIV and orogenital transmission. *Lancet* 1988; 332:1023–1024.
- Winkelstein W Jr, Lyman DM, Padian N, Grant R, Samuel M, Wiley JA, et al. Sexual practices and risk of infection by the human immunodeficiency virus. The San Francisco Men's Health Study. *JAMA* 1987; 257:321–325.
- Shugars DC, Wahl SM. The role of the oral environment in HIV-1 transmission. *J Am Dent Assoc* 1998; 129:851–858.
- DeGruttola V, Mayer KH. Human immunodeficiency virus and oral intercourse. *Ann Intern Med* 1987; 107:428–429.
- Schacker T, Collier AC, Hughes J, Shea T, Corey L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1996; 125:257–264.
- Page-Shafer K, Shiboski CH, Osmond DH, Dille J, McFarland W, Shiboski SC, et al. Risk of HIV infection attributable to oral sex among men who have sex with men and in the population of men who have sex with men. *AIDS* 2002; 16:2350–2352.

- Scully C, Porter S. HIV topic update: oro-genital transmission of HIV. *Oral Dis* 2000; 6:92–98.
- Campo J, Perea MA, del Romero J, Cano J, Hernando V, Bascones A. Oral transmission of HIV, reality or fiction? An update. *Oral Dis* 2006; 12:219–228.
- Levy JA, Greenspan D. HIV in saliva. *Lancet* 1988; 2:1248.
- Ho DD, Byington RE, Schooley RT, Flynn T, Rota TR, Hirsch MS. Infrequency of isolation of HTLV-III virus from saliva in AIDS. *N Engl J Med* 1985; 313:1606.
- Barr CE, Miller LK, Lopez MR, Croxson TS, Schwartz SA, Denman H, Jandorek R. Recovery of infectious HIV-1 from whole saliva. *J Am Dent Assoc* 1992; 123:36–37; 39–48; discussion 38.
- John-Stewart GC. Infant feeding and prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; 3:173–179.
- Richardson BA, John-Stewart GC, Hughes JP, Nduati R, Mbori-Ngacha D, Overbaugh J, Kreiss JK. Breast-milk infectivity in human immunodeficiency virus type 1-infected mothers. *J Infect Dis* 2003; 187:736–740.
- Farquhar C, VanCott TC, Mbori-Ngacha DA, Horani L, Bosire RK, Kreiss JK, et al. Salivary secretory leukocyte protease inhibitor is associated with reduced transmission of human immunodeficiency virus type 1 through breast milk. *J Infect Dis* 2002; 186:1173–1176.
- Wahl SM, McNeely TB, Janoff EN, Shugars D, Worley P, Tucker C, Orenstein JM. Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in mucosal fluids inhibits HIV-1. *Oral Dis* 1997; 3 (Suppl 1):S64–S69.
- Alvarez R, Reading J, King DF, Hayes M, Easterbrook P, Farzaneh F, et al. WFDC1/ps20 is a novel innate immunomodulatory signature protein of human immunodeficiency virus (HIV)-permissive CD4R CD45ROR memory T cells that promotes infection by upregulating CD54 integrin expression and is elevated in HIV type 1 infection. *J Virol* 2008; 82:471–486.
- Walter J, Kuhn L, Aldrovandi GM. Advances in basic science understanding of mother-to-child HIV-1 transmission. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; 3:146–150.
- Hussain LA, Lehner T. Comparative investigation of Langerhans' cells and potential receptors for HIV in oral, genitourinary and rectal epithelia. *Immunology* 1995; 85:475–484.
- Stoddard E, Ni H, Cannon G, Zhou C, Kallenbach N, Malamud D, Weissman D. gp340 promotes transcytosis of human immunodeficiency virus type 1 in genital tract-derived cell lines and primary endocervical tissue. *J Virol* 2009; 83:8596–8603.
- Smith PD, Roberts CM. American College Health Association annual Pap test and sexually transmitted infection survey: 2006. *J Am Coll Health* 2009; 57:389–394.
- Tudor D, Derrien M, Diomedede L, Drillet AS, Houimel M, Moog C, et al. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(R) cell infection: an IgA gene and functional analysis. *Mucosal Immunol* 2009; 2:412–426.
- Moutsopoulos NM, Nares S, Nikitakis N, Rangel Z, Wen J, Munson P, et al. Tonsil epithelial factors may influence oropharyngeal human immunodeficiency virus transmission. *Am J Pathol* 2007; 171:571–579.
- Liu X, Zha J, Chen H, Nishitani J, Camargo P, Cole SW, Zack JA. Human immunodeficiency virus type 1 infection and replication in normal human oral keratinocytes. *J Virol* 2003; 77:3470–3476.
- Kumar RB, Maher DM, Herzberg MC, Southern PJ. Expression of HIV receptors, alternate receptors and co-receptors on tonsillar epithelium: implications for HIV binding and primary oral infection. *Virol J* 2006; 3:25.
- Mora JR, Bono MR, Manjunath N, Weninger W, Cavanagh LL, Roseblatt M, Von Andrian UH. Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells. *Nature* 2003; 424:88–93.
- Arthos J, Cicala C, Martinelli E, Macleod K, Van Ryk D, Wei D, et al. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin alpha-

- 4beta7, the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nat Immunol* 2008; 9:301–309.
30. Haase AT. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:783–792.
 31. McGhee JR, Mestecky J, Dertzbaugh MT, Eldridge JH, Hirasawa M, Kiyono H. The mucosal immune system: from fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine* 1992; 10:75–88.
 32. Lehner T, Wang Y, Pido-Lopez J, Whittall T, Bergmeier LA, Babaahmady K. The emerging role of innate immunity in protection against HIV-1 infection. *Vaccine* 2008; 26:2997–3001.
 33. Peng G, Lei KJ, Jin W, Greenwell-Wild T, Wahl SM. Induction of APOBEC3 family proteins, a defensive maneuver underlying interferon-induced anti-HIV-1 activity. *J Exp Med* 2006; 203:41–46.
 34. Peng G, Greenwell-Wild T, Nares S, Jin W, Lei KJ, Rangel ZG, et al. Myeloid differentiation and susceptibility to HIV-1 are linked to APOBEC3 expression. *Blood* 2007; 110:393–400.
 35. Greenwell-Wild T, Vazquez N, Jin W, Rangel Z, Munson P, Wahl SM. IL-27 inhibition of HIV-1 involves an intermediate induction of type I IFN. *Blood* 2009; 114:1864–1874.
 36. Devine DA. Antimicrobial peptides in defence of the oral and respiratory tracts. *Mol Immunol* 2003; 40:431–443.
 37. Thibault S, Fromentin R, Tardif MR, Tremblay MJ. TLR2 and TLR4 triggering exerts contrasting effects with regard to HIV-1 infection of human dendritic cells and subsequent virus transfer to CD4R T cells. *Retrovirology* 2009; 6:42.
 38. Yurochko AD, Huong SM, Huang ES. Identification of human cytomegalovirus target sequences in the human immunodeficiency virus long terminal repeat. Potential role of IE2-86 binding to sequences between -120 and -20 in promoter transactivation. *J Hum Virol* 1999; 2:81–90.
 39. Mercader M, Nickoloff BJ, Foreman KE. Induction of human immunodeficiency virus 1 replication by human herpesvirus 8. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125:785–789.
 40. Tomas MS, Claudia Otero M, Ocana V, Elena Nader-Macias M. Production of antimicrobial substances by lactic acid bacteria I: determination of hydrogen peroxide. *Methods Mol Biol* 2004; 268:337–346.
 41. Fultz PN. Components of saliva inactivate human immunodeficiency virus. *Lancet* 1986; 2:1215.
 42. Fox PC, Wolff A, Yeh CK, Atkinson JC, Baum BJ. Salivary inhibition of HIV-1 infectivity: functional properties and distribution in men, women, and children. *J Am Dent Assoc* 1989; 118:709–711.
 43. McNeely TB, Shugars DC, Rosendahl M, Tucker C, Eisenberg SP, Wahl SM. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 infectivity by secretory leukocyte protease inhibitor occurs prior to viral reverse transcription. *Blood* 1997; 90:1141–1149.
 44. McNeely TB, Dealy M, Dripps DJ, Orenstein JM, Eisenberg SP, Wahl SM. Secretory leukocyte protease inhibitor: a human saliva protein exhibiting antihuman immunodeficiency virus 1 activity in vitro. *J Clin Invest* 1995; 96:456–464.
 45. Ma G, Greenwell-Wild T, Lei K, Jin W, Swisher J, Hardegen N, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor binds to annexin II, a cofactor for macrophage HIV-1 infection. *J Exp Med* 2004; 200:1337–1346.
 46. Nagashunmugam T, Malamud D, Davis C, Abrams WR, Friedman HM. Human submandibular saliva inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection by displacing envelope glycoprotein gp120 from the virus. *J Infect Dis* 1998; 178:1635–1641.
 47. Wu Z, Golub E, Abrams WR, Malamud D. gp340 (SAG) binds to the V3 sequence of gp120 important for chemokine receptor interaction. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20:600–607.
 48. Wu Z, Lee S, Abrams W, Weissman D, Malamud D. The N-terminal SRCR-SID domain of gp-340 interacts with HIV type 1 gp120 sequences and inhibits viral infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:508–515.
 49. Swart PJ, Kuipers ME, Smit C, Pauwels R, deBethune MP, de Clercq E, et al. Antiviral effects of milk proteins: acylation results in polyanionic compounds with potent activity against human immunodeficiency virus types 1 and 2 in vitro. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996; 12:769–775.
 50. Groot F, Geijtenbeek TB, Sanders RW, Baldwin CE, Sanchez-Hernandez M, Floris R, et al. Lactoferrin prevents dendritic cell-mediated human immunodeficiency virus type 1 transmission by blocking the DC-SIGN–gp120 interaction. *J Virol* 2005; 79:3009–3015.
 51. Cummins JE Jr, Denniston M, Mayer KH, Pickard R, Novak RM, Graham P, et al. Mucosal innate immune factors in secretions from high-risk individuals immunized with a bivalent gp120 vaccine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23:748–754.
 52. Berkhout B, van Wamel JL, Beljaars L, Meijer DK, Visser S, Floris R. Characterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antiviral Res* 2002; 55:341–355.
 53. Lee-Huang S, Maiorov V, Huang PL, Ng A, Lee HC, Chang YT, et al. Structural and functional modeling of human lysozyme reveals a unique nonapeptide, HL9, with anti-HIV activity. *Biochemistry* 2005; 44:4648–4655.
 54. Crombie R, Silverstein RL, MacLow C, Pearce SF, Nachman RL, Lawrence J. Identification of a CD36-related thrombospondin 1-binding domain in HIV-1 envelope glycoprotein gp120: relationship to HIV-1-specific inhibitory factors in human saliva. *J Exp Med* 1998; 187:25–35.
 55. Saeland E, de Jong MA, Nabatov AA, Kalay H, Geijtenbeek TB, van Kooyk Y. MUC1 in human milk blocks transmission of human immunodeficiency virus from dendritic cells to T cells. *Mol Immunol* 2009; 46:2309–2316.
 56. Bergey EJ, Cho MI, Blumberg BM, Hammarskjold ML, Rekosh D, Epstein LG, Levine MJ. Interaction of HIV-1 and human salivary mucins. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994; 7:995–1002.
 57. Robinovitch MR, Ashley RL, Iversen JM, Vigoren EM, Oppenheim FG, Lamkin M. Parotid salivary basic proline-rich proteins inhibit HIV-1 infectivity. *Oral Dis* 2001; 7:86–93.
 58. Venkataraman N, Cole AL, Ruchala P, Waring AJ, Lehrer RI, Stuchlik O, et al. Reawakening retrocyclins: ancestral human defensins active against HIV-1. *PLoS Biol* 2009; 7:e95.
 59. Quinones-Mateu ME, Lederman MM, Feng Z, Chakraborty B, Weber J, Rangel HR, et al. Human epithelial beta-defensins 2 and 3 inhibit HIV-1 replication. *AIDS* 2003; 17:F39–F48.
 60. Furci L, Sironi F, Tolazzi M, Vassena L, Lusso P. Alpha-defensins block the early steps of HIV-1 infection: interference with the binding of gp120 to CD4. *Blood* 2007; 109:2928–2935.
 61. Yamaguchi Y, Semmel M, Stanislawski L, Strosberg AD, Stanislawski M. Virucidal effects of glucose oxidase and peroxidase or their protein conjugates on human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:26–31.
 62. Xie H, Belogortseva NI, Wu J, Lai WH, Chen CH. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 entry by a binding domain of *Porphyromonas gingivalis* gingipain. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3070–3074.
 63. Baron S. Oral transmission of HIV, a rarity: emerging hypotheses. *J Dent Res* 2001; 80:1602–1604.
 64. Cole AM, Cole AL. Antimicrobial polypeptides are key anti-HIV-1 effector molecules of cervicovaginal host defense. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59:27–34.
 65. Chang TL, Klotman ME. Defensins: natural anti-HIV peptides. *AIDS Rev* 2004; 6:161–168.
 66. Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, Tremblay GM. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *Lancet Oncol* 2006; 7:167–174.
 67. Hiemstra PS, Fernie-King BA, McMichael J, Lachmann PJ, Sallenave JM. Antimicrobial peptides: mediators of innate immunity as templates for the development of novel anti-infective and immune therapeutics. *Curr Pharm Des* 2004; 10:2891–2905.
 68. Zhu J, Nathan C, Jin W, Sim D, Ashcroft GS, Wahl SM, et al. Conversion of proepithelin to epithelins: roles of SLPI and elastase in host defense and wound repair. *Cell* 2002; 111:867–878.

69. Zhang Y, DeWitt DL, McNeely TB, Wahl SM, Wahl LM. Secretory leukocyte protease inhibitor suppresses the production of monocyte prostaglandin H synthase-2, prostaglandin E2, and matrix metalloproteinases. *J Clin Invest* 1997; 99:894–900.
70. Song X, Zeng L, Jin W, Thompson J, Mizel DE, Lei K, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor suppresses the inflammation and joint damage of bacterial cell wall-induced arthritis. *J Exp Med* 1999; 190:535–542.
71. Ashcroft GS, Lei K, Jin W, Longenecker G, Kulkarni AB, Greenwell-Wild T, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med* 2000; 6:1147–1153.
72. Angelov N, Moutsopoulos N, Jeong MJ, Nares S, Ashcroft G, Wahl SM. Aberrant mucosal wound repair in the absence of secretory leukocyte protease inhibitor. *Thromb Haemost* 2004; 92:288–297.
73. Wahl SM, Worley P, Jin W, McNeely TB, Eisenberg S, Fasching C, et al. Anatomic dissociation between HIV-1 and its endogenous inhibitor in mucosal tissues. *Am J Pathol* 1997; 150:1275–1284.
74. Thompson RC, Ohlsson K. Isolation, properties, and complete amino acid sequence of human secretory leukocyte protease inhibitor, a potent inhibitor of leukocyte elastase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83:6692–6696.
75. Jacobsen LC, Sorensen OE, Cowland JB, Borregaard N, Theilgaard-Monch K. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and the secondary granule protein lactoferrin are synthesized in myelocytes, colocalize in subcellular fractions of neutrophils, and are coreleased by activated neutrophils. *J Leukoc Biol* 2008; 83:1155–1164.
76. Fakioglu E, Wilson SS, Mesquita PM, Hazrati E, Cheshenko N, Blaho JA, Herold BC. Herpes simplex virus downregulates secretory leukocyte protease inhibitor: a novel immune evasion mechanism. *J Virol* 2008; 82:9337–9344.
77. Rocha LA, Vargas PA, Silva LF, Leon JE, Santos AB, Hiemstra PS, Mauad T. Expression of secretory leukocyte proteinase inhibitor in the submandibular glands of AIDS patients. *Oral Dis* 2008; 14:82–88.
78. Mitchell CM, Balkus J, Agnew KJ, Cohn S, Luque A, Lawler R, et al. Bacterial vaginosis, not HIV, is primarily responsible for increased vaginal concentrations of proinflammatory cytokines. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008; 24:667–671.
79. Chattopadhyay A, Gray LR, Patton LL, Caplan DJ, Slade GD, Tien HC, Shugars DC. Salivary secretory leukocyte protease inhibitor and oral candidiasis in human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *Infect Immun* 2004; 72:1956–1963.
80. Jana NK, Gray LR, Shugars DC. Human immunodeficiency virus type 1 stimulates the expression and production of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral epithelial cells: a role for SLPI in innate mucosal immunity. *J Virol* 2005; 79:6432–6440.
81. King AE, Morgan K, Sallenave JM, Kelly RW. Differential regulation of secretory leukocyte protease inhibitor and elafin by progesterone. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310:594–599.
82. Sallenave JM, Si Tahar M, Cox G, Chignard M, Gaudie J. Secretory leukocyte proteinase inhibitor is a major leukocyte elastase inhibitor in human neutrophils. *J Leukoc Biol* 1997; 61:695–702.
83. Pillay K, Coutsoudis A, Agadzi-Naqvi AK, Kuhn L, Coovadia HM, Janoff EN. Secretory leukocyte protease inhibitor in vaginal fluids and perinatal human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J Infect Dis* 2001; 183:653–656.
84. Kazmi SH, Naglik JR, Sweet SP, Evans RW, O'Shea S, Banatvala JE, Challacombe SJ. Comparison of human immunodeficiency virus type 1-specific inhibitory activities in saliva and other human mucosal fluids. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13:1111–1118.
85. Morel E, Gruenberg J. Annexin A2 binding to endosomes and functions in endosomal transport are regulated by tyrosine 23 phosphorylation. *J Biol Chem* 2009; 284:1604–1611.
86. Miyauchi K, Kim Y, Latinovic O, Morozov V, Melikyan GB. HIV enters cells via endocytosis and dynamin-dependent fusion with endosomes. *Cell* 2009; 137:433–444.
87. Callahan MK, Popernack PM, Tsutsui S, Truong L, Schlegel RA, Henderson AJ. Phosphatidylserine on HIV envelope is a co-factor for infection of monocytic cells. *J Immunol* 2003; 170:4840–4845.
88. Orenstein JM, Meltzer MS, Phipps T, Gendelman HE. Cytoplasmic assembly and accumulation of human immunodeficiency virus types 1 and 2 in recombinant human colony-stimulating factor-1-treated human monocytes: an ultrastructural study. *J Virol* 1988; 62:2578–2586.
89. Ryzhova EV, Vos RM, Albright AV, Harrist AV, Harvey T, Gonzalez-Scarano F. Annexin 2: a novel human immunodeficiency virus type 1 Gag binding protein involved in replication in monocyte-derived macrophages. *J Virol* 2006; 80:2694–2704.
90. Verani A, Gras G, Pancino G. Macrophages and HIV-1: dangerous liaisons. *Mol Immunol* 2005; 42:195–212.
91. Shugars DC, Sauls DL, Weinberg JB. Secretory leukocyte protease inhibitor blocks infectivity of primary monocytes and mononuclear cells with both monocytoprotropic and lymphocytoprotropic strains of human immunodeficiency virus type I. *Oral Dis* 1997; 3 (Suppl 1):S70–S72.
92. Hocini H, Becquart P, Bouhlal H, Adle-Biasette H, Kazatchkine MD, Belec L. Secretory leukocyte protease inhibitor inhibits infection of monocytes and lymphocytes with human immunodeficiency virus type 1 but does not interfere with transcytosis of cell-associated virus across tight epithelial barriers. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7:515–518.
93. Py B, Basmaciogullari S, Bouchet J, Zarka M, Moura IC, Benhamou M, et al. The phospholipid scramblases 1 and 4 are cellular receptors for the secretory leukocyte protease inhibitor and interact with CD4 at the plasma membrane. *PLoS One* 2009; 4:e5006.
94. Nabel G, Baltimore D. An inducible transcription factor activates expression of human immunodeficiency virus in T cells. *Nature* 1987; 326:711–713.
95. Taggart CC, Cryan SA, Weldon S, Gibbons A, Greene CM, Kelly E, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor binds to NF-kappaB binding sites in monocytes and inhibits p65 binding. *J Exp Med* 2005; 202:1659–1668.
96. Zhu J, Nathan C, Ding A. Suppression of macrophage responses to bacterial lipopolysaccharide by a nonsecretory form of secretory leukocyte protease inhibitor. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1451:219–223.
97. McElvaney NG, Doujaiji B, Moan MJ, Burnham MR, Wu MC, Crystal RG. Pharmacokinetics of recombinant secretory leukocyte protease inhibitor aerosolized to normals and individuals with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1056–1060.
98. Rundegren J. Calcium-dependent salivary agglutinin with reactivity to various oral bacterial species. *Infect Immun* 1986; 53:173–178.
99. Demuth DR, Lammey MS, Huck M, Lally ET, Malamud D. Comparison of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* receptors for human salivary agglutinin. *Microb Pathog* 1990; 9:199–211.
100. Demuth DR, Golub EE, Malamud D. Streptococcal–host interactions. Structural and functional analysis of a *Streptococcus sanguis* receptor for a human salivary glycoprotein. *J Biol Chem* 1990; 265:7120–7126.
101. Bikker FJ, Ligtenberg AJ, End C, Renner M, Blaich S, Lyer S, et al. Bacteria binding by DMBT1/SAG/gp-340 is confined to the VEV-LXXXW motif in its scavenger receptor cysteine-rich domains. *J Biol Chem* 2004; 279:47699–47703.
102. Loimaranta V, Jakubovics NS, Hytonen J, Finne J, Jenkinson HF, Stromberg N. Fluid- or surface-phase human salivary scavenger protein gp340 exposes different bacterial recognition properties. *Infect Immun* 2005; 73:2245–2252.
103. Prakobphol A, Xu F, Hoang VM, Larsson T, Bergstrom J, Johansson I, et al. Salivary agglutinin, which binds *Streptococcus mutans* and *Helicobacter pylori*, is the lung scavenger receptor cysteine-rich protein gp-340. *J Biol Chem* 2000; 275:39860–39866.
104. Vijayakumar S, Takito J, Gao X, Schwartz GJ, Al-Awqati Q. Differentiation of columnar epithelia: the hensin pathway. *J Cell Sci* 2006; 119:4797–4801.

105. Kang W, Reid KB. DMBT1, a regulator of mucosal homeostasis through the linking of mucosal defense and regeneration? *FEBS Lett* 2003; 540:21–25.
106. Conde AR, Martins AP, Brito M, Manuel A, Ramos S, Malta-Vacas J, et al. DMBT1 is frequently downregulated in well differentiated gastric carcinoma but more frequently upregulated across various gastric cancer types. *Int J Oncol* 2007; 30:1441–1446.
107. Sarrias MR, Gronlund J, Padilla O, Madsen J, Holmskov U, Lozano F. The scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) domain: an ancient and highly conserved protein module of the innate immune system. *Crit Rev Immunol* 2004; 24:1–37.
108. Holmskov U, Mollenhauer J, Madsen J, Vitved L, Gronlund J, Tornøe I, et al. Cloning of gp-340, a putative opsonin receptor for lung surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:10794–10799.
109. Hohenester E, Sasaki T, Timpl R. Crystal structure of a scavenger receptor cysteine-rich domain sheds light on an ancient superfamily. *Nat Struct Biol* 1999; 6:228–232.
110. Ligtenberg AJ, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV, Mollenhauer J. Salivary agglutinin/glycoprotein-340/DMBT1: a single molecule with variable composition and with different functions in infection, inflammation and cancer. *Biol Chem* 2007; 388:1275–1289.
111. Cannon G, Yi Y, Ni H, Stoddard E, Scales DA, Van Ryk DI, et al. HIV envelope binding by macrophage-expressed gp340 promotes HIV-1 infection. *J Immunol* 2008; 181:2065–2070.
112. Malamud D, Nagashunmugam T, Davis C, Kennedy S, Abrams WR, Kream R, Friedman HM. Inhibition of HIV infectivity by human saliva. *Oral Dis* 1997; 3 (Suppl 1):S58–S63.
113. White MR, Crouch E, van Eijk M, Hartshorn M, Pemberton L, Tornøe I, et al. Cooperative anti-influenza activities of respiratory innate immune proteins and neuraminidase inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288:L831–L840.
114. Wu Z, Van Ryk D, Davis C, Abrams WR, Chaiken I, Magnani J, Malamud D. Salivary agglutinin inhibits HIV type 1 infectivity through interaction with viral glycoprotein 120. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19:201–209.
115. Nagashunmugam T, Friedman HM, Davis C, Kennedy S, Goldstein LT, Malamud D. Human submandibular saliva specifically inhibits HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1997; 13:371–376.
116. Malamud D, Christensen CM, Navazesh M, Davis C. Bacterial agglutinin activity in the saliva of human identical and fraternal twins. *Arch Oral Biol* 1988; 33:801–805.
117. Takano K, Malamud D, Bennick A, Oppenheim F, Hand AR. Localization of salivary proteins in granules of human parotid and submandibular acinar cells. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4:399–405.
118. Takano K, Bogert M, Malamud D, Lally E, Hand AR. Differential distribution of salivary agglutinin and amylase in the Golgi apparatus and secretory granules of human salivary gland acinar cells. *Anat Rec* 1991; 230:307–318.
119. Bikker FJ, Ligtenberg AJ, van der Wal JE, van den Keijbus PA, Holmskov U, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Immunohistochemical detection of salivary agglutinin/gp-340 in human parotid, submandibular, and labial salivary glands. *J Dent Res* 2002; 81:134–139.
120. Cummins JE, Christensen L, Lennox JL, Bush TJ, Wu Z, Malamud D, et al. Mucosal innate immune factors in the female genital tract are associated with vaginal HIV-1 shedding independent of plasma viral load. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:788–795.
121. Stoddard E, Cannon G, Ni H, Kariko K, Capodici J, Malamud D, Weissman D. gp340 expressed on human genital epithelia binds HIV-1 envelope protein and facilitates viral transmission. *J Immunol* 2007; 179:3126–3132.
122. Fichorova RN, Rheinwald JG, Anderson DJ. Generation of papillomavirus-immortalized cell lines from normal human ectocervical, endocervical, and vaginal epithelium that maintain expression of tissue-specific differentiation proteins. *Biol Reprod* 1997; 57:847–855.
123. Bobardt MD, Chatterji U, Selvarajah S, Van der Schueren B, David G, Kahn B, Gallay PA. Cell-free human immunodeficiency virus type 1 transcytosis through primary genital epithelial cells. *J Virol* 2007; 81:395–405.

AIDS

Том 3 • №1 • Январь – март 2010

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

-
- 17 **Исследование MONET: применение дарунавира/ритонавира с аналогами нуклеозидов или без них для лечения пациентов с уровнем РНК ВИЧ менее 50 копий/мл**
Jose R. Arribas, Andrzej Horban, Jan Gerstoft, Gerdt Fatkenheuer, Mark Nelson, Nathan Clumeck, Federico Pulido, Andrew Hill, Yvon van Delft, Thomas Stark, Christiane Moecklinghoff
- 26 **Антиретровирусная монотерапия: следует ли отступать от принципов успешной антиретровирусной терапии?**
Manuel Battegay, Heiner C. Bucher
- 29 **Обогащение рациона питания уридином препятствует развитию периферической нейропатии и энцефалопатии в ходе антиретровирусной терапии нуклеозидными аналогами**
Nils Venhoff, Dirk Lebrecht, Catherine Deveaud, Bertrand Beauvoit, Jacques Bonnet, Klaus Muller, Janbernd Kirschner, Ana C. Venhoff, Ulrich A. Walker
- 38 **Влияние прерывистой антиретровирусной терапии под контролем числа лимфоцитов CD4 на объем жировой ткани и метаболические параметры**
Esteban Martinez, Fehmida Visnegarwala, Birgit Grund, Avis Thomas, Cynthia Gibert, Judith Shlay, Fraser Drummond, Daniel Pearce, Simon Edwards, Peter Reiss, Wafaa El-Sadr, Andrew Carr для исследовательской группы INSIGHT SMART
- 51 **Устойчивость к антиретровирусным препаратам после родов у ВИЧ-1-инфицированных женщин, получавших антиретровирусную терапию во время беременности**
Roger Paredes, Irene Cheng, Daniel R. Kuritzkes, Ruth E. Tuomala для исследовательской группы WITS (Women and Infants Transmission Study)

Исследование MONET: применение дарунавира/ритонавира с аналогами нуклеозидов или без них для лечения пациентов с уровнем РНК ВИЧ менее 50 копий/мл

Jose R. Arribas^a, Andrzej Horban^b, Jan Gerstoft^c, Gerdt Fatkenheuer^d, Mark Nelson^e, Nathan Clumeck^f, Federico Pulido^g, Andrew Hill^h, Yvon van Delftⁱ, Thomas Stark^j, Christiane Moecklinghoff^j

Предпосылки. У больных с низкой вирусной нагрузкой монотерапия дарунавиром/ритонавиром (DRV/r) может поддерживать такую же вирусную супрессию, как и при применении DRV/r с двумя нуклеозидными аналогами.

Методы. 256 больных с вирусной нагрузкой менее 50 копий/мл, сохранявшейся более 24 нед. на фоне текущей антиретровирусной терапии [на основе ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) (43 %) или ингибиторов протеазы (57 %)], были переведены на DRV/r 800/100 мг 1 раз в день либо в качестве монотерапии ($n = 127$), либо в комбинации с двумя нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (НИОТ) ($n = 129$). Терапевтической неудачей считалось выявление вирусной нагрузки более 50 копий/мл в двух последовательных анализах к 48-й неделе или прекращение лечения. Статистическая мощность исследования составила 80 %, что позволило продемонстрировать не меньшую эффективность монотерапии по сравнению с трехкомпонентной схемой ($\delta = -12$ %).

Результаты. 81 % участников исследования были мужчины, 91 % — представители белой расы. Средний возраст больных был 44 года, среднее число лимфоцитов CD4 574/мкл. При проведении первичного анализа эффективности на 48-й неделе в популяции по протоколу уровень РНК ВИЧ < 50 копий/мл отмечен в 86,2 % случаев при монотерапии и в 87,8 % — при использовании трехкомпонентной схемы. В анализе по назначенному лечению (прекращение лечения приравнивалось к терапевтической неудаче) показатель эффективности составил 84,3 % при монотерапии и 85,3 % при трехкомпонентной терапии. В анализе с включением пациентов, прекративших лечение (switch-included analysis), лечение было эффективным в 93,3 % случаев монотерапии и в 95,1 % — комбинированной терапии. Все три сравнительных анализа свидетельствуют о не меньшей эффективности монотерапии DRV/r. Число лимфоцитов CD4 в обеих подгруппах в течение всего исследования оставалось стабильным. У одного больного в каждой подгруппе были обнаружены мутации ВИЧ, связанные с устойчивостью к ингибиторам протеазы, и у одного больного из группы, получавшей тройную схему, — мутация, связанная с устойчивостью к НИОТ. По 9 пациентов из каждой подгруппы выбыли из исследования в связи с развитием побочных явлений или по другим причинам. Никаких непредвиденных проблем с безопасностью препаратов обнаружено не было.

^aHospital la Paz, Madrid, Spain, ^bWarsaw Hospital, Warsaw, Poland, ^cRigshospitalet, Copenhagen, Denmark, ^dUniversitat Koln, Germany, ^eChelsea and Westminster Hospital, London, UK, ^fCHU Saint-Pierre/Maladies Infectieuses, Brussels, Belgium, ^gHopital 12 de Octubre, Madrid, Spain, ^hPharmacology Research Laboratories, University of Liverpool, Liverpool, UK, ⁱJanssen-Cilag EMEA, Tilburg, The Netherlands, ^jJanssen-Cilag EMEA, Neuss, Germany.

Автор, ответственный за переписку: Jose R. Arribas, HIV Unit, Hospital la Paz, Castellana 261 28046, Madrid, Spain.

Tel: +34 91 207 1676; fax: +34 91 729 0033; e-mail: jrribas.hulp@salud.madrid.org

Получено 13 августа 2009 г.; получено с поправками 13 октября 2009 г.; принято в печать 23 октября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e3283348944

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: DRV/r — дарунавир/ритонавир; HCV — вирус гепатита С; НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ — ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

Выводы. В этом исследовании, в котором приняли участие больные с вирусной нагрузкой менее 50 копий/мл, исходно получавшие антиретровирусную терапию и переведенные на монотерапию DRV/г, была продемонстрирована не меньшая эффективность монотерапии DRV/г по сравнению с трехкомпонентной схемой.

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2010, 24:223–230

Ключевые слова: дарунавир/ритонавир, монотерапия, поддерживающая терапия.

Введение

Комбинации двух нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) либо с усиленным ритонавиром ингибитором протеазы, либо с ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы (ННИОТ) рекомендуются в качестве терапии первой линии для лечения ВИЧ-инфекции.^{1,2} Основная задача антиретровирусной терапии — снижение концентрации РНК ВИЧ до уровня менее 50 копий/мл. Современные руководства рекомендуют продолжение комбинированной терапии, состоящей как минимум из трех препаратов, в течение всей жизни, даже после достижения уровня вирусной нагрузки менее 50 копий/мл.^{1,2}

Применение только одного антиретровирусного препарата у пациентов с полной супрессией РНК ВИЧ могло бы привести к повышению переносимости лечения, уменьшению количества принимаемых таблеток и стоимости лечения, а также предотвратить развитие устойчивости к антиретровирусным препаратам других классов. Тем не менее метаанализ предыдущих клинических исследований с применением монотерапии ингибиторами протеазы, главным образом лопинавиром/ритонавиром, показал более высокую частоту терапевтических неудач при монотерапии лопинавиром/ритонавиром по сравнению с трехкомпонентной схемой.³ Однако частота развития устойчивости к лечению при монотерапии ингибиторами протеазы была очень низкой, и у большинства больных с низким уровнем вирусии при монотерапии ингибиторами протеазы удавалось восстановить супрессию вируса за счет усиления терапии аналогами нуклеозидов.^{4,5}

Ингибитор протеазы дарунавир обладает высоким генетическим барьером развития устойчивости⁶ и относительно длительным конечным периодом полувыведения (15 ч) при его комбинации с ритонавиром.¹⁷ В исследовании ARTEMIS проводилась оценка эффективности дарунавира/ритонавира (DRV/г) у больных, ранее не получавших специфического лечения. DRV/г применялся в дозе 800/100 мг 1 раз в день в комбинации с аналогами нуклеозидов тенофовиром и эмтрицитабином. В группе, получавшей DRV/г, супрессия РНК ВИЧ к 96-й неделе была более выраженной, чем в контрольной группе, получавшей лопинавир/ритонавир.⁸ В исследованиях TITAN и POWER был также продемонстрирован более выраженный

вирусологический эффект DRV/г в дозе 600/100 мг по сравнению с другими ингибиторами протеазы при лечении больных, получавших ранее специфическую терапию.^{9,10}

Исследование MONET было разработано для того, чтобы определить, является ли применение DRV/г 1 раз в сутки не менее эффективным, чем трехкомпонентная схема, включающая DRV/г и два аналога нуклеозидов, с использованием уровня вирусной нагрузки РНК ВИЧ < 50 копий/мл в качестве стандартизованного показателя эффективности.

Методы

MONET — это продолжающееся в настоящее время рандомизированное контролируемое открытое исследование III фазы длительностью 144 нед., в котором приняло участие 256 пациентов из 11 европейских стран, России и Израиля. Пациенты отбирались в период с июня 2007 г. по март 2008 г. В исследование вошли больные с уровнем РНК ВИЧ < 50 копий/мл, стабильно получавшие трехкомпонентную схему антиретровирусной терапии как минимум в течение 24 нед. и не имевшие вирусологических неудач с момента начала антиретровирусной терапии.

Пациенты рандомизированно получали DRV/г в дозе 800/100 мг в сутки либо в качестве монотерапии (группа монотерапии), либо в сочетании с двумя НИОТ (группа трехкомпонентной терапии). При рандомизации пациенты были стратифицированы по используемым на момент скрининга препаратам: ННИОТ или усиленные ингибиторы протеазы. Дарунавир назначался в виде таблеток 400 мг, а ритонавир — в мягких желатиновых капсулах 100 мг. Аналоги нуклеозидов в исследовании MONET выбирались самими исследователями и могли быть заменены либо во время скрининга, либо в ходе исследования.

Оценка эффективности и безопасности

Пациенты обследовались во время скрининга, в начале исследования, а также на 4, 12, 24, 36 и 48-й неделях. Частота посещений (каждые 12 нед.) соответствует обычной клинической практике. Уровень РНК ВИЧ в плазме определялся с помощью набора Roche AmpliCor HIV-1 Monitor assay (версия 1.5, Roche Molecular Sys-

tems, США). Генотипический анализ вируса проводился с помощью набора Virco TYPE HIV-1 (Virco BVBA, Бельгия). Генотипическая устойчивость к антиретровирусным препаратам и уровень препаратов в плазме крови оценивались у всех пациентов с концентрацией РНК ВИЧ > 50 копий/мл. Для оценки фенотипической чувствительности вируса к препаратам выполнялось виртуальное фенотипирование. Кроме того, в каждой группе проводился анализ пациентов, имеющих либо мутации устойчивости к ингибиторам протеазы, классифицируемые IAS-USA как главные, либо мутации, связанные с устойчивостью к дарунавиру.¹¹

При выявлении вирусной нагрузки более 50 копий/мл пациент обследовался повторно в течение 2 нед. (подтверждающее обследование) с повторным определением концентрации РНК ВИЧ, устойчивости вируса к препаратам и уровня препаратов в плазме. При выявлении двух последовательных показателей концентрации РНК ВИЧ > 50 копий/мл исследователи могли усилить или изменить схему антиретровирусной терапии. Все пациенты наблюдались вплоть до 48-й недели.

Оценка безопасности включала данные о нежелательных явлениях, результаты лабораторных анализов (биохимический анализ крови, уровень липидов натощак и анализ мочи), данные физикального исследования и антропометрические показатели. Клинические и лабораторные изменения классифицировались с помощью таблиц степени тяжести СПИД-ассоциированных побочных явлений.¹² Независимым комитетом по мониторингу данных был сделан обзор предварительных результатов эффективности и безопасности.

От каждого пациента перед началом исследования было получено письменное информированное согласие. Протоколы исследования были одобрены экспертными советами организаций и органами здравоохранения. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Статистические методы

Исследование MONET было разработано для того, чтобы продемонстрировать не меньшую эффективность монотерапии по сравнению с трехкомпонентной схемой к 48-й неделе, с порогом не меньшей эффективности — 12 %. Статистическая мощность исследования составила 80 %, односторонний уровень статистической значимости равнялся 0,025, общая доля пациентов, ответивших на лечение, составила 90 %, а доля пациентов, исключенных из популяции по протоколу, была равна 10 %. Основным показателем для оценки эффективности — терапевтическая неудача — определялся как выявление концентрации РНК ВИЧ > 50 копий/мл в двух последовательных анализах к 48-й неделе или же прекращение лечения, назначенного при рандомизации (показатель, больше известный как TLOVR — время до потери вирусологического ответа).¹³

При первичном анализе прекращение лечения, классифицируемое как терапевтическая неудача, определялось либо при прекращении приема DRV/г с началом применения аналогов нуклеозидов в группе монотерапии, либо при прекращении приема всех аналогов нук-

леозидов в группе трехкомпонентной терапии. В группе трехкомпонентной терапии пациентам разрешалось менять аналоги нуклеозидов при возникновении токсических эффектов.

Первичный анализ эффективности на 48-й неделе проводился в популяции по протоколу, согласно рекомендациям CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials guidelines):¹⁴ в эту популяцию не вошли больные, имевшие существенные нарушения протокола, такие как наличие в анамнезе вирусологической неудачи лечения, или же больные, при рандомизации которых была допущена ошибка. Затем анализ эффективности был выполнен повторно, но уже в популяции по назначенному лечению (intent-to-treat), которая включала всех пациентов, участвовавших в рандомизации. В анализе, проведенном в популяции по назначенному лечению с включением пациентов, прекративших лечение (ITT — switch-included), у пациентов с уровнем РНК ВИЧ < 50 копий/мл на 48-й неделе лечение считалось успешным, даже если ранее в ходе исследования у них отмечалось повышение уровня РНК ВИЧ или если они прекратили прием препаратов, назначенных при рандомизации.¹⁵ Кроме того, первичные анализы были выполнены повторно, с учетом только вирусологических исходов (анализ наблюдаемых терапевтических неудач).

Роль спонсоров

Исследование было разработано и проведено при финансовой поддержке Janssen-Cilag EMEA Medical Affairs, подразделения Janssen-Cilag International N.V. Статистические анализы проводились независимым специалистом по статистике (Parexel International, Франция) и были пересмотрены и утверждены специалистом по статистике компании Janssen-Cilag (A.H.). Авторы имели полный доступ к данным. Итоговое решение о публикации статьи принималось ответственным автором.

Результаты

Из 293 пациентов, отобранных при скрининге, 256 были рандомизированы, получали лечение (127 больных — DRV/г, 129 больных — трехкомпонентную схему) и были включены в анализ по назначенному лечению (intent-to-treat) (рис. 1). В рандомизации участвовал еще один пациент, однако при его рандомизации была допущена ошибка и лечения он не получал. Этот пациент был исключен из всех анализов. В популяцию по протоколу не вошло 10 пациентов (4 — из группы монотерапии и 6 — из группы трехкомпонентной терапии). У 8 из них в анамнезе имелись указания о вирусологической неудаче лечения до начала исследования, 1 больной попал в тюрьму, и еще один покинул место проведения исследования, не оставив адреса. В популяцию по протоколу вошло 246 пациентов (по 123 в каждой группе). В анализе безопасности учитывались данные всех 256 пациентов популяции по назначенному лечению (intent-to-treat). На рис. 1 показано распределение пациентов в ходе исследования. К 48-й неделе были доступны данные по 255 из 256 пациентов. В группе трехкомпонентной терапии 10 больных в ходе исследования поменяли НИОТ, в основном в связи с развитием побочных эффектов. Однако

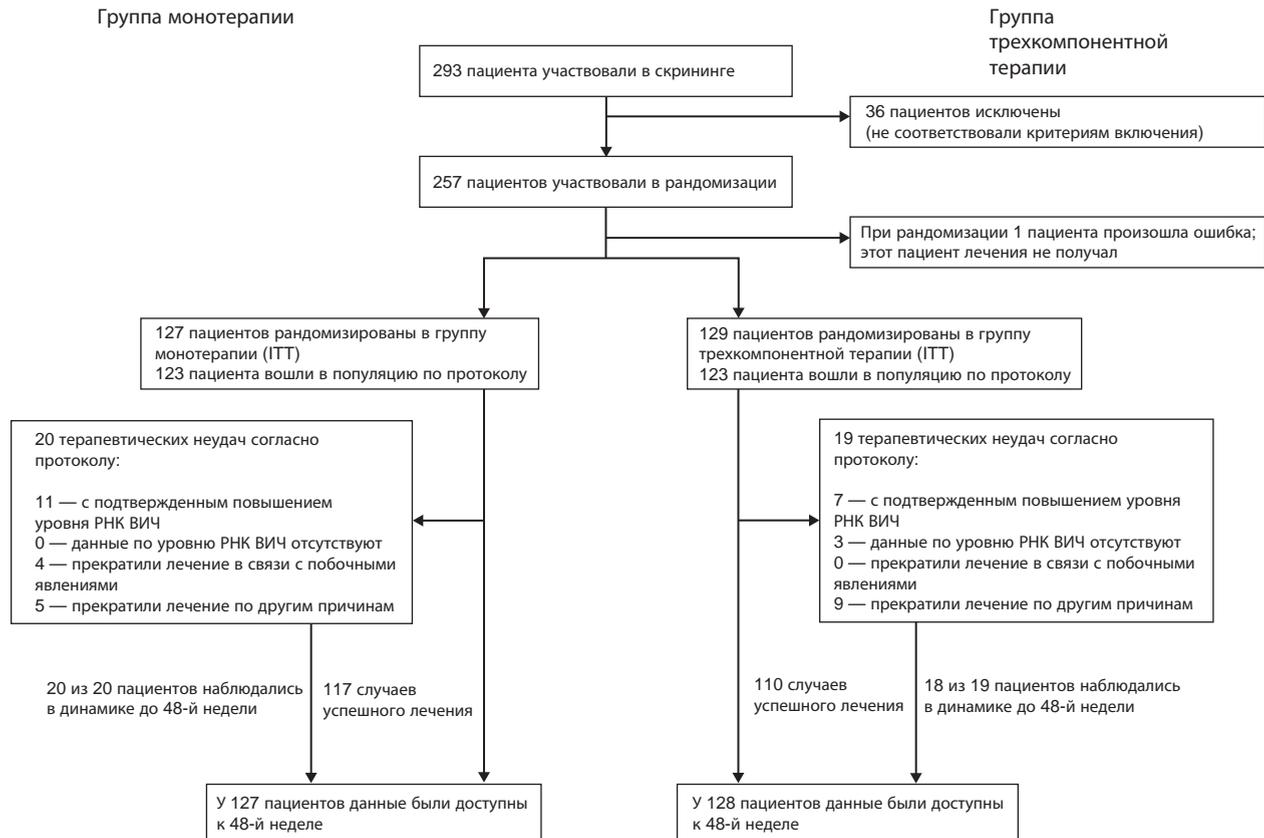


Рис. 1. Схема распределения пациентов в ходе исследования MONET. Первым определяющим фактором терапевтической неудачи по протоколу было подтвержденное повышение уровня РНК ВИЧ. ИТТ — популяция по назначенному лечению.

при проведении анализа они не были расценены как потерпевшие терапевтическую неудачу, поскольку эти изменения были разрешены протоколом.

Исходные характеристики

81 % пациентов были мужчины со средним возрастом 44 года, средней массой тела 73 кг и средним числом лимфоцитов CD4 574/мкл (табл. 1). Медиана длительности диагностированной ВИЧ-инфекции составляла 8 лет, а медиана длительности антиретровирусной терапии — 6,5 года.

На момент скрининга 57 % больных получали лечение ингибиторами протеазы и 43 % — ННИОТ. В группе

трехкомпонентной терапии пациентов, не получавших ранее антиретровирусных препаратов, было больше (36 %), чем в группе монотерапии (23 %). В группе трехкомпонентной терапии пациентов, не получавших ранее ингибиторов протеазы, также было больше (28 %), чем в группе монотерапии (23 %). Результаты анализов на маркеры гепатита С показали наличие антител к вирусу гепатита С у 22 (17 %) больных в группе монотерапии и у 12 (9 %) больных из группы трехкомпонентной терапии. Исходный уровень РНК ВИЧ > 50 копий/мл имели 13 пациентов (9 — в группе монотерапии и 4 — в группе трехкомпонентной терапии), несмотря на то что во время скрининга вирусная нагрузка у них была ниже 50 копий/мл. При этом у 2 из этих больных уровень РНК ВИЧ был выше 400 ко-

Таблица 1. Исходные характеристики в группах лечения (популяция по назначенному лечению)

	Монотерапия (n = 127)	Трехкомпонентная терапия (n = 129)	Всего (n = 256)
Средний возраст, годы	43	44	44
Пол (доля мужчин)	78 %	83 %	81 %
Раса (доля белой расы)	92 %	90 %	91 %
Потребление инъекционных наркотиков, %	16 %	9 %	13 %
Средняя масса тела, кг	72	75	73
Среднее число лимфоцитов CD4, клетки/мкл	571	579	574
Наличие антител к HCV, %	17 %	9 %	13 %
Длительность диагностированной ВИЧ-инфекции, годы	9,1	7,5	8,4
Длительность АРТ, годы	7,4	5,9	6,5
Доля больных, не получавших ингибиторы протеазы на момент скрининга, %	23 %	28 %	25 %
Доля больных, получавших ингибиторы протеазы на момент скрининга, %	56 %	57 %	57 %
Доля больных, получавших ННИОТ на момент скрининга, %	44 %	43 %	43 %

HCV — вирус гепатита С; АРТ — антиретровирусная терапия.

Таблица 2. Доля пациентов с уровнем РНК ВИЧ менее 50 копий/мл на 48-й неделе в популяциях по протоколу (PP) и по назначенному лечению (ITT)

Ответ	Монотерапия, %	Трехкомпонентная терапия, %	δ (95% ДИ)
РНК ВИЧ < 50 (PP)	86,2	87,8	-1,6 % (-10,1 ... +6,8 %)
РНК ВИЧ < 50 (ITT)	84,3	85,3	-1,0 % (-9,9 ... + 8,8 %)
РНК ВИЧ < 50 (S = I)	93,5	95,1	-1,6 % (-7,4 ... + 4,2 %)
РНК ВИЧ < 50 (OF)	91,3	94,6	-3,2 % (-9,5 ... +3,1 %)
РНК ВИЧ < 200 (OF)	97,6	98,4	-0,8 % (-4,2 ... +2,6 %)

OF (observed failure) — наблюдаемая неудача, включавшая только вирусологические исходы; S = I — анализ с включением пациентов, прекративших лечение, в который вошли только данные, полученные на 48-й неделе; 95% ДИ — 95%-й доверительный интервал.

пий/мл. Эти больные, тем не менее, были включены как в анализ по назначенному лечению, так и в анализ по протоколу.

Аналоги нуклеозидов, применявшиеся до начала исследования, включали тенофовир и эмтрицитабин (46 %), тенофовир и ламивудин (7 %), абакавир и ламивудин (31 %), зидовудин и ламивудин (10 %) или другие комбинации (6 %).

Эффективность

При первичном анализе эффективности в популяции по протоколу (в котором прекращение лечения приравнивалось к терапевтической неудаче) концентрация РНК ВИЧ < 50 копий/мл на 48-й неделе определялась в 86,2 % случаев в группе монотерапии vs 87,8 % в группе трехкомпонентной терапии (табл. 2, рис. 2). В популяции по назначенному лечению (в которой прекращение лечения также приравнивалось к терапевтической неудаче) у 84,3 % пациентов из группы монотерапии и 85,3 % — из группы трехкомпонентной терапии концентрация РНК ВИЧ на 48-й неделе была ниже 50 копий/мл. Оба сравнительных анализа соответствовали заранее определенным критериям не меньшей эффективности монотерапии по сравнению с трехкомпонентной схемой. В популяции по назначенному лечению с включением пациентов, прекративших лечение, у 93,5 % больных в группе монотерапии и у 95,1 % — в группе трехкомпонентной терапии к 48-й неделе определялся уровень РНК ВИЧ < 50 копий/мл. В двух анализах наблюдаемых терапевтических неудач, включавших только вирусологические исходы (см. табл. 2), частота вирусной суп-

рессии составила более 90 % в обеих группах. Медиана числа лимфоцитов CD4 в ходе всего исследования оставалась стабильной в обеих группах.

Терапевтические неудачи

В табл. 3–6 показаны исходы по каждому пациенту с терапевтическими неудачами, определенными протоколом. Из 20 пациентов с терапевтическими неудачами в группе монотерапии у 18 (90 %) уровень РНК ВИЧ на 48-й неделе был менее 50 копий/мл (табл. 3 и 4). Из 19 больных с терапевтическими неудачами в группе трехкомпонентной терапии у 17 (89 %) уровень РНК ВИЧ на 48-й неделе или во время последнего визита был менее 50 копий/мл (табл. 5 и 6). Большинство из повторных повышений РНК ВИЧ было преходящим, находилось в диапазоне 50–200 копий/мл и происходило в периоды низкой приверженности к лечению или интеркуррентных инфекций. В группе монотерапии 7 из 11 пациентов с подтвержденными повышениями уровня РНК ВИЧ поменяли схему антиретровирусной терапии, как было рекомендовано в протоколе исследования, либо путем добавления НИОТ, либо путем возвращения к схеме, применявшейся до начала исследования. Ни один из 7 пациентов с подтвержденными повышениями уровня РНК ВИЧ из группы трехкомпонентной терапии не поменял схему антиретровирусной терапии.

При проведении многофакторного анализа было обнаружено, что наличие гепатита С служило важным предрасполагающим фактором повышения уровня РНК

Таблица 3. Подтвержденные случаи повышения уровня РНК ВИЧ: группа монотерапии (n = 11)

Пациент №	Уровень РНК ВИЧ в 2 последовательных анализах, копии/мл	Изменение лечения	Предыдущий уровень РНК ВИЧ, копии/мл
1	140, 133	Нет	< 50
2	59, 214	ZDV/3TC/NVP	< 50
3	132, 139	LPV/r	< 50
4	539, 862	TDF/FTC/EFV	< 50
5	67, 810	Нет	810
6	40 500, 628	Нет	< 50
7	158, 140	ABC/3TC/DRV/r	< 50
8	51, 80	Нет	< 50
9	106, 268	TDF/FTC/DRV/r	< 50
10	722, 157	TDF/FTC/DRV/r	< 50
11	779, 267	ABC/3TC/DRV/r	< 50

3TC — ламивудин; ABC — абакавир; ATV/r — атазанавир/ритонавир; DRV/r — дарунавир/ритонавир; EFV — эфавиренз; FTC — эмтрицитабин; LPV/r — лопинавир/ритонавир; NVP — невирапин; TDF — тенофовир; ZDV — зидовудин.

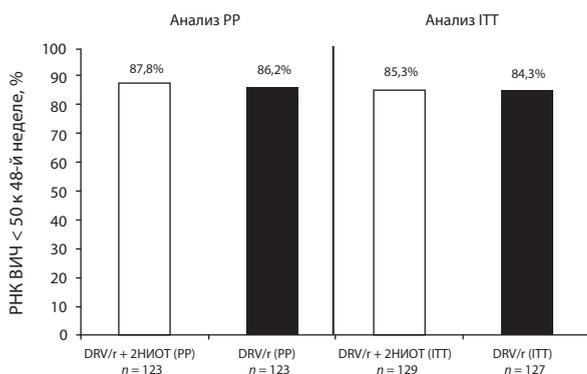


Рис. 2. Первичный анализ эффективности: уровень РНК ВИЧ < 50 копий/мл на 48-й неделе; прекращение лечение приравнивается к терапевтической неудаче. PP — популяция по протоколу; ITT — популяция по назначенному лечению.

Таблица 4. Прекращение участия в исследовании: группа монотерапии (n = 9)

Пациент №	Причина	Изменение лечения	Уровень РНК ВИЧ на 48-й неделе, копии/мл
12	ВН в анамнезе	ABC/3ТС/ATV/r	< 50
13	Побочные явления	TDF/3ТС/EFV	< 50
14	По решению исследователя	TDF/FTC/LPV/r	< 50
15	Побочные явления	ABC/3ТС/NVP	< 50
16	Побочные явления	ABC/3ТС/ATV/r	< 50
17	Отзыв согласия	ZDV/3ТС/EFV	< 50
18	ВН в анамнезе	Нет	< 50
19	Побочные явления	Отмена всех АРП	> 75 000
20	Заключение в тюрьму	Нет	< 50

3ТС — ламивудин; ABC — абакавир; ATV/r — атазанавир/ритонавир; DRV/r — дарунавир/ритонавир; EFV — эфавиренз; FTC — эмтрицитабин; LPV/r — лопинавир/ритонавир; NVP — невирапин; TDF — тенофовир; ZDV — зидовудин; АРП — антиретровирусные препараты; ВН — вирусологическая неудача.

Таблица 5. Подтвержденные случаи повышения уровня РНК ВИЧ: группа трехкомпонентной терапии (n = 7)

Пациент №	Уровень РНК ВИЧ в 2 последовательных анализах, копии/мл	Изменение лечения	Предыдущий уровень РНК ВИЧ, копии/мл
1	294, 116	Нет	< 50
2	54 000, 3400	Нет	< 50
3	78, 50	Нет	< 50
4	164, 67	Нет	< 50
5	989, 59	Нет	< 50
6	746, 2230	Нет	2230
7	128, 548	Нет	< 50

3ТС — ламивудин; ABC — абакавир; ATV/r — атазанавир/ритонавир; DRV/r — дарунавир/ритонавир; EFV — эфавиренз; FTC — эмтрицитабин; LPV/r — лопинавир/ритонавир; NVP — невирапин; TDF — тенофовир; ZDV — зидовудин.

ВИЧ ($p < 0,01$). В начале исследования в группе DRV/r большее количество пациентов имели антитела к вирусу гепатита С (17 %), чем в контрольной группе (9 %). Среди пациентов, имеющих только ВИЧ-инфекцию, частота выявления концентрации РНК ВИЧ < 50 ко-

пий/мл на 48-й неделе составила 89,2 % в группе монотерапии vs 88,2 % в группе трехкомпонентной терапии. Среди пациентов, у которых имелись антитела и к ВИЧ, и к HCV, доля больных с вирусной нагрузкой менее 50 копий/мл на 48-й неделе составила 71 % в группе монотерапии vs 83,3 % в группе трехкомпонентной терапии. Дополнительно у 2 пациентов (в группе монотерапии) в ходе исследования развился острый гепатит С, у обоих в период острой инфекции отмечалось повышение уровня РНК ВИЧ.

Лекарственная устойчивость

Данные генотипического анализа были доступны у 35 (57 %) из 61 пациента, имевшего как минимум один результат концентрации РНК ВИЧ > 50 копий/мл (22 и 13 пациентов в группах монотерапии и трехкомпонентной терапии соответственно). У 33 из этих пациентов была выявлена генотипическая и фенотипическая чувствительность ко всем усиленным ингибиторам протеазы и НИОТ. У одного больного из группы трехкомпонентной терапии, получавшего до начала исследования ингибитор протеазы, обнаружен генотип с одной мутацией, определявшей устойчивость к ламивудину (M184V), и двумя мутациями, определявшими устойчивость к ингибиторам протеазы (V82IT, L90M), при уровне РНК ВИЧ 78 копий/мл. Однако вирус у этого больного был фенотипически чувствителен к DRV/r (кратность изменения ингибиторной концентрации 1,2). Во время всех последующих визитов уровень РНК ВИЧ у него был ниже 50 копий/мл. Кроме него, у одного больного из группы монотерапии, получавшего до начала исследования ингибитор протеазы, была выявлена мутация устойчивости к DRV (L33F), при этом во время одного визита (на 12-й неделе) уровень РНК ВИЧ составил 63 копии/мл. Тем не менее вирус был фенотипически чувствителен к DRV (кратность изменения ингибиторной концентрации 0,8), а уровень РНК ВИЧ у этого пациента был ниже 50 копий/мл во все последующие визиты до 48-й недели.

Безопасность

Никаких новых или неожиданных побочных явлений в ходе исследования зарегистрировано не было, и в большинстве случаев побочные эффекты не требовали прекращения лечения. Серьезные побочные явления

Таблица 6. Прекращение участия в исследовании: группа трехкомпонентной терапии (n = 9)

Пациент №	Причина	Изменение лечения	Уровень РНК ВИЧ на 48-й неделе, копии/мл
8	Отзыв согласия	TDF/FTC/NVP	< 50
9	Отзыв согласия	ZDV/3ТС/NVP	< 50
10	Беременность	ZDV/3ТС/NVP	< 50
11	По решению исследователя	ZDV/3ТС/NVP	< 50
12	Личные причины	TDF/ZDV/3ТС	< 50
13	Беременность	ZDV/3ТС/LPV/r	< 50
14	ВН в анамнезе	Нет	< 50
15	РНК > 50	Нет	Нет данных
16	Переведен на DRV/r	DRV/r	< 50

Еще у 3 пациентов из группы трехкомпонентной терапии данные обследования на 48-й неделе или до этого времени отсутствовали. Эти больные были расценены как потерпевшие терапевтическую неудачу согласно алгоритму TLOVR. У двоих из них уровень РНК ВИЧ на 48-й неделе был ниже 50 копий/мл, а у третьего — РНК ВИЧ < 50 копий/мл во время последнего визита (на 36-й неделе).

3ТС — ламивудин; ABC — абакавир; ATV/r — атазанавир/ритонавир; DRV/r — дарунавир/ритонавир; EFV — эфавиренз; FTC — эмтрицитабин; LPV/r — лопинавир/ритонавир; NVP — невирапин; TDF — тенофовир; ZDV — зидовудин; ВН — вирусологическая неудача.

наблюдались у 18 пациентов (у 9 в каждой подгруппе). Самыми частыми клиническими побочными эффектами II–IV степени тяжести были реакции со стороны ЖКТ. К 48-й неделе 8 пациентов из группы монотерапии и 3 — из группы трехкомпонентной терапии прекратили лечение в связи с развитием побочных явлений. В основном это были явления со стороны ЖКТ. В ходе исследования ни один пациент не умер.

Все неврологические и психические побочные явления тщательно анализировались ввиду проникновения ингибиторов протеазы в ЦНС. Побочные явления I–IV степени со стороны нервной системы наблюдались у 16 % пациентов в каждой группе, тогда как психические расстройства I–IV степени были зарегистрированы у 9 % больных в каждой группе. Один пациент из группы монотерапии прекратил прием даунавира в связи с появлением головной боли III степени, которая была расценена как побочный эффект этого препарата. У одного пациента в каждой группе появилась сыпь II степени, расцененная как побочный эффект терапии, однако ни один из этих больных не прекратил лечения из-за нее.

Наиболее частым нарушением лабораторных показателей было повышение уровня липидов и активности печеночных ферментов. У 6 пациентов из группы монотерапии и 2 — из группы трехкомпонентной терапии наблюдалась III степень повышения активности аланин-аминотрансферазы и/или аспартатаминотрансферазы: у этих больных либо имел место острый гепатит С (2 случая), либо острый гепатит А (1 случай), либо имелись антитела к HCV (5 случаев). У 6 из этих 8 пациентов на 48-й неделе отмечалось транзиторное повышение активности печеночных ферментов не выше I степени. У 5 пациентов из группы монотерапии и у 2 — из группы трехкомпонентной терапии наблюдалось вызванное действием препарата повышение уровня холестерина III степени, сохранявшееся в течение двух последовательных визитов. У больных, которым в начале исследования был назначен тенофовир, было отмечено снижение уровня холестерина в среднем на 0,5 ммоль/л (25 мг/дл), тогда как у больных из группы монотерапии, прекративших прием тенофовира в начале исследования, обнаружено повышение общего холестерина к 4-й неделе.

В группе трехкомпонентной терапии отмечалось больше патологических изменений показателей крови. Так, например, у 42,6 % больных в группе трехкомпонентной терапии был зарегистрирован по крайней мере один анализ крови с показателем числа эритроцитов ниже нижней границы нормы ($< 4,12 \times 10^{12}/л$) vs 22,8 % в группе монотерапии. Патологические изменения в крови были связаны в основном с приемом зидовудина. У больных в группе трехкомпонентной терапии, продолжавших прием зидовудина, отмечалось устойчивое снижение числа эритроцитов, тогда как у больных, прекративших прием зидовудина в начале исследования, число эритроцитов быстро повысилось до показателей у пациентов, получавших другие аналоги нуклеозидов.

Обсуждение

Исследование MONET — первое рандомизированное исследование монотерапии ингибиторами протеазы,

усиленными ритонавиром, в котором показана не меньшая ее эффективность по сравнению с трехкомпонентной схемой. В исследовании MONET использовался стандартный показатель эффективности — подавление вирусной нагрузки до уровня менее 50 копий/мл, с прекращением лечения, классифицируемым как терапевтическая неудача.¹³ В группе монотерапии 18 из 20 пациентов, у которых было выявлено повышение уровня РНК ВИЧ или которые прекратили прием даунавира, впоследствии (на 48-й неделе) был отмечен уровень РНК ВИЧ < 50 копий/мл. Риск развития устойчивости к антиретровирусным препаратам был минимальным. Не меньшая эффективность монотерапии была продемонстрирована, несмотря на менее благоприятные исходные характеристики в этой группе, в частности большее количество больных с гепатитом С, что было независимым фактором риска повышения уровня РНК ВИЧ в ходе исследования. Результаты первичного анализа эффективности были подтверждены несколькими анализами чувствительности, которые также показали не меньшую эффективность монотерапии DRV/г. Повышения уровня РНК ВИЧ были в основном проходящими, находились в диапазоне 50–200 копий/мл и, как правило, не приводили к развитию устойчивости к препарату. Эти незначительные повышения уровня РНК ВИЧ могут быть связаны с временной низкой приверженностью к лечению, наличием интеркуррентных заболеваний или использованием различных ПЦР-наборов для определения РНК ВИЧ.^{16,17} В клинических исследованиях, проводимых Группой клинических исследований СПИДа (AIDS Clinical Trials Group — ACTG) в США, в качестве показателя эффективности в настоящее время стал использоваться уровень РНК ВИЧ 200 копий/мл.¹⁸

В обеих группах основной причиной прекращения лечения DRV/г было развитие побочных явлений со стороны ЖКТ. Исследование MONET не ставило целью продемонстрировать преимущества прекращения лечения аналогами нуклеозидов с точки зрения меньших побочных эффектов. В группе трехкомпонентной терапии НИОТ могли меняться либо в начале, либо в ходе исследования. В исследовании MONET применение зидовудина было связано с более выраженными изменениями показателей крови, что согласуется с предыдущим опытом его использования.¹⁹ При лечении ингибиторами протеазы имеется возможность предотвратить развитие и других побочных явлений. В ходе проведенного недавно сравнительного исследования применения комбинаций тенофовир/эмтрицитабин и абакавир/ламивудин у 360 больных с вирусной супрессией показано, что в группе, получавшей тенофовир, наряду с улучшением показателей крови наблюдалась также выраженная остеопения.²⁰ По данным когортных исследований, применение абакавира может вызывать повышение риска сердечно-сосудистых заболеваний.²¹ В развивающихся странах до сих пор широко используется ставудин, однако его применение может быть связано с развитием липодистрофии и повышением уровня липидов в крови.²² Вирусологические неудачи на фоне антиретровирусной терапии первой линии с применением ННИОТ могут привести к развитию устойчивости к НИОТ и ННИОТ,²³ что можно предотвратить при использовании монотерапии DRV/г.

Существует опасение, что степень проникновения ингибиторов протеазы через гематоэнцефалический барьер

может быть недостаточной для подавления репликации ВИЧ в ЦНС. Тем не менее данные, подтверждающие это, отсутствуют, а концентрация дарунавира в ЦНС превышает EC_{50} .²⁴ В исследовании MONET частота развития неврологических и психических побочных явлений в группе монотерапии и трехкомпонентной терапии была одинаковой, однако для подтверждения этих результатов требуется более длительное наблюдение. В настоящее время проводятся другие клинические исследования монотерапии DRV/г.

В исследовании MONET приняли участие пациенты с уровнем РНК ВИЧ < 50 копий/мл, сохранявшимся к моменту начала исследования в течение 24 нед., у которых затем схема антиретровирусной терапии была изменена. На основании результатов этого исследования невозможно прогнозировать эффективность монотерапии DRV/г в качестве терапии первой линии. В исследовании MONARK попытка применения монотерапии лопинавиром/ритонавиром в качестве терапии первой линии показала отрицательные результаты.²⁵ В исследовании Abbott 613 перевод на монотерапию лопинавиром/ритонавиром после короткого периода неопределяемой вирусной нагрузки оказался менее эффективен по сравнению с высокоактивной антиретровирусной терапией на основе эфавиренза.²⁶ Клинических исследований, посвященных другим усиленным ингибиторам протеазы, на сегодняшний день мало: в двух пилотных исследованиях атазанавира/ритонавира получены противоречивые результаты.^{27,28} В отличие от результатов исследования OK04⁵ недавно начавшееся изучение монотерапии у пациентов с исходной вирусной супрессией было прекращено в связи с высокой частотой вирусологических неудач, находившихся в прямой взаимосвязи с наименьшим значением числа лимфоцитов CD4 в прошлом.²⁹ Успех исследования MONET может быть связан с эффективностью, длительным периодом полувыведения и высокими показателями безопасности дарунавира,⁶⁻⁸ однако его результаты нуждаются в подтверждении в ходе длительного наблюдения в динамике в рамках других клинических исследований.

Подводя итог, отметим, что монотерапия DRV/г с приемом препарата 1 раз в сутки показала не меньшую эффективность в подавлении репликации ВИЧ к 48-й неделе (85,4 %) по сравнению со стандартной схемой антиретровирусной терапии, включающей DRV/г и два аналога нуклеозидов (86,4 %). Практически у всех пациентов из группы монотерапии в исследовании MONET была достигнута полная вирусная супрессия на 48-й неделе. Данная стратегия требует дальнейшего изучения. Тем не менее результаты исследования позволяют предположить, что перевод на монотерапию DRV/г может быть осуществлен у больных, уже получающих антиретровирусную терапию, имеющих на фоне лечения уровень РНК ВИЧ < 50 копий/мл и желающих избежать развития токсических эффектов, связанных с применением НИОТ, ННИОТ и других антиретровирусных препаратов.

Благодарности

Мы выражаем благодарность исследователям, руководителям исследования, руководителям филиалов и отдела обработки данных, а также пациентам за их вклад в работу.

J.R.A. был исследователем от Programa de Intensificación de la Actividad Investigadora en el SNS (I3SNS) 2008, INT07/147.

Спонсоры: компания Janssen-Cilag EMEA. Государственная регистрация: № NCT00458302. Конфликты интересов: J.R.A. получил гонорар за консультирование, грант и гонорар за выступление от компании Janssen Cilag, которая является официальным производителем дарунавира (исследуемого препарата) в Европе.

Участие в исследовании: J.A., T.S., C.M. Y.D. и A.H. принимали участие в разработке дизайна и протокола исследования. J.A., A.H. и C.M. оказали помощь при написании чернового варианта статьи. Все авторы принимали участие в оценке клинических данных исследования, а также в проверке и рецензии статьи. Все исследователи участвовали в отборе пациентов. Статистический анализ выполнен A.H.

Исследовательская группа MONET: Австрия: A. Rieger, B. Gmeinhardt (Вена); N. Vetter, M. Gartner (Вена). Бельгия: N. Clumeck, K. Kabeya (Брюссель); E. Florence, J. Hoste (Антверпен). Дания: J. Gerstoft (Копенгаген), C. Pedersen (Оденс), L. Mathiesen (Видовре). Германия: G. Fatkenheuer, T. Kummerle (Кельн); A. Stoeber, M. Sabranski (Гамбург), H. Schmidt, C. Maug (Берлин); M. Stoll, Y. The (Ганновер); C. Stephan, P. Khaykin (Франкфурт). Венгрия: D. Banhegyi, J. Szlavik (Будапешт). Израиль: S. Maayan, D. Shasha (Иерусалим). Италия: A. Lazzarin, N. Gianotti (Милан); A. Antinori, S. Mosti (Рим); F. Suter, D. Ripamonti (Бергамо); G. Carosi, P. Nasta (Брешия); A. D'Arminio Monforte, T. Bini (Милан). Польша: A. Nogban, P. Pulik (Варшава). Португалия: F. Antunes, M. Doronana (Лиссабон); R. Marques, M. del Carmen Pinero (Порто). Россия: V. Pokrovsky, O. Yurin (Москва); N. Zakharova, Z. Guba (Санкт-Петербург). Испания: B. Clotet, J.R. Santos (Барселона); F. Pulido, S. Fiorante (Мадрид); J. Arribas, M. Montes (Мадрид); J. Gatell, A. Milinkovic (Барселона); J. Iribarren, M. Aramburu (Сан-Себастьян); R. Rubio, J. Llenas (Мадрид); J. Pasquau, C. Garcia (Гранада). Швейцария: P. Vernazza, P. Schmid (Санкт-Галлен). Великобритания: M. Johnson, Z. Cuthbertson (Лондон); B. Peters, M. Perry (Лондон); M. Nelson, C. Higgs (Лондон); A. Winston, L. Garvey (Лондон).

Литература

1. Hammer S, Eron J, Reiss P, Schooley R, Thompson M, Walmsley S, et al. Antiretroviral treatment of Adult HIV infection. 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2008; 300:555–570.
2. European AIDS Clinical Society (EACS). Guidelines for the clinical management of HIV infected adults in Europe. Available at: <http://www.europeanaidscinicalsociety.org/guidelinespdf/EACS-EuroGuidelines12mai09.pdf> (accessed May 2009).
3. Bierman W, van Agtmael M, Nijhuis M, Danner S, Boucher C. HIV monotherapy with ritonavir-boosted protease inhibitors: a systematic review. *AIDS* 2009; 22:1–13.
4. Hill A, Hirschel B, Katlama C. The Monark trial: where now for boosted protease inhibitor monotherapy? *AIDS* 2008; 22:777–779.
5. Pulido F, Arribas J, Delgado R, Cabrero E, Gonzalez-Garcia J, Perez-Elias M, et al. Lopinavir-ritonavir monotherapy versus lopinavir-ritonavir and two nucleosides for maintenance therapy of HIV. *AIDS* 2008; 22:F1–F9.

6. Shen L, Peterson S, Sedaghat A, McMahon M, Callender M, Zhang H, et al. Dose-response curve slope set class-specific limits on inhibitory potential of anti-HIV drugs. *Nat Med* 2008; 14:762–766.
7. Boffito M, Miralles D, Hill A. Pharmacokinetics, efficacy and safety of darunavir/ritonavir 800/100 mg once-daily in treatment-naive and experienced patients. *HIV Clin Trials* 2008; 9:418–427.
8. Mills A, Nelson M, Jayaweera D, Ruxrungtham K, Cassetti I, Girard P, et al. Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir-ritonavir in treatment-naive, HIV-1 infected patients: 96 week analysis of ARTEMIS. *AIDS* 2009; 23:1679–1688.
9. Madruga J, Berger D, McMurchie M, Suter F, Banhegyi D, Ruxrungtham K, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir compared with that of lopinavir-ritonavir at 48 weeks in treatment-experienced, HIV-infected patients in TITAN: a randomized, controlled Phase III trial. *Lancet* 2007; 370:49–58.
10. Clotet B, Bellos N, Molina J, Cooper D, Goffard J, Lazzarin A, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER 1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomized trials. *Lancet* 2007; 369:1169–1178.
11. DAIDS 2007. Division of AIDS table for grading the severity of adult and paediatric adverse events. http://rcc.tech.res.com/DAIDS%20RCC%20Forms/TB_ToxicityTables_D AIDS_AE_GradingTable_FinalDec2004.pdf (accessed March 2007).
12. Hirsch M, Gunthard H, Schapiro J, Brun-Venizet F, Clotet B, Hammer S, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Clin Inf Dis* 2008; 47:266–285.
13. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration and Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: antiretroviral drugs using plasma HIV RNA measurements: clinical considerations for accelerated and traditional approval. <http://www.fda.gov/CDER/GUIDANCE/3647fn1.pdf> (accessed August 15th, 2007).
14. Piaggio G, Elbourne D, Altman D, Pocock S, Evans S. Reporting of noninferiority and equivalence randomized trials. An extension of the CONSORT statement. *J Am Med Assoc* 2006; 295:1152–1160.
15. Phillips AN, Walker S. Drug switching and virologic based endpoints in trials of antiretroviral drugs for HIV infection. *AIDS* 2004; 18:365–370.
16. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany. COBAS Amplicor HIV-1 MONITOR Test, version 1.5. June 2007, Package Insert. <http://www.fda.gov/Cber/sba/hiv1roc122002S.htm> (accessed September 2008).
17. Lima V, Harrigan R, Montaner J. Increased reporting of detectable plasma HIV-1 RNA levels at the critical threshold of 50 copies per milliliter with the Taqman assay in comparison to the Amplicor assay. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51:3–6.
18. Ribaud H, Lennox J, Currier J, Kuritzkes D, Gulick R, Haubrich M, et al. Virologic failure endpoint definition in clinical trials: is using HIV-1 RNA threshold <200 copies/mL better than <50 copies/mL? An analysis of ACTG studies. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada, February 2009 [abstr 580].
19. Gallant J, DeJesus E, Arribas J, Pozniak A, Tenofovir DF, Gazzard B, Campo RE, et al. Emtricitabine and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354:251–260.
20. Cooper D, Bloch M, Humphries A, Amin J, Baker D, Emery S, et al. Simplification with fixed-dose tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine in adults with suppressed HIV replication (the STEAL study): a randomized, open-label, 96 week, non-inferiority trial. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada, February 2009 [abstr 576].
21. Sabin C, Worm S, Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Thiebaut R, et al. Recent use of abacavir and didanosine, but not thymidine analogues, is associated with risk of myocardial infarction. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. (CROI). Boston, USA, February 2008 [abstr. 957c].
22. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, Miller MD, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs. stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; 292:191–201.
23. Gupta R, Hill A, Sawyer A, Pillay D. Emergence of Drug resistance in HIV Type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: a systematic review of clinical trials. *Clin Infect Dis* 2008; 47:712–722.
24. Yilmaz A, Izadkhashti A, Price R, Mallon P, De Meulder M, Timmerman P, Gisslen M. Darunavir concentrations in cerebrospinal fluid and blood in HIV-1 infected adults. *AIDS Res Hum Retrovir* 2009; 25:1–5.
25. Delfraisse J, Flandre P, Delaguerre C, Ghosn J, Horban A, Girard M, et al. Lopinavir/ritonavir monotherapy or plus zidovudine and lamivudine in antiretroviral-naive HIV-infected patients. *AIDS* 2008; 22:385–393.
26. Cameron D, da Silva B, Arribas J, Myers R, Bellos N, Gilmore N, et al. A 96-week comparison of lopinavir-ritonavir combination therapy followed by lopinavir-ritonavir monotherapy versus efavirenz combination therapy. *J Infect Dis* 2008; 198:234–240.
27. Wilkin T, McKinnon J, DiRienzo A, Mollan K, Fletcher C, Margolis D, et al. Regimen simplification to atazanavir-ritonavir alone as maintenance antiretroviral therapy: final 48-week clinical and immunological outcomes. *J Infect Dis* 2009; 199:866–871.
28. Karlstrom O, Josephson F, Sonnerberg A. Early virologic rebound in a pilot trial of ritonavir-boosted atazanavir as maintenance monotherapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44:417–422.
29. Gutmann C, Opravil M, Yerly S, Fux C, Furrer H, Cavassani M, et al. Low-nadir CD4 count predicts failure of monotherapy maintenance with ritonavir-boosted lopinavir: results after premature termination of a randomized study due to unexpectedly high failure rate in the monotherapy arm. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada, February 2009 [abstr 578].

Антиретровирусная монотерапия: следует ли отступать от принципов успешной антиретровирусной терапии? Комментарий редакции

Manuel Battegay^a, Heiner C. Bucher^{a,b}

AIDS 2010, 24

Ключевые слова: ингибиторы протеазы, комбинированная антиретровирусная терапия, поддерживающая монотерапия.

Успех комбинированной антиретровирусной терапии (кАРТ) является беспрецедентным в истории медицины. Он был заложен в 1996 г., когда были опубликованы результаты первых исследований, продемонстрировавшие значительное снижение заболеваемости и смертности при использовании комбинации ингибиторов протеазы и нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) с двумя нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (НИОТ). В последующие годы устойчивость этих эффектов кАРТ была показана в многочисленных когортных исследованиях и клинических испытаниях. В дальнейшем кАРТ была усовершенствована путем внедрения усиленных ингибиторов протеазы, эфавиренза и введения режима приема препаратов 1 раз в день.¹⁻⁵ Появление новых классов препаратов позволило нам стать свидетелями выдающегося успеха в терапии «спасения» у пациентов с длительным течением инфекции и многократными терапевтическими неудачами.⁶⁻⁹ Основной принцип, обеспечивший исключительный успех АРТ, прост и основан на комбинации по крайней мере двух активных, хорошо переносимых препаратов из двух различных классов с учетом эффективности этих препаратов в отношении супрессии вируса, периода их полувыведения, минимальной сывороточной концентрации и генетического барьера устойчивости. В связи с этим трехкомпонентная схема кАРТ на основе НИОТ с добавлением либо ННИОТ, либо усиленного ингибитора протеазы предпочтительна как в качестве начальной, так и поддерживающей терапии. Эта схема

обозначена в различных руководствах, в т. ч. и в новейших рекомендациях, изданных Европейским клиническим обществом по СПИДу в ноябре 2009 г. (<http://www.european aids clinical society.org/>).¹⁰⁻¹² При использовании этой стратегии достигается стойкий вирусологический и иммунологический эффект.¹³ Результаты недавно проведенных исследований показали, что ответ на такую терапию развивался в течение первого года у 90 % пациентов и более.¹⁴

Несмотря на впечатляющие достижения последних двух десятилетий в области лечения ВИЧ-инфекции, к применению монотерапии в качестве поддерживающей следует относиться с осторожностью по многим причинам. Опыт применения зидовудина и диданозина в качестве монотерапии оказался неудачным в связи с кратковременностью эффекта, отрицательным влиянием на последующее лечение и развитием устойчивости у большинства пациентов в начальном периоде АРТ. Появление устойчивости на фоне монотерапии было выявлено также при проведении профилактики вертикальной передачи вируса с использованием невирапина у беременных.¹⁵ Применение упрощенных схем лечения с использованием препаратов одного класса (НИОТ) привело к повышению частоты терапевтических неудач.¹⁶ Таким образом, у многих клиницистов имеются веские причины для отрицательного отношения к монотерапии. В недавно проведенном систематическом обзоре указывается на то, что общая эффективность

^a Division of Infectious Diseases and Hospital Epidemiology, ^b Basel Institute for Clinical Epidemiology and Biostatistics, University Hospital Basel, Switzerland.

Автор, ответственный за переписку: Professor Manuel Battegay, Division of Infectious Diseases and Hospital Epidemiology, University Hospital Basel, Petersgraben 4, CH-4031 Basel, Switzerland.

Tel: +41 61 265 5072; fax: +41 61 265 3198; e-mail: mbattegay@uhbs.ch

Получено 19 ноября 2009 г.; принято в печать 28 ноября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e32833609a2

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: кАРТ — комбинированная антиретровирусная терапия; НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

монотерапии ингибиторами протеазы, усиленными ритонавиром, уступает традиционной кАРТ.¹⁷ Однако, несмотря на ценность этого метаанализа, его необходимо тщательно пересмотреть, поскольку в нем использовались несовместимые критерии включения, а именно рассматривались нерандомизированные исследования, работы с применением монотерапии в качестве как начальной, так и поддерживающей терапии и, что самое важное, не были включены последние исследования.

В последнем исследовании MONET (применение монотерапии для лечения взрослых пациентов, уже получавших ранее антиретровирусную терапию), проведенном Agribas et al., эффективность поддерживающей монотерапии ингибитором протеазы дарунавиром, усиленным ритонавиром (дарунавир/ритонавир), сравнивалась с эффективностью трехкомпонентной схемы на основе дарунавира/ритонавира. При проведении первичного анализа в популяции по протоколу с уровнем РНК ВИЧ < 50 копий/мл на 48-й неделе в качестве основного оцениваемого показателя была доказана не меньшая эффективность монотерапии по сравнению с трехкомпонентной схемой [86,2 vs 87,2 %; разница 1,6 %; верхняя граница 95%-го доверительного интервала 10,1 %; порог не меньшей эффективности 12 %]. Устойчивость к препаратам наблюдалась редко — по одной мутации у одного пациента в каждой группе, т. е. одна мутация, определяющая устойчивость к ингибиторам протеазы, и одна — к НИОТ соответственно. Результаты этого исследования представляют интерес во многих отношениях. Во-первых, они демонстрируют превосходные возможности монотерапии усиленными ингибиторами протеазы. Во-вторых, они указывают на то, что усиленный ритонавиром дарунавир может применяться для длительной монотерапии, особенно в свете результатов второго, еще не опубликованного исследования.¹⁸ Следует отметить, что в исследовании MONET терапевтической неудачей в большинстве случаев считалось транзитное повышение вирусной нагрузки в диапазоне 50–200 копий/мл. Важно, что возвращение к комбинированной терапии приводило к супрессии вируса у большинства этих больных, при этом не наблюдалось развития мутаций устойчивости вируса к ингибиторам протеазы.

Каковы же преимущества и недостатки поддерживающей монотерапии ингибиторами протеазы? Применение препаратов одного класса может сохранить возможность использования в будущем препаратов других классов. Кроме того, была доказана очень низкая вероятность развития устойчивости к лопинавиру и дарунавиру. В случае терапевтической неудачи возможна интенсификация лечения за счет введения НИОТ, что подтверждается результатами MONET и более ранних исследований. Для пациентов с липодистрофией и другими токсическими эффектами длительного применения НИОТ поддерживающая терапия ингибиторами протеазы может оказать благоприятное действие. Немаловажным моментом может стать меньшая стоимость лечения, однако для подтверждения этого факта требуется дополнительный анализ затрат. В отдельных случаях монотерапия усиленными ингибиторами протеазы может применяться у пациентов с низкой приверженностью к лечению, например потребителей наркотиков. Целью монотерапии ингибиторами протеазы в этих случаях является предотвращение терапевти-

ческих неудач на фоне лечения препаратами нескольких классов и развития к ним устойчивости. Однако данные по этой стратегии лечения отсутствуют. Кроме того, очень мало известно относительно устойчивости эффекта монотерапии ингибиторами протеазы, риска, связанного с низким уровнем виремии, последствий недостаточной приверженности к лечению, а также о том, достаточно ли ингибиторы протеазы при монотерапии проникают в такие важные резервуары ВИЧ, как ЦНС и половые органы.

Идея поддерживающей монотерапии ингибиторами протеазы очень интересна, однако до сих пор остается неясным, у каких групп пациентов она может применяться. Для выяснения этого вопроса требуются более крупные исследования и длительное наблюдение в динамике. Исследования, проведенные на сегодняшний день, обладают недостаточной мощностью для сравнения монотерапии с утвержденными стратегиями лечения, и оценка эффективности монотерапии, сделанная в этих исследованиях, остается недостаточно определенной. Как только ответы на эти вопросы будут найдены, останутся выяснить, какой из ингибиторов протеазы лучше всего подходит для монотерапии, хотя на сегодняшний день наиболее привлекательным выглядит применение дарунавира (см. статью J. Agribas et al. на с. 17). Взятые вместе данные, имеющиеся на сегодняшний день, позволяют предположить, что монотерапия ингибиторами протеазы может применяться для лечения пациентов с непереносимостью НИОТ или для упрощения режима терапии. Однако такую стратегию можно применять только у пациентов, у которых в анамнезе отсутствуют сведения о терапевтических неудачах на фоне лечения ингибиторами протеазы и у которых уровень вирусной нагрузки ниже 50 копий/мл сохраняется как минимум последние 6 мес. (<http://www.europeanaidscinicalsociety.org/>). Кроме того, мы рекомендуем использовать монотерапию усиленными ингибиторами протеазы при ограничении доступных методов лечения или при проведении клинических исследований. Другие терапевтические концепции, такие как щадящие режимы АРТ с использованием препаратов двух классов — НИОТ и препарата нового класса, требуют дальнейшего изучения. В настоящее время при выборе терапии первой линии клиницистам следует полагаться на надежную трехкомпонентную схему кАРТ, сочетающую доступные антиретровирусные препараты. Несмотря на то что исследование MONET ярко продемонстрировало возможности поддерживающей терапии ингибиторами протеазы и эволюцию кАРТ со времени первых попыток применения монотерапии два десятилетия назад, время для отступления от принципов успешной кАРТ еще не пришло.

Литература

1. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 study team [see comments]. *N Engl J Med* 1997; 337:725–733.
2. Egger M, Hirschel B, Francioli P, Sudre P, Wirz M, Flepp M, et al. Impact of new antiretroviral combination therapies in HIV infected patients in Switzerland: prospective multicentre study. *Swiss HIV Cohort study. BMJ* 1997; 315:1194–1199.

3. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Out-patient Study Investigators [see comments]. *N Engl J Med* 1998; 338:853–860.
4. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio Monforte A, et al. Decline in the AIDS and death rates in the Euro-SIDA study: an observational study. *Lancet* 2003; 362:22–29.
5. Hogg R, Lima V, Sterne JA, Grabar S, Battegay M, Bonarek M, et al. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet* 2008; 372:293–299.
6. Clotet B, Bellos N, Molina JM, Cooper D, Goffard JC, Lazzarin A, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER 1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. *Lancet* 2007; 369:1169–1178.
7. Madruga JV, Cahn P, Grinsztejn B, Haubrich R, Lalezari J, Mills A, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370:29–38.
8. Steigbigel RT, Cooper DA, Kumar PN, Eron JE, Schechter M, Markowitz M, et al. Raltegravir with optimized background therapy for resistant HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008; 359:339–354.
9. Gulick RM, Lalezari J, Goodrich J, Clumeck N, DeJesus E, Horban A, et al. Maraviroc for previously treated patients with R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008; 359:1429–1441.
10. Clumeck N, Pozniak A, Raffi F. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults. *HIV Med* 2008; 9:65–71.
11. DHHS. Panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. <http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/2008>.
12. Hammer SM, Eron JJ Jr, Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2008; 300:555–570.
13. Battegay M, Elzi L. Morbidity and mortality in HIV-infected individuals: a shift towards comorbidities. *Swiss Med Wkly* 2009; 139:564–570.
14. Vo TT, Ledergerber B, Keiser O, Hirschel B, Furrer H, Battegay M, et al. Durability and outcome of initial antiretroviral treatments received during 2000–2005 by patients in the Swiss HIV Cohort Study. *J Infect Dis* 2008; 197:1685–1694.
15. Palmer S, Boltz V, Martinson N, Maldarelli F, Gray G, McIntyre J, et al. Persistence of nevirapine-resistant HIV-1 in women after single-dose nevirapine therapy for prevention of maternal-to-fetal HIV-1 transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:7094–7099.
16. Bucher HC, Kofler A, Nuesch R, Young J, Battegay M, Opravil M. Meta-analysis of randomized controlled trials of simplified versus continued protease inhibitor-based antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2003; 17:2451–2459.
17. Bierman WF, van Agtmael MA, Nijhuis M, Danner SA, Boucher CA. HIV monotherapy with ritonavir-boosted protease inhibitors: a systematic review. *AIDS* 2009; 23:279–291.
18. Katlama C, Valentin MA, Algarte-Genin M, Duvivier C, Lambert-Niclot S, Girard P-M, et al. Efficacy of darunavir/ ritonavir as single-drug maintenance therapy in patients with HIV-1 viral suppression: a randomized open-label noninferiority trial, MONOI-ANRS 136. In: *Proceedings of IAS*. 2009; Cape Town, South Africa.

Обогащение рациона питания уридином препятствует развитию периферической нейропатии и энцефалопатии в ходе антиретровирусной терапии нуклеозидными аналогами

Nils Venhoff^{a,b}, Dirk Lebrecht^a, Catherine Deveaud^c, Bertrand Beauvoit^c, Jacques Bonnet^c, Klaus Muller^d, Janbernd Kirschner^e, Ana C. Venhoff^a, Ulrich A. Walker^{a,f}

Цель. Ряд антиретровирусных препаратов класса нуклеозидных аналогов может вызывать периферическую нейропатию и дегенерацию нейронов ЦНС, опосредованные токсическим поражением митохондрий. Нами была изучена эффективность обогащения рациона питания уридином в качестве профилактики этих осложнений антиретровирусной терапии *in vivo*.

Дизайн. Поскольку взятие образцов нервной ткани у человека сопряжено с очевидными трудностями, вызванные нуклеозидными аналогами митохондриальная нейропатия и энцефалопатия изучались на мышах.

Методы. Мыши линии BALB/C в возрасте 7 нед. в течение 9 нед. перорально получали зальцитабин (13 мг/кг/сут) либо зидовудин (100 мг/кг/сут) в сочетании с митокнолом (пищевой добавкой, обеспечивающей высокую биодоступность уридина) (340 мг/кг/сут) либо без него. После курса лечения были проанализированы изменения митохондрий нейронов гиппокампа и седалищных нервов.

Результаты. Зальцитабин и, в меньшей степени, зидовудин вызывали выраженные периферическую нейропатию и энцефалопатию, характеризующиеся следующими изменениями нейронов: нарушение ультраструктуры митохондрий, снижение содержания митохондриальной ДНК, активности цитохром-*c*-оксидазы и уровня экспрессии кодируемой митохондриальной ДНК 1-й субъединицы цитохром-*c*-оксидазы. Сам по себе митокнол не проявлял фармакологического действия, однако в сочетании с нуклеозидными аналогами ослаблял либо предупреждал все указанные выше патологические изменения центральной и периферической нервной системы.

Выводы. Зидовудин и зальцитабин вызывают митохондриальную дисфункцию клеток центральной и периферической нервной системы; обогащение рациона питания уридином препятствует развитию этого осложнения.

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2010, **24**:345–352

Ключевые слова: зальцитабин, зидовудин, митохондриальная токсичность, периферическая нейропатия, уридин, энцефалопатия.

^a Department of Rheumatology and Clinical Immunology, ^b Centre of Chronic Immunodeficiency (CCI), Medizinische Universitätsklinik, Freiburg, Germany, ^c INSERM U828, Pessac, France, ^d Department of Neuropathology, ^e Department of Neuropediatrics and Muscle Disorders, Medizinische Universitätsklinik, Freiburg, Germany, ^f Department of Rheumatology, Basel University, Basel, Switzerland. Автор, ответственный за переписку: Ulrich A. Walker, MD, Felix-Platter Spital, Burgfelderstr. 101, CH-4012 Basel, Switzerland. Tel: +41 61 3264222; fax: +41 61 3264018; e-mail: ulrich.walker@fps-basel.ch

Получено 18 августа 2009 г.; получено с поправками 4 ноября 2009 г.; принято в печать 23 ноября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e328335cdea

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

Введение

Часто наблюдаемые у ВИЧ-инфицированных пациентов неврологические симптомы могут быть обусловлены собственно ВИЧ-инфекцией, оппортунистическими инфекциями либо токсическим влиянием антиретровирусной терапии.¹⁻⁴ Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ), такие как зальцитабин, диданозин и ставудин, за несколько недель применения могут вызывать периферическую нейропатию, требующую снижения их дозы.^{1,5,6} Другой НИОТ — зидовудин, насколько известно, не характеризуется этим побочным эффектом. Однако этот препарат легко проникает через гематоэнцефалический барьер, в опытах на грызунах и обезьянах он вызывал дисфункцию ЦНС.⁷⁻¹¹ Описано несколько случаев рождения детей с клиническими признаками митохондриальной энцефалопатии либо подтвержденной митохондриальной дисфункцией головного мозга, матери которых во время беременности получали зидовудин.^{12,13}

Механизм нейротоксических эффектов НИОТ, по крайней мере частично, связан с подавлением активности ДНК-полимеразы γ — фермента репликации митохондриальной ДНК. Это приводит к дисфункции дыхательной цепи переноса электронов и усугублению окислительного стресса.⁶ Кроме того, было продемонстрировано, что нарушение процесса окислительного фосфорилирования делает клетку зависимой от поступления предшественников пиримидиновых нуклеотидов извне, поскольку их синтез *de novo* напрямую сопряжен с этим процессом посредством митохондриального фермента дигидрооротатдегидрогеназы.^{14,15} Таким образом, вызванная НИОТ митохондриальная дисфункция нейронов, по всей видимости, сопровождается истощением внутриклеточных запасов пиримидиновых нуклеотидов.

Ранее нами было показано, что при снижении концентрации пиримидиновых нуклеотидов клетка становится еще более восприимчивой к токсическому действию аналогов тимидина, поскольку позволяет последним более эффективно конкурировать с естественными пиримидиновыми основаниями за ДНК-полимеразу γ , таким образом замыкая порочный патогенетический круг.¹⁶ Позже было продемонстрировано, что вторичные побочные эффекты НИОТ в отношении ключевых клеточных систем обеспечения выживаемости, которые контролируют такие процессы, как апоптоз, окислительный стресс и деление митохондрий, также напрямую опосредованы истощением внутриклеточных запасов пиримидиновых нуклеотидов.^{16,17}

С другой стороны, при восполнении дефицита пиримидиновых нуклеотидов извне с помощью препарата — предшественника уридина наблюдались размыкание порочного круга токсического поражения НИОТ различных тканей (не нервной) и нормализация внутриклеточного содержания митохондриальной ДНК и функции дыхательной цепи переноса электронов.^{16,17} Например, в ходе доклинических исследований обогащение рациона питания лабораторных животных уридином было эффективно в качестве как профилактики, так и лечения побочных эффектов аналогов тимидина, таких как липоатрофия и митохондриальная дисфункция скелетных мышц и печени.^{16,18-20} В клинических исследова-

ниях была подтверждена эффективность и безопасность применения высоких доз уридинсодержащей пищевой добавки по ряду показаний (вызванная НИОТ липоатрофия и токсическое поражение печени).^{21,22}

Однако влияние уридина на вызванную НИОТ полинейропатию и энцефалопатию *in vivo* не изучалось. Учитывая вышеизложенное, нами было выполнено исследование эффективности перорального восполнения дефицита уридина при вызванных НИОТ митохондриальной нейропатии и энцефалопатии у животных.

Методы

Лабораторные животные

Приобретенные в центре Janvier (Франция) самцы мышей линии BALB/C получали стандартный корм для крыс (Sniff R/M-H, Spezialdiäten, Германия) и содержались в стандартных условиях освещения (чередование дня и ночи), температуры и влажности. В возрасте 7 нед. мыши были разделены на 6 групп по 10 животных в каждой. Первая группа животных не получала никаких медикаментов и служила контролем. Вторая группа мышей получала уридинсодержащую пищевую добавку митокнол (Pharma Nord, Дания) в дозе 340 мг/кг/сут с питьевой водой. Группы 3 и 4 получали зидовудин (100 мг/кг/сут; MP Biomedicals, Франция) с питьевой водой; группы 5 и 6 получали зальцитабин (13 мг/кг/сут; Sigma, Германия). В пересчете на площадь поверхности тела указанные суточные дозы зидовудина и зальцитабина соответствуют терапевтическим дозам для человека; концентрации препаратов в питьевой воде были рассчитаны, исходя из суточного потребления животными 5 мл жидкости.²³ Согласно опубликованным данным, при введении мышам зидовудина в указанной выше дозе его сывороточная концентрация составляет 1408 ± 252 нг/мл, что соответствует его терапевтической концентрации в плазме человека (2052 ± 970 нг/мл).^{23,24} Группы 4 и 6 в отличие от групп 3 и 5 помимо антиретровирусных препаратов получали растворенный в питьевой воде митокнол в дозе 340 мг/кг/сут. В пересчете на площадь поверхности тела использовавшаяся доза митокнола в случае его применения человеком соответствует 36 г/сут; концентрация митокнола в питьевой воде была рассчитана, исходя из среднесуточного потребления животными жидкости. Согласно данным литературы, лечение митокнолом в дозе 36 г/сут хорошо переносится человеком, не сопровождается побочными эффектами и предположительно позволяет достичь среднесуточной сывороточной концентрации уридина 50 мкмоль/л, при которой он препятствует токсическому поражению зальцитабином культуры нервных клеток.^{16,25}

Объем потребления жидкости, клинические симптомы и случаи смерти животных регистрировались ежедневно, еженедельно проводилось взвешивание. Все животные были умерщвлены в возрасте 16 нед. путем цервикальной дислокации непосредственно перед взятием образцов тканей и посмертным исследованием. Проводилось взвешивание головного мозга. Седалищные нервы и головной мозг после извлечения были мгновенно заморожены и помещены в жидкий азот до момента исследования. Данное испытание было одобрено Государственным этическим комитетом по защите лабо-

раторных животных и соответствовало требованиям руководства по содержанию и использованию лабораторных животных, опубликованного Национальными институтами здоровья США.

Гистологическое исследование и анализ ультраструктуры митохондрий

Два образца тканей головного мозга, случайным образом отобранные из области гиппокампа, и два образца седалищных нервов каждого животного были фиксированы в 3% растворе глутаральдегида и подвергнуты электронной микроскопии согласно описанной в литературе методике.²⁶

Определение активности митохондриальных ферментов

Цитохром-*c*-оксидаза — фермент дыхательной цепи переноса электронов (комплекс IV), состоит из нескольких субъединиц, часть из которых кодируется ядерной ДНК, часть — митохондриальной. Сукцинатдегидрогеназа также является компонентом дыхательной цепи (комплекс II), однако кодируется только ядерной ДНК. Цитратсинтаза кодируется ядерной ДНК, является ферментом цикла Кребса и локализуется в митохондриальном матриксе. Активность этих трех ферментов определялась в свежеприготовленных срезах тканей гиппокампа методом спектрофотометрии, описанном в литературе.²⁷ Из-за недостаточного объема образцов седалищных нервов активность митохондриальных ферментов в них не определялась.

Оценка экспрессии субъединицы цитохром-*c*-оксидазы, кодируемой митохондриальной ДНК

Для количественного определения уровня экспрессии кодируемой митохондриальной ДНК 1-й субъединицы цитохром-*c*-оксидазы в образцах тканей гиппокампа использовался метод иммуноблоттинга; полученные показатели были нормированы по отношению к уровню экспрессии кодируемой ядерной ДНК 4-й субъединицы этого фермента. Методика анализа описана в литературе.^{28,29}

Количество копий митохондриальной ДНК

Для выделения ДНК из образцов тканей гиппокампа и седалищных нервов использовался набор реагентов QIAamp DNA isolation kit (Qiagen, Германия). Количество копий митохондриальной и ядерной ДНК определяли методом полимеразной цепной реакции согласно описанной в литературе методике.³⁰ Было проведено три независимых реакции амплификации искомым фрагментов митохондриальной и ядерной ДНК каждого образца. Для расчета абсолютного числа копий искомым фрагментов митохондриальной и ядерной ДНК одновременно тестировали серийные разведения ДНК плазмиды с известным числом копий.

Статистический анализ

Средние показатели различных групп животных сравнивали с помощью непарного *t*-критерия или критерия Уилкоксона. Для расчета коэффициентов корреляции между показателями использовалась модель нели-

нейной (экспоненциальной) регрессии. Статистический анализ и графическое оформление его результатов были выполнены посредством пакетов программ Sigma Stat, версия 1.0 (Jandel Inc., США) и Sigma Plot 2000, версия 6.0 (SPSS Inc., США).

Результаты

Данные наблюдения за животными

Лечение не влияло на суточный объем потребления мышьями жидкости; случаев смерти животных ни в одной из групп зарегистрировано не было. В группах контроля и митокнола за период лечения масса тела мышей увеличилась на 27 и 24 % соответственно. В то же время в группах животных, которые получали зальцитабин в сочетании с уридинсодержащей пищевой добавкой либо без нее, прибавка массы относительно исходного значения составила всего 16 и 19 % соответственно ($p = 0,001$ и $p = 0,003$ для сравнения с группой контроля). Различие между этими двумя группами зальцитабина по массе животных было статистически незначимым. Масса тела мышей, которые получали зидовудин в сочетании с митокнолом либо без него, увеличилась на 22 %, что сопоставимо с группой контроля ($p = 0,03$).

Гиппокамп

Ультраструктура нейронов

При электронной микроскопии образцов тканей гиппокампа, взятых у животных групп контроля и митокнола, признаков нарушения ультраструктуры митохондрий обнаружено не было. В то же время у животных, которые получали зальцитабин или зидовудин, наблюдалось повышение числа митохондрий в гиппокампальных пирамидных нейронах, взятых из зоны СА1. В миелинизированных аксонах этих клеток в пределах эфферентных пучков определялось набухание цитоплазмы и большое количество плеоморфных митохондрий с признаками пролиферативной активности и дегенеративных изменений в виде вакуольного набухания. Кроме того, вокруг вакуолизированных участков цитоплазмы, лизосом и аморфных отложений присутствовали плотные скопления трубочек и микрофиламентов цитоскелета (рис. 1). Также имели место структурные изменения белого вещества головного мозга в виде полиморфных признаков дегенерации миелина различной степени выраженности. Плотные контакты между мембранами олигодендроглии и миелиновыми волокнами были неравномерно расширены, в цитоплазме олигодендроглии определялась пролиферация митохондрий. У животных группы зидовудина помимо этого имели место характерные для апоптоза изменения ядер олигодендроцитов (рис. 2). Обогащение рациона питания уридином препятствовало развитию этих ультраструктурных изменений: у получавших комбинированное лечение мышей субклеточные структуры гиппокампальных пирамидных нейронов сохраняли свою целостность, вакуольный и тубулярный аппараты имели нормальное строение, в клетках определялись бледные ядра и лишь легкое увеличение числа митохондрий. Миелинизированные аксоны имели практически нормальный диаметр, выраженные признаки пролиферации митохондрий в них отсутствовали, однако толщина их миелиновых оболочек была снижена.

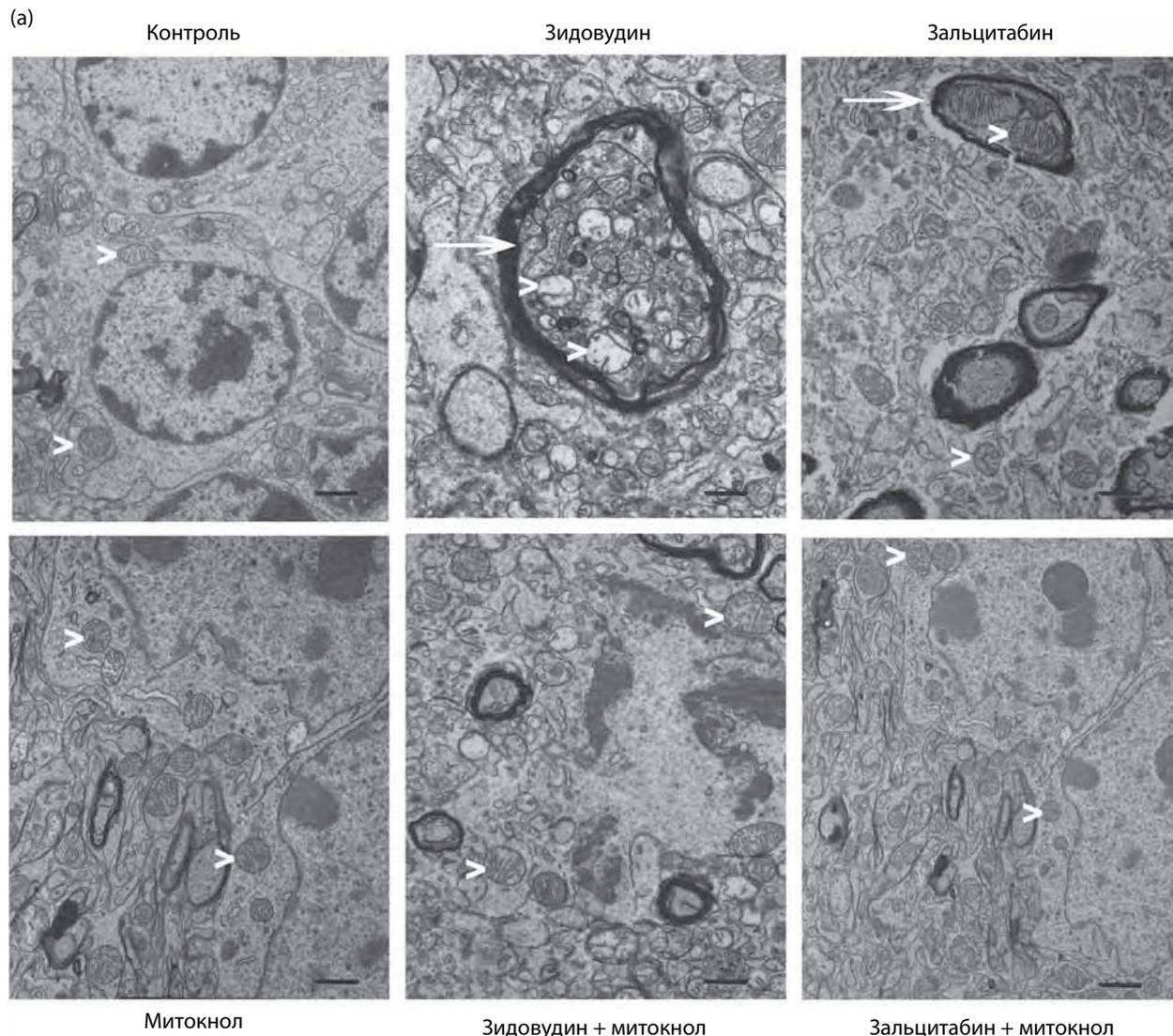


Рис. 1. Влияние зидовудина и зальцитабина в сочетании с уридинсодержащей пищевой добавкой (митокнол) и без нее на морфологию нейронов гиппокампа (а) и седалищного нерва (б). На электронных микрофотографиях нейронов, подвергшихся действию зидовудина и зальцитабина, можно видеть, что они содержат повышенное количество митохондрий (указаны галками), многие из которых увеличены в размере и имеют признаки деструкции крист. Пирамидные нейроны гиппокампа имеют признаки дистрофии аксонов, такие как аномальные митохондрии и повышенное количество цитоплазматических вакуолей (указаны стрелками). Насыщение рациона питания уридином с помощью митокнола предупреждало возникновение большинства гистологических изменений как периферических нервов, так и клеток ЦНС. Масштаб 1 мкм.

Содержание митохондриальной ДНК

У животных, которые получали зидовудин, нейроны гиппокампа содержали приблизительно вдвое меньшее количество копий митохондриальной ДНК, чем в контроле ($p < 0,001$) (табл. 1). В группе зальцитабина соответствующий средний показатель был снижен по сравнению с контролем приблизительно на $1/3$ (71 %; $p < 0,01$). Обогащение рациона питания уридином само по себе не влияло на репликацию митохондриальной ДНК, однако значительно ослабляло падение ее внутриклеточного содержания в ходе лечения зидовудином и зальцитабином (см. табл. 1).

Активность митохондриальных ферментов

Наблюдалось снижение средней активности цитохром-с-оксидазы в гиппокампальных тканях мышей, которые получали монотерапию зидовудином (на 42 % по сравнению с контролем; $p < 0,001$) или зальцитабином (на

31 % по сравнению с контролем; $p < 0,001$), в то время как в других группах этот показатель был сопоставим с контролем (см. табл. 1). Полученные показатели активности цитохром-с-оксидазы (которая зависит от экспрессии митохондриальных генов) были нормированы по отношению к активности сукцинатдегидрогеназы (независимой от экспрессии митохондриальной ДНК). В группах зидовудина и зальцитабина среднее отношение активности цитохром-с-оксидазы/сукцинатдегидрогеназы в образцах тканей гиппокампа также было снижено по сравнению с контролем (группа зидовудина — на 48 %, $p < 0,001$; группа зальцитабина — на 50 %, $p < 0,001$). Насыщение рациона питания уридином с помощью митокнола само по себе не влияло на отношение активности этих двух ферментов, однако в сочетании с зидовудином или зальцитабином устраняло вызванную ими митохондриальную дисфункцию. Зальцитабин вызывал повышение активности цитратсинтазы в нейронах гиппокампа (на 156 % по сравнению с контролем), сопутствующее применение миток-

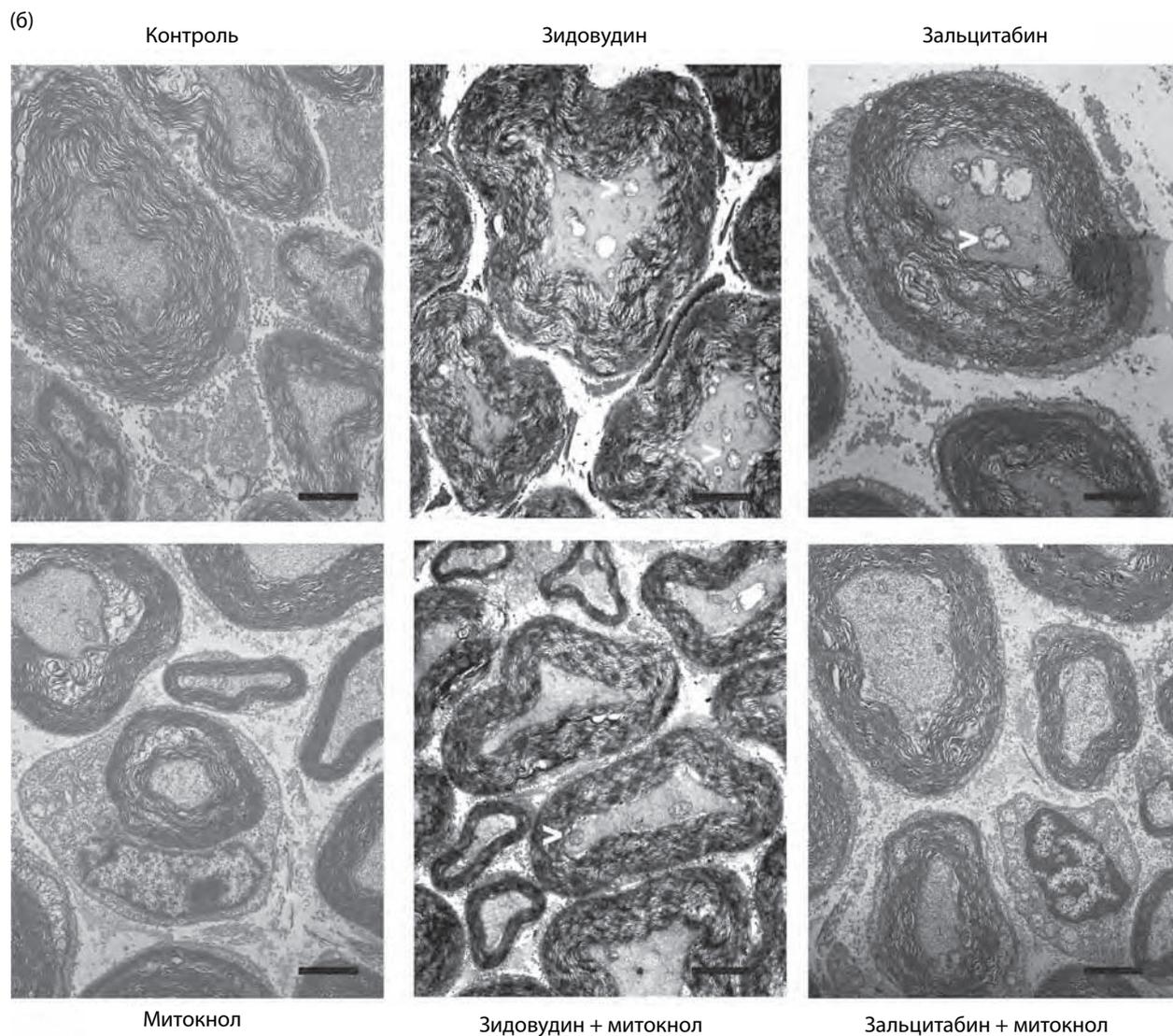


Рис. 1. Окончание

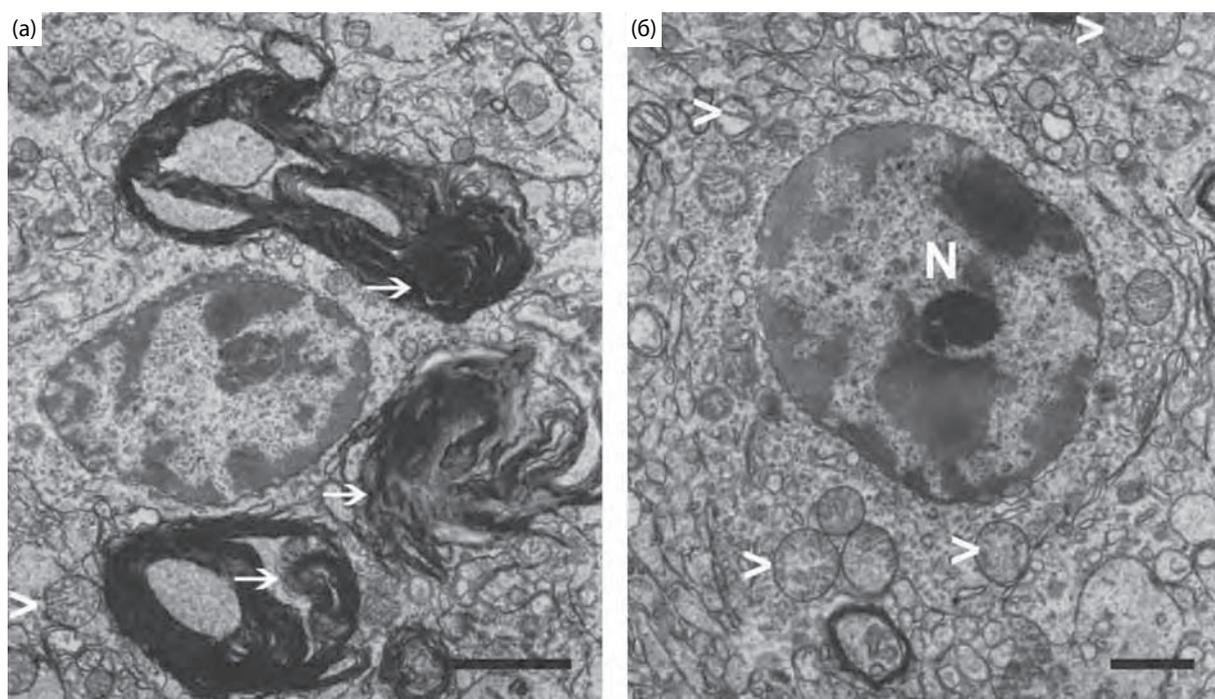


Рис. 2. Влияние зидовудина на ультраструктуру нейронов гиппокампа. На электронных микрофотографиях видны полиморфные признаки дегенерации миелина (а, указаны стрелками) и апоптоза олигодендроцита (б). Масштаб: (а) — 1 мкм, (б) — 2 мкм. Митохондрии указаны галками; N — ядро.

Таблица 1. Влияние зидовудина и зальцитабина на периферическую и центральную нервную систему и его ослабление под воздействием митокнола (уридинсодержащей пищевой добавки)

	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
	Контроль	Митокнол	Зидовудин (100 мг/кг/сут)	Зидовудин (100 мг/кг/сут) + + митокнол	Зальцитабин (13 мг/кг/сут)	Зальцитабин (13 мг/кг/сут) + + митокнол
Гиппокамп						
Кол-во копий митохондриальной ДНК/кол-во клеточных ядер	211 ± 51	219 ± 80	104 ± 32 ^c	145 ± 21 ^{a,b}	151 ± 30 ^a	181 ± 53 ^a
Активность цитохром-с-оксидазы, мкмоль/мин/г белка	11 ± 3	9 ± 3	4 ± 2 ^c	6 ± 2 ^{b,c}	5 ± 2 ^c	8 ± 3 ^{a,b}
Отношение активности цитохром-с-оксидазы/сукцинатдегидрогеназы, ^d %	100 ± 9	107 ± 9	48 ± 19 ^c	90 ± 18 ^b	50 ± 15 ^c	92 ± 20 ^b
Активность цитратсинтазы, мкмоль/мин/г белка	1152 ± 201	1086 ± 179	1124 ± 275	1265 ± 314	1791 ± 33 ^a	1361 ± 173 ^{a,b}
Отношение уровня экспрессии 1-й/2-й субъединиц цитохром-с-оксидазы, ^d %	100 ± 5	122 ± 26	57 ± 25 ^c	89 ± 22 ^b	45 ± 20 ^c	94 ± 20 ^b
Седалищный нерв						
Кол-во копий митохондриальной ДНК/кол-во клеточных ядер	374 ± 49	372 ± 38	290 ± 65 ^a	346 ± 35 ^b	237 ± 61 ^c	335 ± 48 ^b

^a $p < 0,05$ для критерия сравнения с контролем.

^b Для критерия сравнения с группой монотерапии.

^c $p < 0,001$ для критерия сравнения с контролем.

^d Процент от среднего значения в контрольной группе.

Результаты представлены в виде среднего значения в группе из 10 мышей ± стандартное отклонение.

нола сглаживало, однако полностью не устраняло это отклонение. Во всех группах животных как абсолютная, так и нормированная активность цитохром-с-оксидазы положительно коррелировали с количеством копий митохондриальной ДНК в нейронах гиппокампа ($r = 0,46$, $p < 0,001$ и $r = 0,47$, $p < 0,001$ соответственно) (рис. 3, а).

Уровень экспрессии компонента дыхательной цепи, кодируемого митохондриальной ДНК

Был определен абсолютный уровень экспрессии кодируемой митохондриальной ДНК 1-й субъединицы цитохром-с-оксидазы в образцах тканей гиппокампа, а также соответствующий показатель, нормированный по отношению к уровню экспрессии 4-й субъединицы этого фермента, кодируемой ядерной ДНК. Зидовудин и зальцитабин снижали среднее отношение уровня экспрессии 1-й/4-й субъединиц цитохром-с-оксидазы в тканях головного мозга мышей; сопутствующее применение митокнола предотвращало это отклонение (см. табл. 1). Во всех группах животных нормированный уровень экспрессии 1-й субъединицы цитохром-с-оксидазы позитивно коррелировал с активностью этого фермента как абсолютной ($r = 0,50$; $p < 0,001$), так и нормированной по отношению к активности сукцинатдегидрогеназы ($r = 0,75$; $p < 0,001$) и не был связан с активностью цитратсинтазы, не зависящей от экспрессии митохондриальных генов. Кроме того, во всех группах животных отношение уровня экспрессии 1-й/4-й субъединиц цитохром-с-оксидазы коррелировало с содержанием митохондриальной ДНК в нейронах гиппокампа ($r = -0,347$; $p = 0,005$) (рис. 3, б).

Седалищный нерв

Ультраструктура нейронов

Во всех образцах седалищных нервов определялись расщепление и некоторая вакуолизация миелина. У мышей

контрольной группы ультраструктура седалищных нервов не была нарушена, в то время как у животных групп зальцитабина и, в меньшей степени, зидовудина наблюдалось увеличение числа митохондрий в цитоплазме аксонов (см. рис. 1). Многие из этих органелл были чрезмерно крупными, имели четкие признаки вакуольного набухания, содержали сниженное число крист либо кристы с нарушенной структурой. Кроме того, в митохондриях отсутствовали включения между кристами. У мышей, которые получали антиретровирусные препараты в сочетании с митокнолом, в аксонах седалищных нервов определялись лишь единичные митохондрии, ни одна из которых не имела описанных выше структурных изменений.

Количество копий митохондриальной ДНК

Количество копий митохондриальной ДНК в седалищных нервах мышей, которые получали зидовудин, составляло 77 % от соответствующего показателя у контрольных животных ($p = 0,005$; см. табл. 1). Сопутствующее применение митокнола значительно сглаживало это отклонение (количество копий митохондриальной ДНК — 93 % от контрольного значения). Зальцитабин вызывал значительно более выраженное снижение числа копий митохондриальной ДНК в седалищных нервах (до 63 % от контрольного значения; $p < 0,001$; см. табл. 1). Как и в случае зидовудина, митокнол предупреждал развитие этого осложнения.

Обсуждение

В настоящем исследовании была изучена эффективность обогащения пищевого рациона уридином при вызванных НИОТ митохондриальной энцефалопатии и периферической нейропатии. Согласно опубликованным данным, в опытах на мышцах зальцитабин вызывал токсическое поражение печени,¹⁹ а зидовудин — липоатрофию,³¹

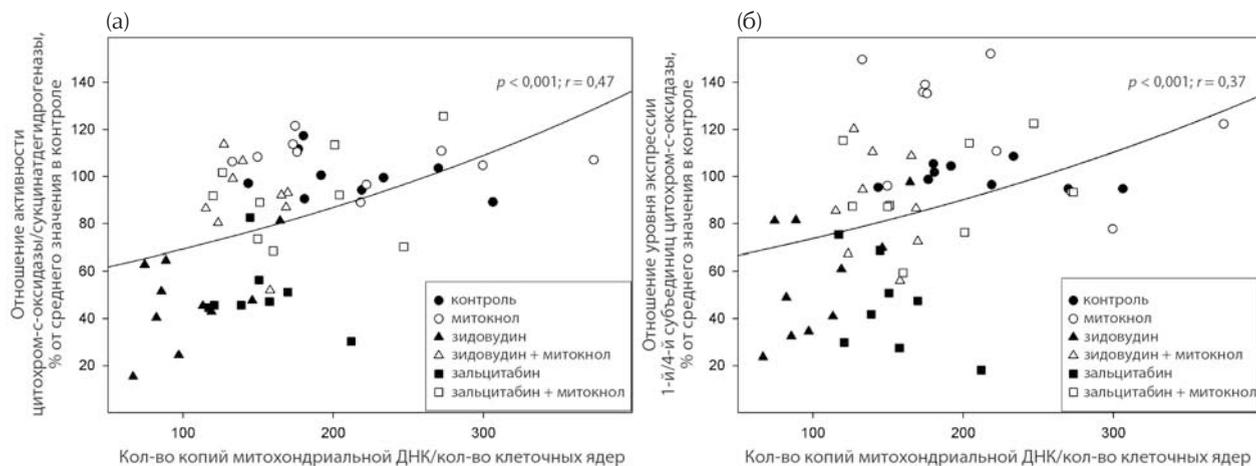


Рис. 3. Корреляция между уменьшением содержания митохондриальной ДНК в тканях гиппокампа и тяжестью митохондриальной дисфункции в общей группе мышей. Корреляция между содержанием митохондриальной ДНК и активностью кодируемого ею фермента дыхательной цепи переноса электронов (а), а также уровнем экспрессии кодируемой ею 1-й субъединицы цитохром-с-оксидазы (б).

эти два побочных эффекта объясняют наблюдавшееся в данном исследовании падение темпов прироста массы тела у мышей. Наши данные указывают на то, что помимо прочих побочных эффектов зальцитабин и зидовудин вызывают митохондриальную дисфункцию нервной ткани, характеризующуюся снижением содержания митохондриальной ДНК и расстройством функционирования дыхательной цепи переноса электронов. В данном исследовании была впервые продемонстрирована важная роль дефицита пиримидиновых нуклеотидов как пускового фактора снижения уровня экспрессии кодируемых митохондриальной ДНК ферментов дыхательной цепи и последующего токсического поражения нервной ткани.

Как известно, лечение зальцитабином часто сопровождается симметричной дистальной сенсомоторной полинейропатией с болевым синдромом, тяжесть которой пропорциональна дозе препарата и длительности его применения.^{32,33} В нескольких исследованиях на крысах и кроликах этот препарат вызывал аксональную нейропатию с нарушением структуры митохондрий шванновских клеток.³⁴ У пациентов с вызванной зальцитабином полинейропатией в биоптатах икроножных нервов определялись дегенерация аксонов, увеличение размера митохондрий, чрезмерная вакуолизация цитоплазмы, электронно-плотные включения и дегенерация миелиновых оболочек нейронов.³⁵ Причем, согласно результатам количественного анализа, в этих нейронах было значительно снижено содержание митохондриальной ДНК.³⁵ В нашем испытании у получавших НИОТ мышей также имело место выраженное падение содержания митохондриальной ДНК и нарушение ультраструктуры митохондрий в нервных клетках. При этом зальцитабин сильнее подавлял репликацию митохондриальной ДНК в седалищных нервах, чем зидовудин, в то время как последний вызывал более выраженное поражение головного мозга. Эти наблюдения согласуются с опытом клинического применения зальцитабина у ВИЧ-инфицированных пациентов, основным побочным явлением которого была симметричная дистальная полинейропатия.^{36,37}

Токсическое действие зидовудина на головной мозг активно не изучалось, хотя и существуют сообщения о рождении у получавших этот препарат во время беременности ВИЧ-серопозитивных женщин детей с устой-

чивой митохондриальной энцефалопатией, характеризующейся неврологической симптоматикой и наличием отклонений при визуализирующем исследовании головного мозга.^{12,13} У подвергшихся внутриутробному воздействию зидовудина обезьян определялись нарушения структуры митохондрий, дисфункция дыхательной цепи переноса электронов и падение содержания митохондриальной ДНК в тканях головного мозга и мозжечка.^{10,11,38} У мышей и крыс, подвергшихся внутриутробному воздействию этого препарата, имели место поведенческие отклонения, которые сохранялись в течение всей жизни этих животных.^{39,40} Большая токсичность зидовудина в отношении ЦНС по сравнению с зальцитабином может быть объяснена более выраженной способностью проникать через гематоэнцефалический барьер.⁴¹ Другими возможными факторами, определяющими тропность токсического действия НИОТ, являются органоспецифичность различных изоформ тимидинкиназы, осуществляющей фосфорилирование нуклеозидов, разница концентраций естественных пиримидиновых нуклеотидов внутри митохондрий различных тканей и др.^{32,42}

В настоящем исследовании было впервые продемонстрировано, что обогащение рациона питания уридином ослабляет токсическое действие зальцитабина и зидовудина на седалищные нервы и головной мозг мышей и что этот эффект напрямую обусловлен восстановлением репликации митохондриальной ДНК в нервной ткани и устранением вторичной дисфункции дыхательной цепи переноса электронов, компонентами которой являются кодируемые митохондриальной ДНК белки. Ранее в испытании на нейронах клеточной линии РС12 было показано, что уридин повышал выживаемость подвергшихся воздействию зальцитабина нейронов и их способность формировать новые отростки, однако механизм этого эффекта не был изучен.²⁵ Насколько известно авторам, более высокие дозы уридинсодержащей пищевой добавки в исследованиях на мышах не использовались. В то же время в клинических исследованиях различных режимов восполнения дефицита уридина его сывороточная концентрация достигала еще более высокого уровня, при этом лечение хорошо переносилось пациентами; не исключено, что в высоких дозах уридин еще эффективнее предупреждает нейро-

токсические эффекты НИОТ.¹⁶ Однако из-за короткого периода полужизни уридина в сыворотке крови человека использование его высоких доз в клинической практике затруднено, т. к. потребовало бы частых приемов большого количества таблеток.

Заключение

Исследование подтвердило, что зальцитабин и зидовудин вызывали митохондриальную нейропатию и энцефалопатию, при этом первый из этих препаратов поражал преимущественно периферические нервы, а второй — преимущественно ЦНС. Обогащение рациона питания уридином ослабляло все нейротоксические эффекты этих препаратов. Также было установлено, что уридин хорошо проникал в периферические нервы и ЦНС, в результате чего концентрация пиримидиновых оснований в нейронах повышалась до защитного уровня. В связи с тем, что высокие дозы уридина хорошо переносятся человеком, полученные нами данные могут быть непосредственно использованы в клинической практике.^{16,22,43} Поскольку установлено, что достаточный запас пиримидиновых оснований — ключевой фактор выживаемости нейронов в условиях митохондриальной дисфункции, применение уридинсодержащей пищевой добавки может быть оправданным и при наследственной митохондриальной энцефалопатии.⁴⁴

Благодарности

Данная работа была финансирована Deutsche Forschungsgemeinschaft (грант № WA 1387/2-1) и Agence Nationale de Recherche sur le Sida. Мы также выражаем благодарность компании Pharma Nord (г. Войенс, Дания) за предоставленный митокнол, а также Karin Sutter и Carmen Корр за экспертную техническую поддержку.

Литература

1. Keswani SC, Pardo CA, Cherry CL, Hoke A, McArthur JC. HIV-associated sensory neuropathies. *AIDS* 2002; 16:2105–2117.
2. McArthur JC, Brew BJ, Nath A. Neurological complications of HIV infection. *Lancet Neurol* 2005; 4:543–555.
3. So YT, Holtzman DM, Abrams DI, Olney RK. Peripheral neuropathy associated with acquired immunodeficiency syndrome. Prevalence and clinical features from a population-based survey. *Arch Neurol* 1988; 45:945–948.
4. Tagliati M, Grinnell J, Godbold J, Simpson DM. Peripheral nerve function in HIV infection: clinical, electrophysiologic, and laboratory findings. *Arch Neurol* 1999; 56:84–89.
5. Browne MJ, Mayer KH, Chafee SB, Dudley MN, Posner MR, Steinberg SM, et al. 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (d4T) in patients with AIDS or AIDS-related complex: a phase I trial. *J Infect Dis* 1993; 167:21–29.
6. Cui L, Locatelli L, Xie MY, Sommadossi JP. Effect of nucleoside analogs on neurite regeneration and mitochondrial DNA synthesis in PC-12 cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280:1228–1234.
7. Bektas D, Martin GK, Stagner BB, Lonsbury-Martin BL. Noise-induced hearing loss in mice treated with antiretroviral drugs. *Hear Res* 2008; 239:69–78.
8. Busidan Y, Dow-Edwards DL. Neurobehavioral effects of perinatal AZT exposure in Sprague-Dawley weaning rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 64:479–485.
9. Busidan Y, Shi X, Dow-Edwards DL. AZT distribution in the fetal and postnatal rat central nervous system. *J Pharm Sci* 2001; 90:1964–1971.
10. Gerschenson M, Erhart SW, Paik CY, St Claire MC, Nagashima K, Skopets B, et al. Fetal mitochondrial heart and skeletal muscle damage in *Erythrocebus patas* monkeys exposed in utero to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000; 16:635–644.
11. Gerschenson M, Nguyen V, Ewings EL, Ceresa A, Shaw JA, St Claire MC, et al. Mitochondrial toxicity in fetal *Erythrocebus patas* monkeys exposed transplacentally to zidovudine plus lamivudine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20:91–100.
12. Blanche S, Tardieu M, Rustin P, Slama A, Barret B, Firtion G, et al. Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues. *Lancet* 1999; 354:1084–1089.
13. Tardieu M, Brunelle F, Raybaud C, Ball W, Barret B, Pautard B, et al. Cerebral MR imaging in uninfected children born to HIV-seropositive mothers and perinatally exposed to zidovudine. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26:695–701.
14. Bodnar AG, Cooper JM, Leonard JV, Schapira AH. Respiratory-deficient human fibroblasts exhibiting defective mitochondrial DNA replication. *Biochem J* 1995; 305:817–822.
15. Gattermann N, Dadak M, Hofhaus G, Wulfert M, Berneburg M, Loeffler ML, et al. Severe impairment of nucleotide synthesis through inhibition of mitochondrial respiration. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2004; 23:1275–1279.
16. Walker UA, Venhoff N. Uridine in the prevention and treatment of NRTI-related mitochondrial toxicity. *Antivir Ther* 2005; 10:M117–M123.
17. Setzer B, Lebrecht D, Walker UA. Pyrimidine nucleoside depletion sensitizes to the mitochondrial hepatotoxicity of the reverse transcriptase inhibitor stavudine. *Am J Pathol* 2008; 172:681–690.
18. Walker UA, Auclair M, Lebrecht D, Kornprobst M, Capeau J, Caron M. Uridine abrogates the adverse effects of antiretroviral pyrimidine analogues on adipose cell functions. *Antivir Ther* 2006; 11:25–34.
19. Lebrecht D, Vargas Infante YA, Setzer B, Kirschner J, Walker UA. Uridine supplementation antagonizes zalcitabine-induced microvesicular steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2007; 15:72–79.
20. Lebrecht D, Deveaud C, Beauvoit B, Bonnet J, Kirschner J, Walker UA. Uridine supplementation antagonizes zidovudine-induced mitochondrial myopathy and hyperlactatemia in mice. *Arthritis Rheum* 2008; 58:318–326.
21. Banasch M, Goetze O, Knyhala K, Potthoff A, Schlottmann R, Kwiatek MA, et al. Uridine supplementation enhances hepatic mitochondrial function in thymidine-analogue treated HIV-infected patients. *AIDS* 2006; 20:1554–1556.
22. Sutinen J, Walker UA, Sevastianova K, Klinker H, Hakkinen AM, Ristola M, et al. Uridine supplementation for the treatment of antiretroviral therapy-associated lipoatrophy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Antivir Ther* 2007; 12:97–105.
23. Note R, Maisonneuve C, Letteron P, Peytavin G, Djouadi F, Igoudjil A, et al. Mitochondrial and metabolic effects of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) in mice receiving one of five single- and three dual-NRTI treatments. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3384–3392.
24. Morse GD, Olson J, Portmore A, Taylor C, Plank C, Reichman RC. Pharmacokinetics of orally administered zidovudine among patients with hemophilia and asymptomatic human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Antiviral Res* 1989; 11:57–65.
25. Keilbaugh SA, Hobbs GA, Simpson MV. Antihuman immunodeficiency virus type 1 therapy and peripheral neuropathy: prevention of 2',3'-dideoxycytidine toxicity in PC12 cells, a neuronal model, by uridine and pyruvate. *Mol Pharmacol* 1993; 44:702–706.
26. Lebrecht D, Setzer B, Ketelsen UP, Haberstroh J, Walker UA. Time-dependent and tissue-specific accumulation of mtDNA and respiratory chain defects in chronic doxorubicin cardiomyopathy. *Circulation* 2003; 108:2423–2429.

27. DiMauro S, Mendell JR, Sahenk Z, Bachman D, Scarpa A, Scofield RM, et al. Fatal infantile mitochondrial myopathy and renal dysfunction due to cytochrome-c-oxidase deficiency. *Neurology* 1980; 30:795–804.
28. Capaldi RA, Marusich MF, Taanman JW. Mammalian cytochrome-c oxidase: characterization of enzyme and immunological detection of subunits in tissue extracts and whole cells. *Methods Enzymol* 1995; 260:117–132.
29. Walker UA, Setzer B, Venhoff N. Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors. *AIDS* 2002; 16:2165–2173.
30. Lebrecht D, Geist A, Ketelsen UP, Haberstroh J, Setzer B, Walker UA. Dexrazoxane prevents doxorubicin-induced long-term cardiotoxicity and protects myocardial mitochondria from genetic and functional lesions in rats. *Br J Pharmacol* 2007; 151:771–778.
31. Maisonneuve C, Igoudjil A, Begriche K, Letteron P, Guimont MC, Bastin J, et al. Effects of zidovudine, stavudine and beta-aminoisobutyric acid on lipid homeostasis in mice: possible role in human fat wasting. *Antivir Ther* 2004; 9:801–810.
32. Lewis W, Dalakas MC. Mitochondrial toxicity of antiviral drugs. *Nature Med* 1995; 1:417–422.
33. Moyle GJ, Sadler M. Peripheral neuropathy with nucleoside antiretrovirals: risk factors, incidence and management. *Drug Safety* 1998; 19:481–494.
34. Anderson TD, Davidovich A, Feldman D, Sprinkle TJ, Arezzo J, Brosnan C, et al. Mitochondrial schwannopathy and peripheral myelinopathy in a rabbit model of dideoxycytidine neurotoxicity. *Lab Invest* 1994; 70:724–739.
35. Dalakas MC, Semino-Mora C, Leon-Monzon M. Mitochondrial alterations with mitochondrial DNA depletion in the nerves of AIDS patients with peripheral neuropathy induced by 2'3'-dideoxycytidine (ddC). *Lab Invest* 2001; 81:1537–1544.
36. Robinson B, Li Z, Nath A. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors and human immunodeficiency virus proteins cause axonal injury in human dorsal root ganglia cultures. *J Neurovirol* 2007; 13:160–167.
37. Skopelitis EE, Kokotis PI, Kontos AN, Panayiotakopoulos GD, Konstantinou K, Kordossis T, et al. Distal sensory polyneuropathy in HIV-positive patients in the HAART era: an entity underestimated by clinical examination. *Int J STD AIDS* 2006; 17:467–472.
38. Ewings EL, Gerschenson M, St Claire MC, Nagashima K, Skopets B, Harbaugh SW, et al. Genotoxic and functional consequences of transplacental zidovudine exposure in fetal monkey brain mitochondria. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 24:100–105.
39. Venerosi A, Calamandrei G, Alleva E. Animal models of anti-HIV drugs exposure during pregnancy: effects on neurobehavioral development. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26:747–761.
40. Venerosi A, Valanzano A, Puopolo M, Calamandrei G. Neurobehavioral effects of prenatal exposure to AZT: a preliminary investigation with the D1 receptor agonist SKF 38393 in mice. *Neurotoxicol Teratol* 2005; 27:169–173.
41. Enting RH, Hoetelmans RM, Lange JM, Burger DM, Beijnen JH, Portegies P. Antiretroviral drugs and the central nervous system. *AIDS* 1998; 12:1941–1955.
42. Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther* 2000; 22:685–708.
43. McComsey GA, O'Riordan M, Setzer B, Lebrecht D, Baron E, Walker UA. Uridine supplementation in HIV lipodystrophy: pilot trial on safety and effect on mitochondrial indices. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62:1031–1037.
44. DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial disorders in the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2008; 31:91–123.

Влияние прерывистой антиретровирусной терапии под контролем числа лимфоцитов CD4 на объем жировой ткани и метаболические параметры

Esteban Martinez^a, Fehmida Visnegarwala^b, Birgit Grund^c,
Avis Thomas^c, Cynthia Gibert^d, Judith Shlay^e, Fraser Drummond^f,
Daniel Pearce^g, Simon Edwards^h, Peter Reissⁱ, Wafaa El-Sadri,
Andrew Carr^k для исследовательской группы INSIGHT SMART

Цель. Изучить влияние щадящего режима антиретровирусной терапии (АРТ) на объем жировой ткани и метаболические параметры.

Дизайн. Данная работа является подисследованием испытания SMART (Strategies for Management of AntiRetroviral Therapy — исследование различных подходов к проведению АРТ), которое предусматривало рандомизацию пациентов для получения прерывистой АРТ под контролем числа лимфоцитов CD4 либо АРТ в непрерывном режиме.

Методы. В подисследование влияния прерывистой АРТ на объем жировой ткани включались участники SMART, наблюдавшиеся в 33 исследовательских базах. Величину жировых отложений в различных зонах тела оценивали ежегодно с помощью двухфотонной рентгеновской абсорбциометрии всего тела и компьютерной томографии живота. Метаболические параметры определяли натошак через 4 и 8 мес. наблюдения, затем ежегодно. Изменение объемов жировых отложений и параметров обмена веществ в двух лечебных группах сравнивали методом продольного анализа смешанных эффектов.

Результаты. 275 пациентов были случайным образом распределены в группы прерывистой ($n = 142$) и непрерывной ($n = 133$) АРТ, медиана периода наблюдения составила 2 года. Спустя 12 мес. наблюдения в группе прерывистой терапии определялось увеличение объема подкожной жировой клетчатки на конечностях (межгрупповая разница 9,8 %; 95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 3,5–16,1; $p = 0,003$) и в зоне живота (межгрупповая разница 14,3 см²; 95% ДИ –0,1 ... +28,7; $p = 0,05$). Влияние двух режимов АРТ на объем висцеральной жировой клетчатки было сопоставимым (межгрупповая разница –2,1 %; 95% ДИ –13,5 ... +9,4; $p = 0,72$). Уровень липидов у получавших прерывистую АРТ пациентов уже спустя 4 мес. был значимо ниже, чем в группе непрерывной терапии, данное межгруппо-

^aHospital Clinic, Institut d'Investigacions Biomediques August Pi i Sunyer, University of Barcelona, Barcelona, Spain, ^bAbsoluteCare Medical Center, Atlanta, Georgia, ^cUniversity of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, ^dVeterans Affairs Medical Center, Washington, District of Columbia, ^eDenver Public Health, Denver, Colorado, USA, ^fNational Centre in HIV Epidemiology and Clinical Research, University of New South Wales, Sydney, Australia, ^gAltaMed Health Services, Los Angeles, California, USA, ^hMortimer Market Centre, University College Hospital, London, UK, ⁱCenter for Infection and Immunity (CINIMA), Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, ^jHarlem Hospital and Columbia University, New York, New York, USA, ^kSt Vincent's Hospital, University of New South Wales, Sydney, Australia.

Автор, ответственный за переписку: Esteban Martinez, MD, PhD, Infectious Diseases Unit, Hospital Clinic-Institut d'Investigaciones Biomediques August Pi i Sunyer, University of Barcelona, C/Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.

Tel: +34 93 2275430; fax: +34 93 4514438; e-mail: esteban@fundorsoriano.es

Получено 9 июля 2009 г.; получено с поправками 16 сентября 2009 г.; принято в печать 18 сентября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e3283333666

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: 95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; DEXA — двухфотонная рентгеновская абсорбциометрия; НОМА — гомеостатическая модель оценки инсулинорезистентности; АРТ — антиретровирусная терапия; ИМТ — индекс массы тела; КТ — компьютерная томография; ЛПВП — липопротеиды высокой плотности; ЛПНП — липопротеиды низкой плотности; НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ — нунуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

вое различие сохранялось до конца периода наблюдения ($p \leq 0,001$). Уровень гликозилированного гемоглобина А1С за 12 мес. наблюдения в группе прерывистой терапии увеличился (+0,3 %), в то время как во 2-й лечебной группе он оставался стабильным ($p = 0,003$), эта межгрупповая разница была статистически значимой в течение всего периода наблюдения ($p = 0,02$).

Выводы. 12-месячная прерывистая АРТ привела к увеличению объема подкожной жировой клетчатки, не влияла на объем висцеральной жировой клетчатки, снизила сывороточный уровень липидов и повысила уровень гликозилированного гемоглобина А1С по сравнению с АРТ в непрерывном режиме.

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2010, 24:353–363

Ключевые слова: метаболизм, объем жировой клетчатки, прерывистая антиретровирусная терапия.

Введение

Антиретровирусная терапия (АРТ) часто осложняется липодистрофией, согласно опубликованным данным — в 30–50 % случаев.^{1–4} Это побочное явление ухудшает внешний вид и качество жизни пациентов, снижает их приверженность к терапии. Кроме того, оно часто сопровождается дислипидемией, инсулиноустойчивостью, гиперлактатемией и нарушением половой функции.^{5–9} Собственно ВИЧ-инфекция и особенности организма пациента также могут способствовать развитию липодистрофии, однако ключевым фактором ее патогенеза является АРТ. Многочисленные наблюдения указывают на повышение риска липодистрофии при лечении нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (НИОТ) из группы аналогов тимидина (в большей степени ставудином, чем зидовудином), особенно в комбинации с ингибиторами протеазы ВИЧ I поколения.^{10–15}

Единственным подходом к лечению липодистрофии с доказанной эффективностью является отмена аналогов тимидина, однако и в этом случае осложнение регрессирует медленно и лишь частично.^{16–18} Эффективность замены отдельных компонентов АРТ менее токсичными аналогами с целью нормализации объема висцеральной жировой клетчатки четко не доказана.⁹ В небольших нерандомизированных исследованиях, предусматривавших применение прерывистого режима АРТ у пациентов с липодистрофией, было достигнуто объективное увеличение объема жировой клетчатки конечностей,^{19–22} а в подобных крупных рандомизированных исследованиях — субъективное улучшение симптомов.^{23,24}

С помощью объективных методов обследования нами были изучены объем жировой клетчатки и метаболические параметры участников крупного рандомизированного исследования SMART (Strategies for Management of Anti-Retroviral Therapy — исследование различных подходов к проведению АРТ), посвященного сравнению прерывистой АРТ под контролем числа лимфоцитов CD4 и непрерывного режима АРТ.²⁵ При этом

мы предполагали, что лечение в прерывистом режиме позволит ослабить такие распространенные побочные эффекты АРТ, как атрофия подкожной жировой клетчатки, увеличение висцеральных жировых отложений, инсулинорезистентность и повышение уровня общего холестерина и триглицеридов.⁹

Методы

Пациенты

Участниками исследования SMART были ВИЧ-инфицированные пациенты старше 13 лет с числом лимфоцитов CD4 > 350/мкл. Факт применения или неприменения АРТ на момент начала исследования либо в анамнезе при отборе пациентов не учитывался. Беременные и кормящие грудью женщины исключались из исследования. В подисследование влияния прерывистой АРТ на величину жировых отложений включались участники SMART, которые наблюдались в 33 исследовательских базах США, Австралии и Испании. Исследовательские базы были отобраны, исходя из их оснащенности аппаратом двухфотонной рентгеновской абсорбциометрии (DEXA) и компьютерным томографом, сертифицированными для использования в клинических исследованиях. Исследование было одобрено этическими комитетами всех исследовательских баз; все пациенты дали письменное согласие на участие в нем.

Дизайн исследования

Дизайн исследования SMART описан в литературе.²⁵ Коротко отметим, что пациенты были рандомизированы в соотношении 1:1 в группы прерывистой (щадящей) и непрерывной (нацеленной на подавление вирусии) АРТ. Прерывистый режим АРТ предусматривал прекращение приема антиретровирусных препаратов всякий раз, когда число лимфоцитов CD4 достигало 350/мкл, и его возобновление всякий раз, когда этот показатель падал ниже 250/мкл. Вторая группа пациентов получала АРТ в постоянном режиме, направленную

на стойкое подавление вирусемии. Перед рандомизацией пациенты были стратифицированы по исследовательской базе.

Основной целью настоящего подисследования было сравнить изменения массы жировой клетчатки конечностей, измеренной посредством DEXA, и объема висцеральной жировой клетчатки, измеренного посредством компьютерной томографии (КТ), в двух лечебных группах относительно исходных значений. DEXA и КТ выполнялись перед началом исследования и далее ежегодно. Планировалось, что количество участников данного подисследования составит 300 человек, а длительность наблюдения за ними — не менее 5 лет. Этот размер выборки был рассчитан, исходя из 80%-й мощности и 5%-го уровня значимости выявления различий в массе жировой клетчатки конечностей 0,5 кг и в объеме висцеральной жировой клетчатки 25 см².

Однако прерывистая АРТ увеличивала риск СПИДа, смерти и серьезных осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, печени и почек; согласно рекомендации независимого комитета по мониторингу данных и безопасности, с 11 января 2006 г. набор пациентов в SMART был прекращен и всем его участникам рекомендована АРТ в постоянном режиме.

Сбор данных

Измерение жировых отложений

Перед началом исследования и далее ежегодно всем пациентам выполняли DEXA всего тела (с измерением массы жировой клетчатки конечностей, туловища, всего тела и безжировой массы тела) и КТ живота (с измерением объема подкожной и висцеральной жировой ткани). Женщинам детородного возраста эти исследования проводили при условии отсутствия беременности, подтвержденного тестированием сыворотки крови или мочи в течение предшествующих 14 дней. Исходные показатели величины жировых отложений измерялись в течение 60 дней, предшествующих рандомизации.

DEXA и КТ выполнялись в рентгенологических отделениях 10 исследовательских баз с использованием стандартизованных протоколов сканирования, базирующихся на заявленных производителем спецификациях оборудования; все полученные изображения интерпретировались в одном рентгенологическом центре (Bio-Imaging Technologies, Ньютаун, США). Помимо прочего протоколы сканирования предусматривали, чтобы повторные обследования каждого пациента проводились с использованием тех же аппаратов и параметров сканирования, что и исходное обследование. Разработку протоколов сканирования, сертификацию рентгенологического оборудования и персонала перед началом исследования, а также контроль качества рентгенологического обследования пациентов осуществляла компания Bio-Imaging Technologies.

Во время процедуры DEXA пациент располагался на столе в положении лежа на спине с выпрямленными, отодвинутыми от бедер руками, с развернутыми вниз ладонями и выпрямленными и ротируемыми внутрь на 25° ногами, таким образом, чтобы все части тела находились в пределах зоны сканирования. Из 10 задей-

ствованных в исследовании рентгенологических отделений в 6 случаях использовался аппарат Lunar (GE Healthcare Lunar, США), в 4 — Hologic (Hologic Inc., США). Для обеспечения точности измерений перед началом исследования и при подозрении на сбой калибровки аппаратов DEXA ее корректировали путем сканирования калибровочных фантомов, имитирующих человеческие ткани с различным процентным содержанием жира (VCP 027; Abbott Plastics, США).

Методика измерения объема жировой ткани посредством КТ и контроль качества этого исследования описаны в литературе.²⁶ Во время каждого исследования выполнялось по 3 снимка брюшной полости в косой осевой проекции на уровне межпозвоночных дисков L_{II}–L_{III}, L_{III}–L_{IV} и L_{IV}–L_V. Путем анализа яркости пиксельных изображений подкожной и висцеральной жировой клетчатки были рассчитаны их объемы на каждом из указанных выше уровне. Затем были определены средние значения этих показателей.

Определение метаболических параметров и прочие исследования

Пробы крови (не ранее чем через 8 ч после последнего приема пищи) брали до начала исследования (в течение 45 дней, предшествующих рандомизации), через 4, 8 и 12 мес. от начала наблюдения и далее ежегодно. Уровень общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов и глюкозы определяли методом автоматизированного ферментного анализа, а уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) — методом спектрофотометрии с помощью биохимического анализатора Olympus AU600 (Olympus America, США). Уровень инсулина измеряли методом хемилюминесцентного иммунометрического анализа с использованием мышиных моноклональных и овечьих поликлональных антител к инсулину, уровень С-пептида — методом иммунохемилюминесцентного анализа на анализаторе Siemens DPC Immulite 2000 (Siemens Medical Solutions, США). Уровень молочной кислоты в венозной крови (с помощью анализатора Vitros DT60 II; OrthoClinical Diagnostics, США) и уровень гликозилированного гемоглобина А1С (методом иммунотурбидиметрического анализа на анализаторе COBAS INTEGRA 700; Roche Diagnostics, Швейцария) определяли перед началом исследования и далее ежегодно. Все образцы крови замораживали при температуре –70 °С и в дальнейшем тестировали партиями в центральной лаборатории (Quest Diagnostics, Inc., Балтимор, США). О выраженности инсулинорезистентности судили по индексу НОМА (homeostasis model assessment of insulin resistance — гомеостатическая модель оценки инсулинорезистентности).²⁷

Все пациенты были обследованы на предмет наличия липоатрофии и патологического отложения жира и для определения степени их тяжести.² Удовлетворенность пациентов своим внешним видом оценивалась с помощью 100-балльной визуальной аналоговой шкалы. Анамнез заболевания и данные об использовании АРТ, числе лимфоцитов CD4 и вирусной нагрузке регистрировали перед началом исследования и в ходе наблюдения согласно графику, описанному нами ранее.²⁵

Статистический анализ

Были проанализированы исходные характеристики пациентов. Медиана времени до первого приема антиретровирусных препаратов в группе прерывистой АРТ была рассчитана методом Каплана—Мейера. Моментом окончания периода наблюдения считали дату последнего обследования, выполненного в рамках настоящего подисследования до 12 января 2006 г.

Данные для анализа всех межгрупповых различий отбирали методом «intention-to-treat» (с включением всех пациентов, которым было назначено лечение). Группы прерывистой и непрерывной АРТ сравнивались по изменению величины жировых отложений, безжировой массы тела и лабораторных параметров от исходного уровня методами продольного анализа смешанных эффектов (за весь период наблюдения) и линейной регрессии (на момент отдельных этапов наблюдения). По стечению обстоятельств группа непрерывной АРТ содержала большее число женщин, чем группа прерывистой лечения, и среди представителей негроидной расы преобладали женщины. Поскольку величина жировых отложений и многие лабораторные параметры варьировали в зависимости от пола и расы, при анализе межгрупповых различий были учтены поправки на эти факторы, а также на их совокупное влияние. Были рассчитаны средние изменения учитываемых параметров в каждой из лечебных групп с учетом указанных выше поправок, соответствующие межгрупповые различия, их 95%-е доверительные интервалы (95% ДИ) и уровень значимости p . Для показателя массы жировой клетчатки конечностей было проанализировано как абсолютное, так и процентное изменение от исходного уровня. Поскольку с увеличением массы жировой клетчатки конечностей вариабельность ее абсолютного изменения возрастает, предположение об однородности дисперсий, на котором базируется используемая статистическая модель, более достоверно при процентном выражении изменения этого параметра. Таким образом, процентное выражение изменений массы жировой клетчатки конечностей позволяет повысить точность анализа. Нами были выполнены оба варианта анализа, поскольку протокол исследования предусматривал учет абсолютных изменений учитываемых параметров.

Отдельно был выполнен сравнительный анализ сопутствующего влияния различных исходных характеристик пациентов на величину жировых отложений пациентов двух групп. Проверку однородности изменений учитываемых параметров в подгруппах, выделенных в зависимости от этих сопутствующих факторов (предпочтительно непрерывных переменных), осуществляли путем оценки значимости их совместного с режимом АРТ влияния на рассматриваемый параметр. Было проанализировано сопутствующее влияние таких исходных характеристик пациентов, как возраст, пол, расовая либо этническая принадлежность, исходное число лимфоцитов CD4 и минимальное значение этого показателя, вирусная нагрузка ($< vs >$ 400 копий/мл), курение, наличие гепатита В или С, наличие СПИДа в анамнезе, индекс массы тела (ИМТ), наличие липоатрофии или патологического отложения жира, измеренная посредством DEXA исходная масса жировой клетчатки конечностей и использование АРТ, ингибиторов протеазы, ННИОТ и тимициновых НИОТ на момент вклю-

чения в исследование. Протоколом исследования предусматривался анализ сопутствующего влияния пола и применения АРТ на момент включения пациента.

Статистический анализ был выполнен с помощью программного пакета SAS, версия 9.1 (SAS Institute, США). Все критерии сравнения были двусторонними. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Характеристика пациентов

За период с мая 2002 г. по январь 2006 г. в подисследовании SMART о влиянии прерывистой АРТ на величину жировых отложений было включено 275 пациентов (142 — в группу прерывистого лечения, 133 — в группу непрерывного лечения). Их исходные характеристики представлены в табл. 1. На момент начала исследования доли мужчин, пациентов, получавших АРТ на момент включения, и лиц без ВИЧ в группе прерывистой АРТ были большими по сравнению с группой непрерывного лечения. Доля представителей негроидной расы среди мужчин была меньшей, чем среди женщин (18 vs 61 %). В отношении других характеристик лечебные группы были сопоставимы между собой. По сравнению с исследованием SMART среди участников данного подисследования было меньше женщин (19 vs 27 %), лиц, получавших АРТ на момент включения (74 vs 84 %), и пациентов с уровнем РНК ВИЧ \leq 400 копий/мл (58 vs 72 %) (см. табл. 1).

Медиана продолжительности наблюдения за пациентами составила 24 мес. В группе прерывистой АРТ медиана времени до начала приема антиретровирусных препаратов была равна 13 мес. На момент выполнения первых ежегодных КТ и DEXA спустя 12,3 мес. наблюдения (22 % от общего периода) пациенты группы прерывистой АРТ получали антиретровирусные препараты в течение 2,7 мес. Суммарная продолжительность АРТ в группах прерывистого и непрерывного лечения составляла 37 и 94 % от общего периода наблюдения соответственно. Динамика доли получавших АРТ пациентов в течение периода наблюдения представлена на рис. 1.

Влияние режимов АРТ на величину жировых отложений

Данные о влиянии рассматриваемых режимов АРТ на объемы жировой клетчатки и безжировую массу тела представлены в табл. 2. Из 275 участников подисследования в основной анализ было включено 192 пациента (106 — из группы прерывистой АРТ, 86 — из группы непрерывной АРТ), которые прошли запланированные КТ и DEXA в течение периода наблюдения; из остальных 83 пациентов 82 (99 %) не прошли запланированные КТ и DEXA из-за досрочного завершения исследования, 1 пациент был исключен из анализа по другой причине. Спустя 36 мес. наблюдения из указанных выше 192 пациентов КТ и DEXA были выполнены 68 (35 %) участникам; 2 пациента умерли (в группе прерывистой АРТ), 4 пациента не явились на обследование (в группе непрерывной АРТ), оставшиеся 118 больных не были обследованы из-за досрочного завершения исследования. Наиболее выраженные межгрупповые различия по дина-

Таблица 1. Исходные характеристики пациентов

Показатель	Анализ влияния прерывистой АРТ на величину жировых отложений			Исследование SMART (n = 5472)
	Всего (n = 275)	Группа прерывистой АРТ (n = 142)	Группа непрерывной АРТ (n = 133)	
Демографические характеристики				
Возраст, годы (медиана; МКИ)	44,0 (39,0; 50,0)	45,0	43,0	43,0
Женщины, %	18,5	14,1	23,3	27,2
Расовая/этническая принадлежность				
Негроидная раса, %	25,8	23,9	27,8	29,1
Латиноамериканцы, %	17,1	18,3	15,8	21,1
Белые, %	55,3	56,3	54,1	43,6
Другая/неизвестна, %	1,8	1,4	2,3	6,2
Предполагаемый путь заражения ВИЧ				
Сексуальный контакт между мужчинами, %	62,9	68,3	57,1	49,9
Гетеросексуальный контакт, %	33,1	31,0	35,3	45,0
Употребление в/в наркотиков, %	13,8	14,1	13,5	9,7
Другой, %	6,9	4,9	9,0	8,1
Время с момента выявления ВИЧ-инфекции, годы (медиана; МКИ)	8,5 (5,0; 13,6)	8,7	7,9	—
Клинические характеристики				
Наличие СПИДа в анамнезе, %	22,2	24,6	19,5	23,9
Наличие гепатита В, %	3,7	2,9	4,6	2,3
Наличие гепатита С, %	16,1	16,4	15,8	14,8
Курение в период исследования, %	45,8	41,5	50,4	40,5
Прием гиполлипидемических средств, %	22,2	22,5	21,8	—
Число лимфоцитов CD4/мкл (медиана; МКИ)	554 (437; 783)	590	525	597
Наименьшее число лимфоцитов CD4/мкл (медиана; МКИ)	260 (150; 377)	256	270	250
Вирусная нагрузка РНК ВИЧ < 400 копий/мл, %	57,5	64,8	49,6	71,7
Применение АРТ в анамнезе				
Не применялась, %	7,6	5,6	9,8	4,6
Применялась на момент начала исследования, %	74,2	79,6	68,4	83,9
Применялись ингибиторы протеазы, %	35,6	38,7	32,3	45,2
Применялись ННИОТ, %	36,7	40,1	33,1	49,0
Применялись НИОТ класса аналогов тимидина, %	52,0	56,3	47,4	58,7
Время с момента первого назначения АРТ, годы (медиана; МКИ)	6,0 (3,4; 8,1)	5,9	6,2	6,0
Время с момента первого назначения ингибиторов протеазы, годы (медиана; МКИ)	2,5 (0,0; 4,5)	2,5	1,5	2,5
Патологическое распределение жировых отложений				
Периферическая липоатрофия, ^a %	19,3	20,4	18,0	—
Липогипертрофия, ^a %	20,7	22,5	18,8	—
Липодистрофия, ^{a,b} %	8,4	8,5	8,3	—
Объем жировой ткани				
ИМТ, кг/м ² (медиана; МКИ)	25,6 (23,3; 28,8)	25,7	25,6	25,9
Масса жировой клетчатки конечностей, кг (медиана; МКИ)	6,6 (4,0; 9,4)	6,5	6,7	—
Масса жировой клетчатки конечностей, % от массы конечностей (медиана; МКИ)	19,5 (13,9; 27,3)	19,6	19,4	—
Безжировая масса тела, кг (медиана; МКИ)	57,8 (49,0; 63,5)	57,8	58,2	—
Общая масса жировой клетчатки, кг (медиана; МКИ)	18,0 (12,9; 24,8)	18,4	17,5	—
Объем висцеральной жировой клетчатки, см ² (медиана; МКИ)	117 (69; 181)	119	117	—
Объем подкожной жировой клетчатки зоны живота, см ² (медиана; МКИ)	143 (88; 207)	139	146	—
Удовлетворенность своим внешним видом (0–100 баллов), ^c %	70 (50; 80)	70	70	75
Метаболические параметры (спустя > 8 ч после приема пищи)^d				
Общий холестерин, мг/дл (медиана; МКИ)	183 (159; 217)	193	181	191
Холестерин ЛПНП, мг/дл (медиана; МКИ)	109 (84; 133)	112	107	112
Холестерин ЛПВП, мг/дл (медиана; МКИ)	39 (31; 47)	39	38	41

Окончание таблицы 1

Показатель	Анализ влияния прерывистой АРТ на величину жировых отложений			Исследование SMART (<i>n</i> = 5472)
	Всего (<i>n</i> = 275)	Группа прерывистой АРТ (<i>n</i> = 142)	Группа непрерывной АРТ (<i>n</i> = 133)	
Отношение общий холестерин/холестерин ЛПВП (медиана; МКИ)	4,7 (3,7; 6,0)	4,8	4,6	4,6
Триглицериды, мг/дл (медиана; МКИ)	167 (114; 260)	185	156	163
Молочная кислота, ммоль/л (медиана; МКИ)	1,4 (1,1; 1,7)	1,3	1,4	—
С-пептид, нг/мл (медиана; МКИ)	2,8 (1,9; 3,7)	2,8	2,8	—
Инсулин, мкЕД/мл (медиана; МКИ)	11 (7; 18)	11	12	—
Глюкоза, мг/дл (медиана; МКИ)	93 (86; 101)	94	92	—
Гликозилированный гемоглобин А1С, % от общего гемоглобина (медиана; МКИ)	5,1 (4,8; 5,5)	5,0	5,2	—
Индекс НОМА ^е (медиана; МКИ)	2,6 (1,7; 4,5)	2,5	2,6	—

МКИ — межквартильный интервал.

Большинство из этих исходных параметров, в т. ч. объем жировой клетчатки, метаболические показатели и доля лиц, получавших АРТ на момент начала исследования, оставалось стабильным в течение всего периода включения пациентов. Доля лиц со СПИДом в анамнезе среди включенных в первые 2 года участников (*n* = 172) составляла 26 %, в дальнейшем этот показатель снизился до 17 % (*n* = 103). Доля лиц, получавших ингибиторы протеазы либо НИОТ на момент включения в исследование, в ходе наблюдения снизилась с 38 до 32 % и с 56 до 44 % соответственно.

^а Изменение средней либо тяжелой степени, установленное врачом.

^б Предполагает наличие как периферической липоатрофии, так и липогипертрофии.

^с Оценивалась пациентами с помощью визуальной аналоговой 100-балльной шкалы, в которой 0 баллов соответствовали наихудшей оценке, 100 баллов — наилучшей.

^д В отличие от SMART подисследование влияния прерывистой АРТ на величину жировых отложений предусматривало измерение этих показателей натощак.

^е Индекс НОМА = (глюкоза натощак, ммоль/л) × (сывороточный инсулин, мкЕД/л) / 22,5.

мике величины жировых отложений имели место в конце 1-го года наблюдения. Спустя 12 мес. наблюдения в группе прерывистой АРТ масса жировой клетчатки конечностей возросла на 9 %, в то время как в группе непрерывного лечения этот показатель оставался стабильным (−0,8 %) (межгрупповая разница 9,8 %; 95% ДИ 3,5–16,1; *p* = 0,003). Спустя 36 мес. наблюдения прирост массы жировой клетчатки конечностей в группе прерывистой АРТ был на 8,7 % больше, чем в группе непрерывного лечения (95% ДИ 2,0–15,4; *p* = 0,01) (рис. 1, б). Однако межгрупповое различие по абсолютному приросту этого показателя не было статистически значимым (рис. 1, с). Анализ динамики массы жировой клетчатки конечностей, включавший пациентов, которые наблюдались не менее 2 лет, дал сходные результаты.

Через 12 мес. наблюдения у пациентов обеих групп определялось увеличение объема подкожной жировой клетчатки живота, несколько более выраженное в группе прерывистой АРТ (межгрупповая разница — 14,3 см², что соответствует пограничному уровню статистической значимости; 95% ДИ −0,1 ... +28,7; *p* = 0,05) (см. табл. 2). Объем висцеральной жировой клетчатки за 12 мес. наблюдения также возрос в обеих лечебных группах, однако межгрупповая разница по этому показателю ни на одном контрольном этапе не была статистически значимой (рис. 1, д). Влияние двух режимов АРТ на безжировую массу тела и удовлетворенность пациентов своим внешним видом также были статистически сопоставимы.

Анализ изменения жировых отложений через 12 мес. наблюдения в зависимости от различных сопутствующих факторов

Результаты анализа изменений массы жировой клетчатки конечностей и объема висцеральной жировой клет-

чатки за 12 мес. наблюдения в зависимости от различных сопутствующих факторов представлены на рис. 2. Из-за малого числа пациентов в некоторых выделенных в зависимости от сопутствующих факторов подгруппах этот анализ не учитывал потенциальное влияние расы и пола, однако после внесения соответствующих поправок были получены сходные результаты (данные не приводятся).

В абсолютном выражении изменение массы жировой клетчатки конечностей у получавших НИОТ на момент включения пациентов (*n* = 64; разница между группами непрерывной и прерывистой АРТ −0,4 кг; *p* = 0,42) было менее выраженным, чем у лиц, получавших антиретровирусные препараты других классов (*n* = 75; разница 1,1 кг; *p* = 0,007), при *p* = 0,02. Сопутствующее влияние на объем висцеральной жировой клетчатки оказывали такие исходные характеристики, как раса, вирусная нагрузка, наличие вирусного гепатита, наличие липоатрофии и прием НИОТ на момент включения в исследование (см. рис. 2).

Помимо сопутствующих факторов, представленных на рис. 2, было проанализировано потенциальное влияние на эффекты рассматриваемых режимов АРТ возраста, исходного числа лимфоцитов CD4, наименьшего числа лимфоцитов CD4, наличия СПИДа в анамнезе, ИМТ, курения и использования АРТ на момент включения в исследование. Ни один из этих факторов не оказывал влияния на объем жировой ткани (*p* > 0,05).

Влияние прерывистой и непрерывной АРТ на процентное изменение массы жировой клетчатки конечностей относительно исходного уровня также не зависело ни от одного из этих факторов (уровень значимости совокупного с режимом АРТ влияния *p* > 0,05). Наиболее близким к уровню статистической значимости

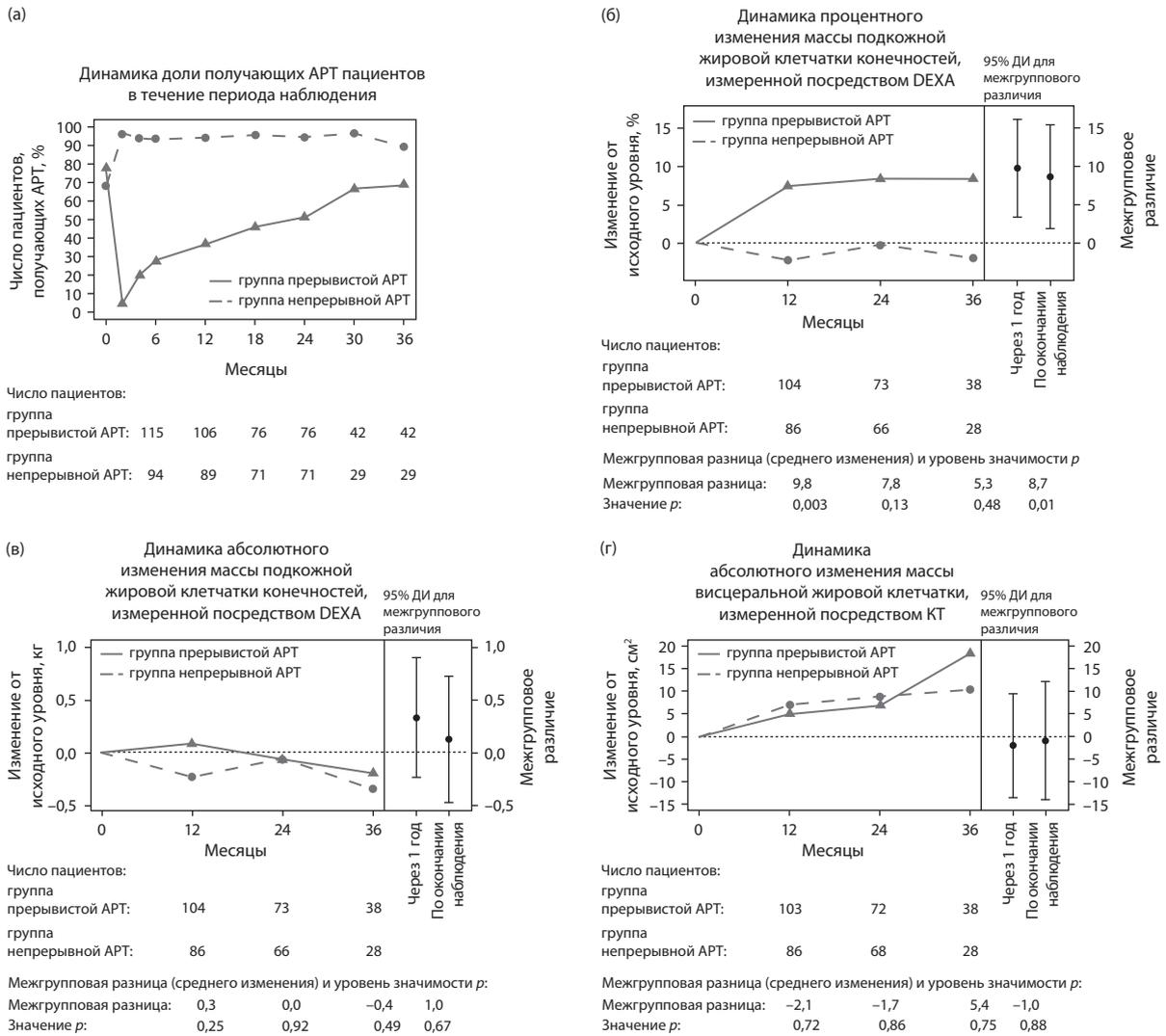


Рис. 1. Динамика процентной доли получавших АРТ пациентов в группах прерывистого и непрерывного лечения в течение периода наблюдения (а); процентного (б) и абсолютного (в) изменения массы жировой клетчатки конечностей относительно исходного уровня (согласно данным DEXA) и абсолютного изменения объема висцеральной жировой клетчатки относительно исходного уровня (согласно данным КТ) (г). В правой части диаграмм б–г графически представлены межгрупповые различия по изменению соответствующих параметров относительно исходного уровня через 12 мес. и по окончании периода наблюдения вместе с их 95% ДИ. Межгрупповые различия, ДИ и уровень значимости *p* были рассчитаны методами регрессионного (на момент каждого обследования) и продольного анализа (через 36 мес. наблюдения). Во всех случаях при статистическом анализе учитывалось влияние расы, пола и их сочетания.

Таблица 2. Влияние АРТ в прерывистом и непрерывном режимах на объем жировой ткани

Показатель	Среднее изменение от исходного уровня через 12 мес. наблюдения ^а					Среднее изменение от исходного уровня через 36 мес. наблюдения ^б		
	пАРТ	нАРТ	Межгрупповая разница	95% ДИ	<i>p</i>	Межгрупповая разница	95% ДИ	<i>p</i>
Масса жировой клетчатки на конечностях, абсолютное изменение, кг	0,20	-0,13	0,34	-0,23 ... +0,90	0,25	0,13	-0,47 ... +0,73	0,67
Изменение массы жировой клетчатки на конечностях, %	9,0	-0,8	9,8	3,5–16,1	0,003	8,7	2,0–15,4	0,01
Безжировая масса конечностей, кг	-0,29	-0,18	-0,11	-0,51 ... +0,29	0,60	-0,03	-0,44 ... +0,39	0,90
Общая масса жировой клетчатки, кг	0,45	-0,23	0,68	-0,59 ... +1,95	0,29	0,17	-1,18 ... +1,52	0,81
Безжировая масса тела, кг	-0,48	-0,08	-0,40	-1,11 ... +0,31	0,27	-0,25	-0,99 ... +0,50	0,52
Объем висцеральной жировой клетчатки, см ²	3,5	5,5	-2,1	-13,5 ... +9,4	0,72	-1,0	-14,0 ... +12,0	0,88
Объем подкожной жировой клетчатки зоны живота, см ²	19,3	5,0	14,3	-0,1 ... +28,7	0,05	10,3	-4,6 ... +25,3	0,17
Удовлетворенность своим внешним видом ^д	-0,3	-0,0	-0,3	-6,8 ... +6,3	0,94	-0,8	-6,8 ... +5,2	0,80

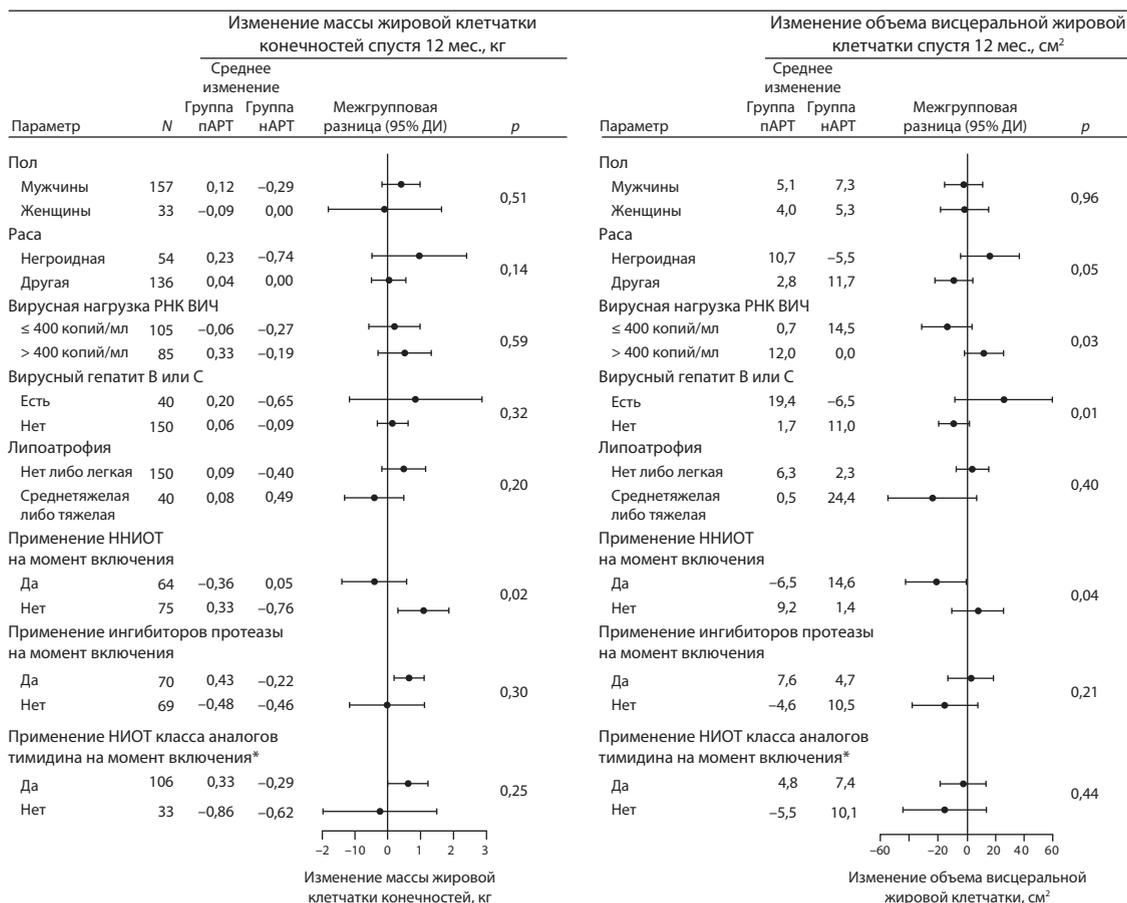
пАРТ — прерывистая АРТ; нАРТ — непрерывная АРТ.

^а С учетом поправок на пол, расу и совместное влияние пола и расы.

^б Значения показателей и уровня значимости (*p*) были рассчитаны методом продольного анализа смешанных эффектов с учетом влияния пола, расы и совокупного влияния пола и расы.

^в Процентное изменение = (масса жировой клетчатки конечностей после лечения – исходная масса жировой клетчатки конечностей) / (исходная масса жировой клетчатки конечностей) × 100 %.

^д Оценивалась с помощью визуальной аналоговой 100-балльной шкалы, в которой 0 баллов соответствовали наихудшей оценке, 100 баллов — наилучшей.



* Число пациентов, получавших НИОТ группы аналогов тимидина на момент начала исследования, составляло 60 и 46 лиц в группах прерывистой и непрерывной АРТ соответственно. В группе непрерывной АРТ спустя 1 год наблюдения аналоги тимидина получало 36 человек: 35 (76 %) из указанных 46 пациентов и 1 участник, которому препарат этой группы был назначен в ходе исследования. В группе прерывистой АРТ к концу 1-го года наблюдения АРТ получало 24 пациента, из них аналоги тимидина — 16 человек. Возраст, исходное число лимфоцитов CD4, наименьшее число лимфоцитов CD4, наличие СПИДА в анамнезе, ИМТ, курение, использование АРТ на момент начала наблюдения и его длительность не оказывали влияния на рассматриваемые эффекты АРТ (уровень значимости совместного с режимом АРТ влияния $p > 0,05$).

Рис. 2. Изменение массы жировой клетчатки конечностей и висцеральной жировой клетчатки через 12 мес. наблюдения от исходного уровня в группах прерывистой и непрерывной АРТ в зависимости от различных сопутствующих факторов, а также результаты проверки однородности дисперсий этих показателей в подгруппах пациентов, выделенных в зависимости от этих сопутствующих факторов. пАРТ — прерывистая АРТ; нАРТ — непрерывная АРТ.

было сопутствующее влияние на процентное изменение массы жировой клетчатки конечностей таких факторов, как использование НИОТ класса аналогов тимидина ($n = 106$; разница между группами прерывистой и непрерывной АРТ 15,3 %; $p < 0,001$, в то время как в подгруппе лиц, получавших другие антиретровирусные препараты на момент включения: $n = 33$; разница $-1,5$ %; $p = 0,84$; уровень значимости совместного с режимом АРТ влияния $p = 0,07$) и ННИОТ на момент включения в исследование (разница между группами прерывистой и непрерывной АРТ 4 %; $p = 0,52$; в то время как в подгруппе лиц, на момент включения принимавших другие антиретровирусные препараты: разница 17,7 %; $p < 0,001$; уровень значимости совместного влияния с режимом АРТ $p = 0,08$).

Влияние режимов АРТ на лабораторные параметры

Данные об изменении метаболических параметров относительно исходного уровня спустя 4, 12 и 36 мес. наблюдения представлены в табл. 3. Через 4 мес. наблюдения у пациентов из группы прерывистой АРТ определялось выраженное снижение уровня общего холестерина, холестерина ЛПНП и ЛПВП и уровня триглицеридов (представленного в десятичном логарифмическом масштабе), которое сохранялось вплоть до

окончания 36-месячного периода наблюдения; в то же время в группе непрерывной АРТ эти показатели оставались стабильными либо возросли; межгрупповые различия по параметрам жирового обмена были статистически значимыми ($p \leq 0,001$). Изменение уровня общего холестерина и холестерина ЛПВП было односторонним, вследствие чего влияние терапии на их соотношение не было статистически значимым.

Межгрупповые различия по изменению уровня глюкозы, инсулина, индексу НОМА и уровню молочной кислоты не были статистически значимыми. Уровень гликозилированного гемоглобина А1С в группе прерывистой АРТ за 12 мес. наблюдения возрос на 0,3 %, в то время как в группе непрерывного лечения этот показатель оставался стабильным (межгрупповая разница 0,3 %; 95% ДИ 0,1–0,5; $p = 0,003$). Это межгрупповое различие оставалось статистически значимым вплоть до окончания 36-месячного периода наблюдения ($p = 0,02$). После исключения из анализа пациентов, которые получали сахароснижающие препараты на момент включения в исследование (в группе прерывистой АРТ $n = 13$; в группе непрерывной АРТ $n = 14$), вариабельность уровня гликозилированного гемоглобина А1С снизилась, однако межгрупповая разница по изменению этого показателя спустя 12 и 36 мес. наблюдения оставалась статистически значимой ($p = 0,001$).

Таблица 3. Влияние ART в прерывистом и непрерывном режимах на метаболические параметры

Показатель	Среднее изменение от исходного уровня через 4 мес. наблюдения ^a				Среднее изменение от исходного уровня через 12 мес. наблюдения ^a				Среднее изменение от исходного уровня через 36 мес. наблюдения ^a				
	Межгрупповая разница		95% ДИ	<i>p</i>	Межгрупповая разница		95% ДИ	<i>p</i>	Межгрупповая разница		95% ДИ	<i>p</i>	
	пАРТ	нАРТ			пАРТ	нАРТ			пАРТ	нАРТ			
Общий холестерин, мг/дл	-23,6	18,0	-41,7	-53,8 ... -29,6	< 0,001	-29,5	-39,8 ... -19,3	< 0,001	-21,6	6,4	-27,8	-38,2 ... -17,5	< 0,001
Холестерин ЛПНП, мг/дл	-13,2	5,5	-18,8	-27,6 ... -9,9	< 0,001	-12,0	-19,3 ... -4,8	0,001	-12,5	-0,1	-11,7	-18,8 ... -4,5	0,001
Холестерин ЛПВП, мг/дл	-3,4	3,2	-6,6	-9,4 ... -3,8	< 0,001	-6,6	-9,3 ... -4,0	< 0,001	-3,9	1,8	-6,0	-8,6 ... -3,4	< 0,001
Триглицериды, мг/дл	-29,0	44,7	-73,7	-146 ... -1,2	0,05	-63,6	-109 ... -18	0,01	-38,4	17,9	-57,2	-98,8 ... -15,5	0,01
Уровень триглицеридов, lg	-0,087	0,048	-0,14	-0,20 ... -0,07	< 0,001	-0,10	-0,16 ... -0,05	< 0,001	-0,08	0,03	-0,10	-0,15 ... -0,04	< 0,001
Молочная кислота, ммоль/л	-0,06	-0,16	0,10	-0,14 ... +0,34	0,42	0,11	-0,14 ... +0,36	0,39	-0,09	-0,17	0,09	-0,13 ... +0,32	0,41
С-пептид, нг/мл	0,21	-0,14	0,35	-0,11 ... +0,80	0,14	0,41	0,08-0,75	0,02	0,41	0,08	0,37	0,04-0,75	0,03
Инсулин, мкЕД/мл	1,6	-1,3	2,9	-1,8 ... +7,6	0,23	2,8	-1,1 ... +6,6	0,16	3,2	1,4	1,88	-1,6 ... +5,4	0,29
Глюкоза, мг/дл	6,4	-0,2	6,6	-3,9 ... +17,1	0,22	2,8	-3,9 ... +9,5	0,41	1,6	-1,9	2,78	-3,4 ... +9,0	0,38
Индекс НОМА ^c	0,57	-0,55	1,13	-0,32 ... +2,57	0,13	1,08	-0,3 ... +2,5	0,13	0,9	0,2	0,73	-0,5 ... +1,9	0,23
Гликозилированный гемоглобин А1с, % ^d	—	—	—	—	—	0,3	0,1-0,5	0,003	0,5	0,1	0,3	0,1-0,5	0,02

пАРТ — прерывистая ART; нАРТ — непрерывная ART.

^a Для перерасчета уровня холестерина в ммоль/л следует разделить соответствующее значение в мг/дл на 39.

^b Для перерасчета уровня триглицеридов в ммоль/л следует разделить соответствующее значение в мг/дл на 89.

^c Для перерасчета уровня молочной кислоты в мг/дл следует разделить соответствующее значение в ммоль/л на 9.

^d Для перерасчета уровня С-пептида в ммоль/л следует разделить соответствующее значение в нг/мл на 3.

Для перерасчета уровня инсулина в мкЕД/мл следует разделить соответствующее значение в мкЕД/мл на 24.

Для перерасчета уровня глюкозы в ммоль/л следует разделить соответствующее значение в мг/дл на 18.

^a Показатели и уровень значимости *p* были рассчитаны методами регрессионного (через 4 мес. наблюдения) и продольного анализа (через 12 и 36 мес. наблюдения) с учетом поправок на пол, расу и совокупное влияние пола и расы.

^b Рассчитаны с учетом поправок на расу, пол и совокупное влияние расы и пола.

^c Индекс НОМА = (глюкоза натощак, ммоль/л) × (сывороточный инсулин, мкЕД/л) / 22,5.

^d Через 4 и 8 мес. наблюдения уровень гликозилированного гемоглобина А1с не определялся. За первые 12 мес. наблюдения в группе прерывистой ART этот показатель возрос на 0,3 %, а в группе непрерывной ART оставался стабильным.

и $p < 0,001$ соответственно). Изменения уровня гликозилированного гемоглобина А1С не коррелировали с колебаниями уровня общего гемоглобина (данные не приводятся).

Обсуждение

В настоящем исследовании прерывистая АРТ оказала значимое влияние на параметры жировых отложений и лабораторные показатели липидного обмена. Различия между группами прерывистой и непрерывной АРТ по большинству анализировавшихся параметров были статистически значимыми уже через 12 мес. от начала исследования, при дальнейшем наблюдении их выраженность не возрастала. Это может быть объяснено увеличением доли пациентов, получающих АРТ, в группе прерывистого лечения с течением времени.

В группе прерывистой АРТ наблюдалось увеличение объема жировой клетчатки конечностей (в процентном отношении) относительно исходного уровня, в то время как в группе непрерывной АРТ этот показатель оставался стабильным; объем подкожной жировой клетчатки зоны живота увеличился в обеих группах, однако в группе прерывистой АРТ его прирост был существенно большим. Влияние прерывистой и непрерывной АРТ на объем висцеральной жировой клетчатки было сопоставимым. Различий в динамике массы жировой клетчатки конечностей в абсолютном выражении (кг) также не было, в отличие от процентного прироста этого показателя.

Использование процентного выражения изменений массы жировой клетчатки конечностей от исходного уровня повышает достоверность предположений, на которых базируется статистическая модель продольного анализа, а значит, и точность рассчитываемых показателей и уровня значимости p .¹ Однако протоколом исследования был предусмотрен учет абсолютных изменений этого показателя, вследствие чего нами были выполнены оба варианта анализа.² Процентное представление изменений объема жировой клетчатки используется нечасто, возможно, из-за того, что оно не так наглядно, как абсолютные показатели.

В настоящем исследовании было установлено, что прерывистая АРТ способствовала по крайней мере краткосрочному увеличению массы жировой клетчатки конечностей по сравнению со стандартным непрерывным режимом терапии. Это согласуется с результатами предыдущих исследований,¹⁹⁻²² в т. ч. недавно опубликованного рандомизированного клинического испытания, в котором прерывистая АРТ схемами, не содержащими аналогов тимидина, в течение 24 мес. привела к более выраженному приросту массы жировой клетчатки конечностей у ВИЧ-инфицированных пациентов с липоатрофией по сравнению с непрерывным лечением теми же схемами.²⁸

В абсолютном выражении достигнутое нами абсолютное увеличение массы жировой клетчатки конечностей у пациентов из группы прерывистой АРТ за 12 мес. наблюдения было менее выраженным (200 г), чем в предыдущих исследованиях спустя такой же период времени после замены аналогов тимидина на другие

препараты (400–800 г).¹⁶⁻¹⁸ Это может быть объяснено влиянием нескольких факторов. Во-первых, только 74 % участников данного исследования получали АРТ на момент начала наблюдения и лишь 52 % — аналоги тимидина. Причем среди последних различие между эффектами прерывистой и непрерывной АРТ в отношении процентного прироста массы жировой клетчатки конечностей было большим, чем у остальных участников исследования. Во-вторых, в нашем исследовании в отличие от упомянутых выше липоатрофия не являлась критерием включения пациентов. Медиана исходной массы жировой клетчатки конечностей у пациентов настоящего наблюдения (преимущественно мужчин) составляла 6,6 кг, что соответствует данным недавнего испытания с участием ранее не получавших АРТ ВИЧ-инфицированных пациентов, среди которых также преобладали мужчины,¹⁵ и несколько ниже аналогичного показателя у не инфицированных ВИЧ мужчин,^{29,30} в то время как в исследованиях с применением аналогов тимидина в щадящем режиме она составляла 3–3,5 кг.¹⁶⁻¹⁸ У участников настоящего исследования с исходной массой жировой клетчатки конечностей ниже медианы (< 6,6 кг) после 12-месячной прерывистой АРТ этот показатель возрос на 480 г, в то время как после непрерывного лечения — несколько снизился (на 40 г). В-третьих, спустя 12 мес. наблюдения 38 % пациентов из группы прерывистой АРТ уже получали антиретровирусные препараты, что сгладило различие между двумя режимами АРТ.

Статистически значимое различие между влиянием прерывистой и непрерывной АРТ на объем висцеральной жировой клетчатки отсутствовало. Это может быть объяснено меньшей чувствительностью висцеральной клетчатки к воздействию АРТ, влиянием сопутствующих тропных к висцеральной либо подкожной клетчатке факторов либо, что менее вероятно, повышенной стабильностью висцеральной жировой клетчатки у данной категории пациентов. При этом на объем висцеральной клетчатки оказывал влияние ряд сопутствующих факторов, таких как исходная вирусная нагрузка РНК ВИЧ, наличие вирусного гепатита В или С, наличие липоатрофии и использование ННИОТ на момент начала наблюдения (уровень значимости совместно с режимом АРТ влияния $p < 0,05$). Влияние прерывистой и непрерывной АРТ на безжировую массу тела также было сопоставимым. В результате длительной неконтролируемой репликации ВИЧ может возникать такое СПИД-ассоциированное состояние, как истощение, характеризующееся снижением безжировой массы тела.³¹ Однако этот синдром обычно наблюдается при значительно более выраженном снижении числа лимфоцитов CD4, чем то, которое в настоящем исследовании служило показанием к возобновлению приема антиретровирусных препаратов при назначении прерывистой АРТ.

У пациентов в группе прерывистой АРТ имело место значимое снижение всех показателей липидного обмена по сравнению с группой непрерывного лечения. Причем оно определялось уже спустя 4 мес. наблюдения. Согласно данным литературы, повышение уровня липидов обычно наблюдается спустя несколько недель от начала АРТ.³² Отмечавшееся в настоящем исследовании быстрое снижение уровня липидов после отмены АРТ является своеобразным зеркальным отражением этого

эффекта.¹⁹⁻²² Снижение сывороточного уровня липидов после отмены АРТ первоначально расценивалось как благоприятное явление.³³ Однако уменьшение уровня холестерина ЛПВП сопряжено с повышением риска сердечно-сосудистых заболеваний даже в условиях низкого уровня холестерина ЛПНП.³⁴ Как известно, ВИЧ-инфекция сопровождается относительным снижением уровня ЛПВП.³² Сывороточный уровень триглицеридов при этом возрастает, а уровень холестерина и его липопротеидных фракций падает, однако в меньшей степени, чем холестерина ЛПВП. АРТ препаратами любых классов увеличивает («нормализует») уровень всех фракций холестерина, тем не менее прирост уровня холестерина ЛПВП может быть менее выраженным, чем общего холестерина и холестерина ЛПНП.³⁵ В настоящем подисследовании влияние двух режимов АРТ на отношение уровня общего холестерина и холестерина ЛПВП не было статистически значимым, однако в статистически более мощном исследовании SMART изменение этого отношения было более выражено в группе прерывистой АРТ.³⁶ Помимо изменения уровня липидов в SMART и других испытаниях прерывистой АРТ наблюдалось увеличение концентрации провоспалительных цитокинов и показателей активации иммунной системы (которые не учитывались в данном подисследовании).³⁷⁻³⁹

Изменения уровня глюкозы, инсулина, С-пептида, индекса НОМА и уровня молочной кислоты не зависели от режима АРТ, однако уровень гликозилированного гемоглобина А1С возрос под влиянием прерывистой АРТ, в то время как при лечении в непрерывном режиме он оставался стабильным. Это межгрупповое различие сохранялось до конца исследования и не коррелировало с различиями уровня гликемии натощак, выраженности инсулинорезистентности и общего уровня гемоглобина. Ложное снижение уровня гликозилированного гемоглобина А1С может иметь место при снижении уровня гемоглобина, гемоглобинопатиях, укорочении продолжительности жизни эритроцитов и уремии, а ложное повышение уровня этого показателя — при алкоголизме, отравлении свинцом, злоупотреблении опиоидами и салицилатами, а также при беременности.⁴⁰ Большинство из этих состояний в данном подисследовании систематически не изучалось. Тем не менее, поскольку оно является рандомизированным, значительное межгрупповое различие по этим факторам маловероятно. Несбалансированность лечебных групп по расе и полу, насколько нам известно, также не могла повлиять на среднегрупповые показатели уровня гликозилированного гемоглобина А1С. Существуют сообщения о падении уровня гликозилированного гемоглобина А1С ниже нормы у получавших НИОТ ВИЧ-инфицированных пациентов,⁴¹⁻⁴³ при этом в одном исследовании это изменение сопровождалось субклиническим гемолизом,⁴² а в другом — увеличением среднего объема эритроцитов.⁴³ Как и в предыдущих испытаниях, в настоящем подисследовании прерывистая АРТ увеличивала уровень гликозилированного гемоглобина А1С, в то время как непрерывная АРТ не оказывала на него влияния.⁴¹⁻⁴³ Учитывая вышеизложенное, можно заключить, что у получающих АРТ ВИЧ-инфицированных пациентов гликозилированный гемоглобин А1С не является надежным показателем контроля сахарного диабета.

Потенциальными ограничениями данного исследования были следующие: снижение мощности статистического

анализа эффектов АРТ и сопутствующих факторов из-за досрочного завершения SMART; гетерогенность использовавшихся схем АРТ, что затруднило оценку эффектов отдельных антиретровирусных препаратов и их классов; не был выполнен многофакторный анализ (эффекты отдельных сопутствующих факторов были проанализированы отдельно, что могло привести к ложноположительным результатам); малое число пациентов с липоатрофией на момент начала наблюдения, что снизило статистическую мощность анализа сопутствующего влияния этого фактора. Резюмируя, следует отметить, что в подисследовании SMART о влиянии прерывистой АРТ на объем жировой ткани лечение в этом режиме привело к увеличению объема подкожной жировой клетчатки, не влияло на объем висцеральной жировой клетчатки, снизило сывороточный уровень липидов и повысило уровень гликозилированного гемоглобина А1С по сравнению с непрерывным режимом АРТ.

Благодарности

Мы выражаем искреннюю благодарность Chris Mullin и Lisa Thackeray, обеспечившим соблюдение протокола подисследования SMART о влиянии АРТ на распределение жировой ткани, а также всем пациентам, принявшим в нем участие. Мы также признательны рецензентам исследовательской сети INSIGHT и журнала *AIDS* за их ценные комментарии.

Ниже перечислены исследователи, отбравшие пациентов для данного исследования в различных исследовательских базах (в скобках указано количество пациентов); аналогичные данные относительно базового исследования могут быть найдены в литературе.²⁵

Houston AIDS Research Team, Houston, Texas ($n = 94$): Estela A. Acosta, Roberto C. Arduino, MD, Jorge Darcourt Riso-Patron, Carmen Machado, Pablo C. Okhuysen, MD, Maria C. Rodriguez-Barradas, MD, Maria Tadea Insignares, A. Clinton White, MD.

The Research & Education Group, Portland, Oregon ($n = 56$): Diana Antoniskis, MD, Doug Beers, MD, David Gilbert, MD, Joel Godbey, MD, Gordon Johnson, MD, Todd Korthuis, MD, James Leggett, MD, Michael McVeigh, MD, Melinda Mueller, MD, Mary O'Hearn, MD, James Sampson, MD.

Australia Coordinating Center, Sydney, Australia ($n = 50$): Jonathan Anderson, Kathy Barnes, Alison Cain, David Cooper, Beng Eu, Martyn French, Jennifer Hoy, Nic Medland, Richard Moore, Sally Price, Norm Roth, Jega Saranapany, Don Smith, Bak Kiem Tee.

Harlem AIDS Treatment group, New York, New York ($n = 39$): Susan Caras, MS, Rosetta Contreras, RN, John Corser, MD, Livette Johnson, MD, Subha Raghavan, PhD, Helen May Seedhom, RN.

Spain Coordinating Center, Barcelona, Spain ($n = 13$): Javier Fernandez, RN, Jose M. Gatell, MD, Maria Larrousse MD, Merce Poal, RN, Ana Rodriguez, RN, Sergi Vidal MD.

Richmond AIDS Consortium, Richmond, Virginia ($n = 11$): Robert Brennan, MD, Vivian Bruzzese, MD, Anne Chiang,

MD, Clarence Childress, MD, Carol Clark, RN, BSN, Patricia Dodson, RN, BSN, CCRC, Kathleen Genther, RN, BSN, CCRC, Robert Higginson, PAC, Jane Kaatz, RN, ANP, Johanna McKee, RN, CCRC, Daniel Nixon, DO, PhD, Jane Settle, RN, ANP, Vicky Watson, RN, Joy Zeh, RN, FNP.

University of North Texas Health Science Center, Fort Worth, Texas ($n = 10$): Isabel Vecino, MD, Stephen E. Weis, DO.

Louisiana Community AIDS Research Program, New Orleans, Louisiana ($n = 2$): Suzanne L. Adams, RN, BSN, Sr. Sue Pabolovich, RN, MPH, C-FNP, Connie Z. Scott, RN, BSN, ACRN, Janice Y. Walker, RN, NP, MN, CCRC.

Конфликты интересов

F.D., S.E., W. El-S., C.G., B.G., J.S., F.V. и A.T. заявляют об отсутствии конфликтов интересов. A.C. получал гонорары и является членом консультативных комитетов в компаниях Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, GlaxoSmithKline, Merck Sharp & Dohme, Roche и Tibotec. E.M. получал финансирование на исследования, гонорары за консультирование и лекции, а также входил в консультативные комитеты при Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, GlaxoSmithKline, Merck Sharp & Dohme и Tibotec. D.P. получал финансирование на исследования, гонорары за консультирование и лекции, а также входил в консультативные комитеты при GlaxoSmithKline, Bristol-Myers Squibb, Boehringer Ingelheim, Ortho Biotech, Serono, Roche, Pfizer, Gilead, Abbott, Merck Sharp & Dohme, Pharmacia Upjohn, Astra Zeneca, Unimed, Solvay, Watson и Tibotec. P.R. получал финансирование на исследования, гонорары за консультирование и лекции, а также входил в консультативные комитеты при Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Science, GlaxoSmithKline, Roche, Merck Sharp & Dohme, Pfizer, Theratechnologies и Tibotec.

Настоящее исследование было частично финансировано National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), National Institutes of Health (гранты № U01AI042170, U01AI46362 и U01AI068641).

Литература

1. Heath KV, Hogg RS, Chan KJ, Harris M, Montessori V, O'Shaughnessy MV, et al. Lipodystrophy-associated morphological, cholesterol and triglyceride abnormalities in a population-based HIV/AIDS treatment database. *AIDS* 2001; 15:231–239.
2. Lichtenstein KA, Ward DJ, Moorman AC, Delaney KM, Young B, Palella FJ Jr, et al. Clinical assessment of HIV-associated lipodystrophy in an ambulatory population. *AIDS* 2001; 15:1389–1398.
3. Miller J, Carr A, Emery S, Law M, Mallal S, Baker D, et al. HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med* 2003; 4:293–301.
4. Bernasconi E, Boubaker K, Junghans C, Flepp M, Furrer HJ, Haensel A, et al. Abnormalities of body fat distribution in HIV-infected persons treated with antiretroviral drugs: the Swiss HIV Cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 31:50–55.
5. Blanch J, Rousaud A, Martinez E, De Lazzari E, Peri JM, Milinkovic A, et al. Impact of lipodystrophy on the quality of life of HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 31:404–407.
6. Blanch J, Rousaud A, Martinez E, De Lazzari E, Milinkovic A, Peri JM, et al. Factors associated with severe impact of lipodystrophy on the quality of life of patients infected with HIV-1. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1464–1470.
7. Ammassari A, Antinori A, Cozzi-Lepri A, Trotta MP, Nasti G, Ridolfo AL, et al. Relationship between HAART adherence and adipose tissue alterations. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 31 (Suppl 3):S140–S144.
8. Guaraldi G, Luzi K, Murri R, Granata A, De Paola M, Orlando G, et al. Sexual dysfunction in HIV-infected men: role of antiretroviral therapy, hypogonadism and lipodystrophy. *Antivir Ther* 2007; 12:1059–1065.
9. Falutz J. Therapy insight: body-shape changes and metabolic complications associated with HIV and highly active antiretroviral therapy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3:651–661.
10. Martinez E, Mocroft A, Garcia-Viejo MA, Perez-Cuevas JB, Blanco JL, Mallolas J, et al. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet* 2001; 357:592–598.
11. Dube MP, Komarow L, Mulligan K, Grinspoon SK, Parker RA, Robbins GK, et al. Long-term body fat outcomes in antiretroviral-naive participants randomized to nelfinavir or efavirenz or both plus dual nucleosides: dual X-ray absorptiometry results from A5005s, a sub-study of Adult Clinical Trials Group 384. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 45:508–514.
12. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, Miller MD, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; 292:191–201.
13. Podzamczar D, Ferrer E, Sanchez P, Gatell JM, Crespo M, Fisac C, et al. Less lipoatrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44:139–147.
14. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354:251–260.
15. Haubrich RH, Riddler S, DiRienzo G, Komarow L, Powderly W, Klingman K, et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009; 23:1109–1118.
16. Martin A, Smith DE, Carr A, Ringland C, Amin J, Emery S, et al. Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension study. *AIDS* 2004; 18:1029–1036.
17. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, Johnson M, Wilkins E, Churchill D, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipoatrophy. *AIDS* 2006; 20:2043–2050.
18. Murphy R, Zhang J, Hafner R, Yarasheski K, Tashima K, Berzins B, et al. Peripheral and visceral fat changes following a treatment switch to a nonthymidine analogue or nucleoside-sparing regimen in patients with peripheral lipoatrophy: 48-week final results of ACTG A5110, a prospective, randomized multicenter clinical trial [abstract 755]. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Diseases; 2006. Denver, CO.
19. Hatano H, Miller KD, Yoder CP, Yanovski JA, Sebring NG, Jones EC, Davey RT Jr. Metabolic and anthropometric consequences of interruption of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2000; 14:1935–1942.
20. Milinkovic A, Martinez E, Vidal S, Del Rio A, Perez-Cuevas JB, Conget I, et al. The effect of structured therapy interruptions on the evolution of lipid abnormalities and body fat in patients with primary HIV-1 infection. *Antivir Ther* 2001; 6 (Suppl 4):62; (abstract no. 91).
21. Milinkovic A, Martinez E, Vidal S, Blanco JL, Lonca M, Garcia F, et al. Impact of structured therapy interruption on body composition of chronically HIV-infected patients: preliminary 1-year results. *Antivir Ther* 2003; 8:L61; (abstract 88).

22. Arjona MM, Perez-Cano R, Garcia-Juarez R, Martin-Aspas A, del Alamo CF, Giron-Gonzalez JA. Structured intermittent interruption of chronic HIV infection treatment with highly active antiretroviral therapy: effects on leptin and TNF-alpha. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:307–314.
23. Ananworanich J, Gayet-Ageron A, Le Braz M, Prasithsirikul W, Chetchotisakd P, Kiertuburanakul S, et al. CD4-guided scheduled treatment interruptions compared with continuous therapy for patients infected with HIV-1: results of the Staccato randomised trial. *Lancet* 2006; 368:459–465.
24. Danel C, Moh R, Minga A, Anzian A, Ba-Gomis O, Kanga C, et al. CD4-guided structured antiretroviral treatment interruption strategy in HIV-infected adults in west Africa (Trivacan ANRS 1269 trial): a randomised trial. *Lancet* 2006; 367:1981–1989.
25. El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC, et al., Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med* 2006; 355:2283–2296.
26. Ellis KJ, Grund B, Visnegarwala F, Thackeray L, Miller CG, Chesson CE, et al. Visceral and subcutaneous adiposity measurements in adults: influence of measurement site. *Obesity* 2007; 15:1441–1447.
27. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412–419.
28. Martinez E, Milinkovic A, Garcia F, Larrousse M, Vidal S, Leon A, et al. Greater limb fat increase with intermittent (relative to continuous) thymidine-sparing antiretroviral therapy in HIV-infected patients with lipodystrophy. *Antivir Ther* 2008; 13 (Suppl 4):A9.
29. Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund F, Chisholm DJ, Cooper DA. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyper-lipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998; 12:F51–F58.
30. Engelson ES, Kotler DP, Tan YX, Agin D, Wang F, Pierson RN Jr, Heymsfield SB. Fat distribution in HIV-infected patients reporting truncal enlargement quantified by whole-body magnetic resonance imaging. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:1162–1169.
31. Manqili A, Murman DH, Zampini AM, Wanke CA. Nutrition and HIV infection: review of weight loss and wasting in the era of highly active antiretroviral therapy from the nutrition for healthy living cohort. *Clin Infect Dis* 2006; 42:836–842.
32. Martinez E, Leyes P, Ros E. Effectiveness of lipid-lowering therapy in HIV patients. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; 3:240–246.
33. Dybul M, Chun TW, Yoder C, Hidalgo B, Belson M, Hertogs K, et al. Short-cycle structured intermittent treatment of chronic HIV infection with highly active antiretroviral therapy: effects on virologic, immunologic, and toxicity parameters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 26:15161–15166.
34. Kannel WB. Lipids, diabetes, and coronary heart disease: insights from the Framingham study. *Am Heart J* 1985; 110:1100–1107.
35. Riddler SA, Smit E, Cole SR, Li R, Chmiel JS, Dobs A, et al. Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men. *JAMA* 2003; 289:2978–2982.
36. Phillips AN, Carr A, Neuhaus J, Visnegarwala F, Prineas R, Burman WJ, et al. Interruption of antiretroviral therapy and risk of cardiovascular disease in persons with HIV-1 infection: exploratory analyses from the SMART trial. *Antivir Ther* 2008; 13:177–187.
37. Kuller LH, Tracy R, Bellosso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med* 2008; 5:e203.
38. Calmy A, Gayet-Ageron A, Montecucco F, Nguyen A, Mach F, Burger F, et al. HIV increases markers of cardiovascular risk: results from a randomized, treatment interruption trial. *AIDS* 2009; 23:929–939.
39. Tebas P, Henry WK, Matining R, Weng-Cherng D, Schmitz J, Valdez H, et al. Metabolic and immune activation effects of treatment interruption in chronic HIV-1 infection: implications for cardiovascular risk. *PLoS ONE* 2008; 3:e2021.
40. Tran HA, Silva D, Petrovsky N. Case study: pitfalls of using hemoglobin A1c as the sole measure of glycemic control. *Clin Diabetes* 2004; 22:141–143.
41. Polgreen PM, Putz D, Stapleton JT. Inaccurate glycosylated hemoglobin A1C measurements in human immunodeficiency virus-positive patients with diabetes mellitus. *Clin Infect Dis* 2003:e53–e56.
42. Diop ME, Bastard JP, Meunier N, Thevenet S, Maachi M, Capeau J, et al. Inappropriately low glycosylated hemoglobin values and hemolysis in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retrovir* 2006; 12:1242–1247.
43. Kim PS, Woods C, Georgoff P, Crum D, Rosenberg A, Smith M, Hadigan C. Hemoglobin A1c underestimates glycemia in HIV infection. *Diabetes Care* 2009; 32:1591–1593.

Устойчивость к антиретровирусным препаратам после родов у ВИЧ-1-инфицированных женщин, получавших антиретровирусную терапию во время беременности

Roger Paredes^{a,b}, Irene Cheng^c, Daniel R. Kuritzkes^a, Ruth E. Tuomala^a
для исследовательской группы WITS
(Women and Infants Transmission Study)

Предпосылки. Антиретровирусная терапия (АРТ), ограниченная периодом беременности, существенно снижает риск передачи ВИЧ-1 от матери ребенку, однако может привести к развитию мутаций, обуславливающих устойчивость к антиретровирусным препаратам, у матери.

Методы. Мы обследовали ВИЧ-1-инфицированных женщин, которые в период с 1998 по 2005 г. во время беременности стали впервые получать АРТ и у которых в течение 2–6 мес. после родов имелись анализы крови с уровнем РНК ВИЧ-1 > 500 копий/мл. Частота появления мутаций устойчивости к препаратам в послеродовой период оценивалась слепым методом с помощью популяционного секвенирования и аллель-специфической ПЦР (АСПЦР) с выявлением мутаций M184V, K103N и D30N. Были изучены факторы, вызывающие селекцию штаммов ВИЧ-1 с мутациями устойчивости к препаратам.

Результаты. В исследование было включено 146 женщин. Все женщины во время беременности получали зидовудин и ламивудин; 76 % получали также нелфинавир и 8,2 % — невирапин. Данные относительно устойчивости были доступны у 114 (78 %) участниц. Частота развития устойчивости в послеродовой период к препаратам одного, двух и трех классов была равна соответственно 43, 6,1 и 0 % (63,2, 10,5 и 1,7 % по данным АСПЦР). У женщин, получавших двух- или трехкомпонентную схему АРТ, частота мутаций M184V/I после родов составила 65 (95 % по данным АСПЦР) и 28,7 % (51,6 % по данным АСПЦР) соответственно ($p < 0,01$). Частота развития устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы после родов среди женщин, получавших невирапин, равнялась 25 % для мутации K103N (37,5 % по данным АСПЦР) и 12,5 % для мутации Y188C. Частота развития устойчивости к ингибиторам протеазы у женщин, получавших нелфинавир, составила 1,1 % для мутации D30N (1,1 % по данным АСПЦР) и 1,1 % для мутации L90M. Применение двухкомпонентной схемы в отличие от трехкомпонентной, а также длительное использование зидовудина были связаны с селекцией ВИЧ-1 с мутацией M184V. Применение невирапина, а также длительное использование зидовудина и ламивудина приводили к селекции штаммов с мутацией K103N.

^a Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA, ^b Fundacions irsiCaixa i Lluita contra la SIDA, Universitat Autònoma de Barcelona, Catalonia, Spain, ^c Clinical Trials & Surveys Corp., Baltimore, Maryland, USA.

Автор, ответственный за переписку: Dr Ruth E. Tuomala, MD, Division of Maternal-Fetal Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, 75 Francis Street, CWN-3, Boston, MA 02115, USA.

E-mail: rtuomala@partners.org

Получено 13 октября 2008 г.; получено с поправками 18 мая 2009 г.; принято в печать 18 мая 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e32832e5303

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: АРТ — антиретровирусная терапия; АСПЦР — аллель-специфическая ПЦР; ДИ — доверительный интервал; МКИ — межквартильный интервал; НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ОШ — отношение шансов; ПЦР — полимеразная цепная реакция.

Выводы. АРТ, ограниченная периодом беременности, связана с частым развитием устойчивости к препаратам, обладающим низким генетическим барьером. Применение трехкомпонентной АРТ в период беременности повышает вероятность селекции штаммов с мутацией M184V. Проведение стандартного генотипического анализа устойчивости в послеродовой период может помочь в определении дальнейшей стратегии лечения.

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2010, 24:45–53

Ключевые слова: аллель-специфическая ПЦР, беременность, ВИЧ-1, передача ВИЧ от матери ребенку, устойчивость.

Введение

Программы по предупреждению передачи ВИЧ-1 от матери ребенку уберегли от ВИЧ-1-инфекции тысячи детей во всем мире. В настоящее время бесперебойный доступ к трехкомпонентной антиретровирусной терапии (АРТ), профилактика зидовудином в перинатальный период, плановое кесарево сечение и искусственное вскармливание сделали частоту вертикальной передачи ВИЧ очень низкой.^{1–5} Даже упрощенный подход с назначением по одной дозе невирапина матери в начале родов и ребенку в первые 72 ч жизни в комбинации с зидовудином, ламивудином или тенофовиром либо без них в странах с ограниченными финансовыми возможностями привел к снижению частоты вертикальной передачи вируса.^{6,7} Несмотря на эти успехи, передача ВИЧ с уже имеющейся лекарственной устойчивостью или селекция штаммов ВИЧ-1 с устойчивостью к антиретровирусным препаратам во время профилактики вертикальной передачи могут снижать эффективность профилактических программ и значительно ограничивать возможности дальнейшего лечения как матери, так и ребенка.^{7,10–15}

Наиболее приемлемым способом изучения частоты селекции резистентных штаммов ВИЧ-1 в результате проведения у матерей профилактики вертикальной передачи служит определение частоты появления резистентных вирусов в послеродовой период у женщин, получавших антиретровирусные препараты только во время беременности. Селекция резистентных вирусов в ходе АРТ в период беременности, даже в виде малочисленных вариантов, может повлиять на вирусологический ответ, когда в последующем женщина будет получать длительную АРТ,^{16,17} особенно если лечение начнется в первые 6–12 мес. после родов.^{18,19}

Целью настоящего исследования было изучение лекарственной устойчивости в послеродовой период у женщин, не получавших ранее антиретровирусных препаратов, которые впервые начали проходить АРТ во время беременности в США в период с 1998 по 2005 г., с использованием популяционного секвенирования генома вируса, циркулирующего в плазме крови, и аллель-специфической ПЦР (АСПЦР) для определения мутаций M184V, K103N и D30N, обеспечивающих высокую устойчивость вируса к ламивудину/эмтрицитамину, невирапину/эфаверензу и нелфинавиру соответ-

ственно. Мы также изучили факторы, с которыми был связан повышенный риск селекции резистентных вирусов во время беременности.

Методы

Дизайн исследования

Данная работа выполнена с использованием образцов крови, полученных от пациенток, принимавших участие в исследовании вертикальной передачи ВИЧ (Women and Infants Transmission Study, WITS).²⁰ WITS — это многоцентровое наблюдательное исследование, разработанное для изучения повреждающего действия ВИЧ-инфекции у ВИЧ-инфицированных женщин и их детей. Местами проведения исследования WITS были Бруклин (США), Бостон и Вустер (США), Хьюстон (США), Чикаго (США) и Пуэрто-Рико.

Пациенты

Набор участниц исследования проводился среди женщин, включенных в WITS в период с 1 июня 1998 г. по 31 декабря 2004 г. В настоящее исследование вошли ВИЧ-инфицированные беременные, ранее не получавшие антиретровирусных препаратов и впервые начавшие АРТ во время беременности. АРТ у них состояла из зидовудина и ламивудина с добавлением невирапина или нелфинавира либо без них и прекращалась после родов. Условием включения было наличие взятых через 2 или 6 мес. после родов образцов крови, в которых с помощью ПЦР было уже зарегистрировано наличие РНК ВИЧ. Все анализы выполнялись одной лабораторией, которой не было известно, получали участницы АРТ или нет (слепой метод). По возможности также проводили ретроспективное исследование образцов крови, взятых в первые 14 дней от начала АРТ. Однако, поскольку начало АРТ у большинства женщин предшествовало включению в исследование WITS, эти образцы в большинстве случаев отсутствовали.

Определение мутаций устойчивости

Секвенирование вирусов, циркулирующих в плазме

Экстракция РНК ВИЧ-1 проводилась из 500 мкл ЭДТА-антикоагулированной плазмы с помощью набо-

ра QIAamp Viral RNA MiniKit (QIAGEN Sciences, США) после центрифугирования в течение 1 ч при температуре 4 °С и центробежном ускорении 24 000 g. Часть полученной РНК использовалась для синтеза кДНК сразу после экстракции, а остаток хранился при температуре –80 °С.

Выделенная РНК транскрибировалась в кДНК, которая амплифицировалась с помощью одноступенчатой ПЦР (набор Superscript III One-step RT-PCR with Platinum Taq Kit; Invitrogen Corp., США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Циклический процесс включал следующие этапы: начальный синтез ДНК при температуре 55 °С в течение 25 мин, затем — денатурация (при 94 °С в течение 2 мин), далее 30 циклов ПЦР-амплификации (при 94 °С 40 с, при 60 °С 40 с, при 68 °С 1 мин 20 с) и завершающий этап — удлинение праймера при температуре 68 °С в течение 5 мин. ПЦР-смесь содержала 25 мкл реакционной смеси (включая 0,4 ммоль/л каждого дНТФ и 3,2 ммоль/л магния хлорида), 0,2 ммоль/л каждого праймера OOPF_(HXB2: 2211–2232)[5'-GAAGCAGGAGCCGATAGACAAG-3'] и OOR2_(HXB2: 3466–3444)[5'-TTTTCTGCCAGTTCTAGCTCTGC-3'], 15 мкл РНК в качестве шаблона и воду без нуклеаз до окончательного объема 50 мкл.

Получившийся в результате ПЦР продукт подвергался очистке с помощью набора QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN Sciences) и использовался далее в качестве исходного шаблона для гнездовой ПЦР (High Fidelity Platinum Taq; Invitrogen Corp.) с праймерами OOPF2_(HXB2: 2218–2241)[5'-GAGCCGATAGACAAGGAAGTGTAT-3'] и OOR3_(HXB2: 3457–3432)[5'-AGTTCTAGCTCTGCTTCTTCAGTTAG-3'].

Продукт, полученный в результате гнездовой ПЦР, подвергался очистке и секвенированию (3730XL DNA Analyzer; Applied Biosystems, США). Мутации устойчивости и полиморфизмы определялись в соответствии с рекомендациями американского отделения Международного общества по борьбе со СПИДом от 2008 г.²¹ Стандартные филогенетические анализы исключали возможность появления посторонних примесей в продукте ПЦР.

Алель-специфическая ПЦР

Для количественного определения доли мутантных последовательностей в каждом образце к ПЦР в реальном времени добавляли 5 мкл продукта ПЦР с обратной транскрипцией вместе с селективными или неселективными праймерами. Если количество копий исходной ДНК было менее 10⁶, использовался ДНК-продукт гнездовой ПЦР. Условия проведения ПЦР были опубликованы ранее.^{8,22}

Мутант-специфические праймеры [(HXB2: 2319–2340) 5'-СТАТТАГАТАСАГГАААТА-3' для D30N; (HXB2: 3078–3098) 5'-GACATAGTTATCTATCAATTCG-3' для M184V; (HXB2: 2884–2858) 5'-CCCACATCCAGTACTGTACTGATTGG-3' для K103N аллеля AAC; и (HXB2: 2884–2858) 5'-CCACATCCAGTACTGTACTGATTCA-3' для K103N аллеля AAT] включали целевой кодон в 3'-конце и преднамеренные ошибочные нуклеотиды в положении –3 или –2 по отношению к 3'-концу. Неспецифические праймеры [(HXB2: 2319–2339) 5'-СТАТТАГАТАСАГ-

GAGCAGAT-3' для D30N; (HXB2: 3078–3098) 5'-GACATAGTTATCTATCAATTCG-3' для M184V; и (HXB2: 2884–2858) 5'-CCCACATCCAGTACTGTACTGATTGG-3' для K103N аллелей AAC и AAT] были подобны описанным выше, но заканчивались до целевой пары нуклеотидов и не включали преднамеренных ошибочных нуклеотидов. Антипараллельный праймер [(HXB2: 2592–2571) 5'-СТГГСТТТААТТТТАСТГГТАС-3' для D30N; (HXB2: 3277–3258) 5'-GGCTGACTGTCCATTTATC-3' для M184V; и (HXB2: 2757–2785) 5'-AAATGGAGAAAATTAGTAGATTTTCAGAGA-3' для K103N аллелей AAC и AAT] был общим для каждой пары мутант-специфических и неспецифических реакций.

АСПЦР-анализы проводились отдельно. В ходе каждой АСПЦР селективные и неселективные реакции амплификации выполняли параллельно. Все реакции проводились дважды, и для вычислений использовалось среднее из двух значений. Процент вирусных последовательностей, содержащих каждую мутацию, подсчитывался следующим образом: [(количество мутантных последовательностей в образце) / (общее количество вирусных последовательностей в образце)] × 100.

Кроме порога чувствительности для каждого АСПЦР-анализа мы также вычисляли специфический для каждой пробы порог обнаружения, определявшийся как минимальная доля вариантов, которые могли быть выявлены с учетом концентрации РНК ВИЧ-1 в образце плазмы (pVL), объема плазмы, используемого для экстракции РНК (V), объема выделенной РНК, используемой для синтеза кДНК (fe) и предполагаемых (исходных) показателей эффективности экстракции РНК (E_{RNAX}) и синтеза кДНК (E_{cdNA}). Специфический порог обнаружения вычислялся по формуле 1/N_{RNA}, где N_{RNA} — количество копий вирусной РНК, отобранных после экстракции и обратной транскрипции. N_{RNA} вычислялся по формуле: N_{RNA} = pVL × V × fe × E_{RNAX} × E_{cdNA}. Предполагаемым значением E_{RNAX} было 0,96, а E_{cdNA} — 0,7.^{23,24} Результаты АСПЦР, располагающиеся между порогом чувствительности и специфическим порогом обнаружения, считались неопределяемыми.

Статистический анализ

Характеристики участниц исследования и частота мутаций устойчивости в послеродовой период описывались с помощью стандартных методов. 95%-е доверительные интервалы (ДИ) частоты мутаций устойчивости вычислялись с помощью точного биномиального теста. Переменные, связанные с селекцией мутаций M184V, K103N и D30N, определялись с помощью критерия χ^2 , точного теста Фишера или F-теста, по необходимости. Вероятность развития мутаций M184V или K103N оценивалась с помощью модели Generalized Estimating Equations (SAS procedure GENMOD).

Для всех одно- и многофакторных анализов был установлен уровень статистической значимости $\alpha = 0,05$. Для мутаций M184V и K103N многофакторные модели создавались методом прямого отбора. Многофакторная модель включала только показатели, достигшие статистической значимости в однофакторном анализе. Все анализы проводились в популяции с исходно назначенным лечением (intention-to-treat).

Таблица 1. Характеристика участниц исследования

Количество участниц исследования	146
Возраст, годы, среднее \pm SD	26,7 \pm 5,2
Раса, <i>n</i> (%)	
Белая	4 (2,7)
Негроидная	84 (57,5)
Латиноамериканская	52 (35,6)
Другая/неизвестно	6 (4,1)
Категория CDC, <i>n</i> (%)	
A	124 (84,9)
B	19 (13,0)
C	3 (2,1)
Употребление сильнодействующих наркотиков до родов, <i>n</i> (%)	
Да	40 (27,4)
Нет	105 (71,9)
Неизвестно	1 (0,7)
Употребление алкоголя, <i>n</i> (%)	
Да	42 (28,8)
Нет	101 (69,2)
Неизвестно	3 (2,0)
Первый имеющийся показатель числа лимфоцитов CD4 в течение беременности, <i>n</i> (%)	
< 200/мкл	9 (6,2)
200–350/мкл	33 (22,6)
> 350/мкл	100 (68,5)
Неизвестно	4 (2,7)
Число лимфоцитов CD4 после родов (медиана, Q1–Q3)	
Абсолютное, клетки/мкл	575 (397–767)
Доля, %	29 (22–34)
Уровень РНК ВИЧ-1 в ходе PLAT, <i>n</i> (%)	
Постоянно > 400 копий/мл	40 (27,4)
Чередование < 400 и > 400 копий/мл	33 (22,6)
Постоянно < 400 копий/мл	70 (47,9)
Неизвестно	3 (2,1)
Уровень РНК ВИЧ-1 после родов, копии/мл (медиана, Q1–Q3)	4780 (1352–18 121)
Время забора анализа крови, мес. после родов (медиана, Q1–Q3)	
Всего, <i>n</i> = 146	2,2 (1,9–4,6)
Образцы, взятые через 2 мес. после родов, <i>n</i> = 111	2,0 (2,5–1,8)
Образцы, взятые через 6 мес. после родов, <i>n</i> = 35	6,2 (5,9–6,9)
Исследованные образцы, <i>n</i> (%)	146 (100)
Образцы без амплификации, <i>n</i> (%)	32 (21,9)
Исходная PLAT, <i>n</i> (%) ^a	
ZDV + ЗТС	43 (29,4)
ZDV + ЗТС + нелфинавир	93 (63,7)
ZDV + ЗТС + невирапин	10 (6,8)
Длительность применения ZDV, дни до родов, среднее \pm SD (диапазон)	122,5 \pm 61,3 (2–309)
Длительность применения ZDV + ЗТС, дни до родов, среднее \pm SD, (диапазон)	118,2 \pm 60,0 (1–270)
Применение нелфинавира в ходе PLAT, <i>n</i> (%)	
Да	111 (76,0)
Нет	35 (24,0)
Длительность применения нелфинавира, ^b дни до родов, среднее \pm SD, (диапазон)	109,9 \pm 58,9 (1–270)
Применение невирапина в ходе PLAT, <i>n</i> (%)	
Да	12 (8,2)
Нет	134 (91,8)
Длительность применения невирапина, ^c дни до родов, среднее \pm SD, диапазон	68,1 \pm 61,3 (1–177)

PLAT — антиретровирусная терапия, ограниченная периодом беременности; SD — стандартное отклонение; ZDV — зидовудин; ЗТС — ламивудин.

^a Относится к первоначальному лечению; некоторые участницы перешли с двухкомпонентной схемы АРТ на трехкомпонентную и наоборот.

^b Для 11 участниц, получавших нелфинавир.

^c Для 12 участниц, применявших невирапин.

Результаты

Алель-специфическая ПЦР

Используя среднее значение + 3 стандартных отклонения 20 повторных отрицательных контрольных анализов (лабораторные дикие типы вируса), был определен порог АСПЦР для мутаций D30N, M184V и K103N соответственно 0,1, 0,4 и 0,003 %. Разница значений пороговых циклов Ct (Δ Ct) между мутантными и дикими эквивалентами ДНК была более 10 циклов в анализах мутаций D30N и M184V и более 17 циклов в анализах мутации K103N. Измерения в АСПЦР проводились с точностью до 1 % для анализа мутаций D30N и M184V и до 0,01 % для анализа мутации K103N.^{17,24}

Характеристика пациентов

В исследование WITS в период с 1 июня 1998 г. по 31 декабря 2004 г. было включено 1328 женщин, 636 из них до наступления текущей беременности не получали АРТ. 315 участниц начали и продолжали получать АРТ более 28 дней во время указанной беременности по одной из трех схем (зидовудин + ламивудин, зидовудин + ламивудин + невирапин или зидовудин + ламивудин + нелфинавир). Из них у 146 женщин АРТ после родов была прекращена и имелись образцы крови, взятые во время обследования через 2 или 6 мес. после родов с уровнем РНК ВИЧ \geq 500 копий/мл, в связи с чем эти женщины были включены в настоящее исследование.

Средний возраст 146 женщин, соответствовавших критериям включения, был 27 лет. Большинство из них принадлежали к афроамериканской и латиноамериканской этническим группам, имели заболевания категории А по классификации CDC (Центры по контролю и профилактике заболеваний США), почти 30 % употребляли до беременности сильнодействующие наркотики и/или алкоголь (табл. 1). Медиана срока беременности составляла 29,3 нед. [межквартильный интервал (МКИ) 22,4–6,3 нед.]. Медиана первого имеющегося показателя числа лимфоцитов CD4 в течение текущей беременности была 455/мкл (МКИ 316–690/мкл), более чем у 90 % женщин этот показатель составлял не менее 200/мкл.

Медиана времени забора первого образца крови составила 2,2 мес. после родов (МКИ 1,9–4,6 мес.), при этом 111 (76 %) образцов были взяты через 2 мес. (медиана 2 мес., МКИ 1,8–2,5 мес.). Оставшиеся 35 (24 %) проб крови были взяты через 6 мес. (медиана 6,2 мес., МКИ 5,9–6,9 мес.). Медиана числа лимфоцитов CD4 после родов была равна 575/мкл (МКИ 397–767/мкл), а медиана уровня РНК ВИЧ после родов составляла 4780 копий/мл (МКИ 1352–18 121 копия/мл). У 70 (48 %) участниц концентрация РНК ВИЧ сохранялась на уровне менее 400 копий/мл в течение всего периода АРТ после включения в WITS, у 40 (27 %) — уровень РНК ВИЧ во всех анализах в течение АРТ был выше 400 копий/мл, и у 33 (23 %) участниц в течение АРТ чередовались периоды виремии и отсутствия вируса в крови. Все женщины получали АРТ, включавшую зидовудин и ламивудин, 93 (64 %) участницы также начали принимать нелфинавир, а 10 (7 %) женщин — невирапин. Некоторые участницы поменяли схему АРТ во время беременности. Из 146 женщин 18 (12 %) перешли с двухкомпонентной на трехкомпонентную схему АРТ (одна из них дополни-

тельно получала невирапин и 17 — нелфинавир). Еще двое изменили трехкомпонентную схему с невирапином на трехкомпонентную схему с нелфинавиром и наоборот. Продолжительность применения зидовудина, ламивудина, нелфинавира и невирапина показана в табл. 1.

Частота устойчивости к антиретровирусным препаратам в послеродовой период

Данные об устойчивости в послеродовой период были доступны у 114 (78 %) участниц исследования. Вирусологические, иммунологические и клинические характеристики этих женщин не отличались от таковых остальных участниц, соответствовавших критериям включения. Из этих 114 участниц данные относительно устойчивости до начала лечения были доступны у 25 (22 %) женщин; 20 (18 %) женщин были в группе двухкомпонентной схемы, тогда как 94 (82 %) в течение всей беременности получали трехкомпонентную АРТ.

В целом 49 (43 %) участниц имели хотя бы одну мутацию, зарегистрированную с помощью анализа секвенирования в послеродовой период. У 7 (6,1 %) женщин после родов была обнаружена устойчивость к препаратам двух классов. У 3 (2,6 %) из них развилась устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ) и ингибиторам протеазы, у 3 (2,6 %) — к НИОТ и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ) и у 1 (0,9 %) участницы — к ННИОТ и ингибиторам протеазы. С учетом результатов АСПЦР для мутаций D30N, M184V и K103N наличие хотя бы одной мутации устойчивости в послеродовой период было выявлено у 72 (63,2 %) женщин. При этом у 12 (10,5 %) женщин после родов появилась устойчивость к препаратам двух классов, а у 2 (1,7 %) — к препаратам трех классов. В то же время 5 (4,4 %) женщин с устойчивостью к препаратам двух классов приобрели устойчивость к НИОТ и ингибиторам протеазы, тогда как 7 (6,1 %) — к НИОТ и ННИОТ.

Устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

С помощью популяционного секвенирования генома вирусов появление мутации M184V/I в послеродовой период было определено у 65 % женщин, получавших в течение беременности двухкомпонентную АРТ,

по сравнению с 28,7 % женщин, получавших три препарата ($p = 0,004$) (табл. 2). При использовании метода АСПЦР эта мутация была определена у 95 % женщин, получавших двухкомпонентную АРТ, и у 51,6 % — трехкомпонентную АРТ ($p < 0,001$). По данным АСПЦР мутация M184V после родов была определена у 2 (40 %) из 5 участниц, имевших эту мутацию в начале исследования по данным секвенирования, и у 15 из 20 (75 %) не имевших этой мутации до начала лечения.

Мутации, связанные с устойчивостью к аналогам нуклеозидов, также чаще встречались у женщин, получавших только два препарата (M41L — 5 %, D67N — 5 %, K70R — 10 % и T215Y — 5 %), чем у участниц, получавших три препарата (M41L — 1,1 %, D67N — 1,1 %, K70R — 1,1 %, L210F — 1,1 %, K219Q — 1,1 %). В большинстве случаев эти различия имели пограничную статистическую значимость.

Устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

По данным секвенирования генома вирусов частота устойчивости к ННИОТ среди 8 женщин, получавших невирапин, составляла 25 % (95% ДИ 3,2–65,1 %) для мутации K103N (два случая) и 12,5 % (95% ДИ 0,3–52,7 %) для мутации Y188C (один случай). По данным АСПЦР мутации K103N определялись у 3 из 8 женщин, получавших невирапин (37,5 %, 95% ДИ 8,5–75,5 %), включая два случая, выявленных методом секвенирования, и у 8 из 106 женщин, не получавших невирапин (7,5 %) ($p = 0,029$). По данным АСПЦР мутация K103N выявлена у одной женщины, у которой она имела до начала лечения, и у 2 (8,3 %) из 24 женщин, не имевших этой мутации до начала АРТ.

Устойчивость к ингибиторам протеазы

По данным секвенирования каждая из мутаций D30N и L90M определялась у одной из 87 женщин, получавших нелфинавир в ходе АРТ [1,1 % (95% ДИ 0,03–6,24 %) для каждой мутации]. АСПЦР подтвердила наличие мутации D30N у одной из 87 участниц, получавших нелфинавир [1,1 % (95% ДИ 0,03–6,24 %)], и выявила эту мутацию у 2 (7,4 %) из 27 женщин, не получавших нелфинавир во время АРТ. В одном случае мутация D30N, выявленная до начала лечения, не была обнаружена после родов.

Таблица 2. Частота устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы в послеродовой период^а

Мутации устойчивости	Всего	Женщины, получавшие двухкомпонентную PLAT	Женщины, получавшие любую трехкомпонентную схему PLAT	Точный тест Фишера, p
Секвенирование	$n = 114$ (% , 95% ДИ)	$n = 20$ (% , 95% ДИ)	$n = 94$ (% , 95% ДИ)	
M41L	2 (1,8, 0,2–6,2)	1 (5, 0,1–24,9)	1 (1,1, 0,03–5,8)	0,321
D67N	2 (1,8, 0,2–6,2)	1 (5, 0,1–24,9)	1 (1,1, 0,03–5,8)	0,321
K70R	3 (2,6, 0,6–7,5)	2 (10, 1,2–31,7)	1 (1,1, 0,03–5,8)	0,079
M184V/I	40 (35,1, 26,4–44,6)	13 (65, 40,8–84,6)	27 (28,7, 19,9–39)	0,004
L210F	1 (0,9, 0,02–4,8)	0 (0, нет данных)	1 (1,1, 0,03–5,8)	1,000
T215Y	1 (0,9, 0,02–4,8)	1 (5, 0,1–24,9)	0 (0, нет данных)	0,175
K219Q	1 (0,9, 0,02–4,8)	0 (0, нет данных)	1 (1,1, 0,03–5,8)	1,000
АСПЦР ^б	$n = 111$	$n = 20$	$n = 91$	
M184V	66 (59,5, 50,3–68,6)	19 (95, 75,1–99,9)	47 (51,6, 40,9–62,3)	< 0,001

PLAT — антиретровирусная терапия, ограниченная периодом беременности.

^а Показатели частоты мутаций у женщин, у которых имелись данные относительно генетической устойчивости вируса.

^б Три образца, исследованные методом секвенирования, не были исследованы АСПЦР.

Факторы, с которыми связана селекция мутаций устойчивости к антиретровирусным препаратам в послеродовой период

При проведении однофакторного анализа (табл. 3) было выявлено, что мутации M184V после родов чаще появлялись у женщин с уровнем РНК ВИЧ во время АРТ более 400 копий/мл [отношение шансов (ОШ) 2,65; 95% ДИ 1,02–6,87; $p = 0,05$], чем у тех, у кого в течение всей беременности вирус в крови не обнаруживался, а также у женщин с более продолжительным применением зидовудина (ОШ 1,25; 95% ДИ 1,01–1,54; $p = 0,04$, на каждый дополнительный месяц). Напротив, мутация M184V реже наблюдалась у женщин в группе трехкомпонентной схемы АРТ, включавшей либо нелфинавир, либо неврирапин (ОШ 0,06; 95% ДИ 0,007–0,44; $p = 0,006$), чем у получавших только два препарата, а также у женщин, леченных трехкомпонентной схемой с нелфинавиром (ОШ 0,06; 95% ДИ 0,008–0,46; $p = 0,007$) или неврирапином (ОШ 0,04; 95% ДИ 0,003–0,48; $p = 0,01$), по сравнению с получавшими только два препарата и у женщин, проходивших трехкомпонентную АРТ

с нелфинавиром, по сравнению с любой другой схемой (ОШ 0,25; 95% ДИ 1,01–1,54; $p = 0,04$). К факторам, с которыми было связано выявление в послеродовой период мутации K103N, относились применение неврирапина (ОШ 7,35; 95% ДИ 1,48–36,5; $p = 0,01$) и более продолжительное применение зидовудина (ОШ 1,40; 95% ДИ 1,02–1,91; $p = 0,04$) или комбинации зидовудин + ламивудин (ОШ 1,42; 95% ДИ 1,04–1,94; $p = 0,03$).

При проведении многофакторного анализа (табл. 4) показателями, с которыми была связана селекция штаммов с мутацией M184V, были применение двухкомпонентной схемы АРТ по сравнению с трехкомпонентной (ОШ 19,64; 95% ДИ 2,47–156,25; $p < 0,01$) и длительность применения зидовудина (ОШ 1,29; 95% ДИ 1,03–1,63; $p = 0,03$, на каждый дополнительный месяц). К показателям, с которыми была связана селекция штаммов с мутацией K103N, относились применение неврирапина во время беременности (ОШ 9,75; 95% ДИ 1,62–58,84; $p = 0,01$) и длительность применения двухкомпонентной АРТ зидовудин + ламивудин (ОШ 1,46; 95% ДИ 1,05–2,02; $p = 0,02$, на каждый дополнительный месяц).

Таблица 3. Факторы, с которыми была связана селекция мутаций M184V и K103N в ходе антиретровирусной терапии, ограниченной периодом беременности (однофакторный анализ)

Фактор	M184V			K103N		
	ОШ	ДИ	p	ОШ	ДИ	p
Вирусная нагрузка РНК ВИЧ во время PLAT, копии/мл						
Все женщины с ВН > 400 vs все женщины с ВН < 400	2,65	1,02–6,87	0,05	1,39	0,34–5,63	0,64
Женщины с чередованием ВН < 400 и > 400 vs все женщины с ВН < 400	2,57	0,95–6,96	0,06	0,72	0,13–3,99	0,71
Наличие мутаций устойчивости до PLAT ^a						
Да vs нет	0,22	0,03–1,74	0,15	Нет данных	Нет данных	1,00
Первый имеющийся анализ количества лимфоцитов CD4 во время беременности, клетки/мкл						
< 200 vs > 350	3,73	0,43–32,6	0,23	1,64	0,17–15,67	0,67
200–350 vs > 350	0,58	0,24–1,41	0,23	0,21	0,29–5,15	0,77
Употребление когда-либо сильнодействующих наркотиков ^b						
Да vs нет	3,39	1,31–8,76	0,01	2,20	0,62–7,80	0,22
Употребление алкоголя ^c						
Да vs нет	1,20	0,52–2,76	0,66	0,85	0,21–3,41	0,81
Этническая принадлежность						
Белые vs чернокожие	0,77	0,10–5,83	0,80	3,87	0,34–44,39	0,28
Латиноамериканцы vs чернокожие	1,21	0,54–2,69	0,65	1,19	0,30–4,71	0,80
Возраст на момент родов (на каждый дополнительный год)	1,03	0,96–1,11	0,42	1,05	0,94–1,19	0,39
Применение АРТ во время беременности						
Трехкомпонентная АРТ (с NFV или NVP) vs двухкомпонентная АРТ	0,06	0,007–0,44	0,006	0,95	0,19–4,79	0,95
Трехкомпонентная АРТ с NFV vs двухкомпонентная АРТ	0,06	0,008–0,46	0,007	0,68	0,13–3,62	0,65
Трехкомпонентная АРТ с NVP vs двухкомпонентная АРТ	0,04	0,003–0,48	0,01	6,75	0,83–54,66	0,07
NFV vs отсутствие NFV	0,25	0,09–0,72	0,01	0,33	0,09–1,17	0,09
NVP vs отсутствие NVP	0,38	0,09–1,68	0,20	7,35	1,48–36,50	0,01
Длительность применения NFV (на каждый дополнительный месяц)	0,95	0,80–1,13	0,59	0,91	0,68–1,23	0,55
Длительность применения NVP (на каждый дополнительный месяц)	0,68	0,38–1,23	0,20	1,06	0,50–2,22	0,88
Длительность применения комбинации ZDV/3TC (на каждый дополнительный месяц)	1,21	0,98–1,48	0,07	1,42	1,04–1,94	0,03
Длительность применения ZDV (на каждый дополнительный месяц)	1,25	1,01–1,54	0,04	1,40	1,02–1,91	0,04
Длительность применения 3TC (на каждый дополнительный месяц)	1,21	0,98–1,48	0,07	1,42	1,04–1,94	0,03

ВН — вирусная нагрузка; ZDV — зидовудин; 3TC — ламивудин; NFV — нелфинавир; NVP — неврирапин; PLAT — антиретровирусная терапия, ограниченная периодом беременности.

^a По данным, имевшимся у 25 из 114 женщин с доступными результатами относительно устойчивости в послеродовой период.

^b Сильнодействующие наркотики включали крэж, кокаин, героин, метадон и другие внутривенные наркотики.

^c Определялось как прием алкоголя когда-либо или лечение в центре детоксикации (вытрезвителе) до беременности.

Таблица 4. Факторы, с которыми связана селекция мутаций M184V и K103N в ходе антиретровирусной терапии, ограниченной периодом беременности (многофакторный анализ)^а

Фактор	M184V			K103N		
	ОШ	ДИ	<i>p</i>	ОШ	ДИ	<i>p</i>
Применение АРТ во время беременности						
Трехкомпонентная АРТ (с NFV или NVP) vs двухкомпонентная АРТ	19,64	2,47–156,25	< 0,001	—	—	—
Длительность применения ZDV (на каждый дополнительный месяц) NVP vs отсутствие NVP	1,29	1,03–1,63	0,03	—	—	—
Длительность применения комбинации ZDV/3TC (на каждый дополнительный месяц)	—	—	—	9,75	1,62–58,84	0,01
	—	—	—	1,46	1,05–2,02	0,02

ZDV — зидовудин; NFV — нелфинавир; NVP — невирапин; 3TC — ламивудин.

^а Многофакторный анализ включал только те характеристики, которые достигли уровня статистической значимости в однофакторном анализе.

Следует отметить, что выявление мутаций M184V и K103N в послеродовой период не было связано с другими факторами, такими как наличие мутаций до начала АРТ, значение первого имеющегося показателя числа лимфоцитов CD4 во время беременности, прием сильнодействующих наркотиков до родов, этническая принадлежность или возраст.

Обсуждение

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о высокой частоте развития устойчивости к антиретровирусным препаратам после родов у женщин, получавших АРТ во время беременности. Основными факторами, определяющими селекцию штаммов с мутациями устойчивости во время беременности, были характеристики режима АРТ, применявшегося для предотвращения передачи вируса от матери ребенку.

Практически у всех женщин, получавших двухкомпонентную АРТ, появилась мутация M184V. Эта мутация обуславливает высокий уровень устойчивости к ламивудину и эмтрицитабину^{25,26} и связана с повышенным риском вирусологической неудачи при использовании комбинаций, включающих эти препараты.¹⁸ Мутации устойчивости к аналогам тимидина были зарегистрированы всего у нескольких женщин, но также чаще выявлялись на фоне двухкомпонентной АРТ. У большей доли участниц, получавших трехкомпонентную АРТ, также произошла селекция мутантных штаммов во время беременности. По данным АСПЦР у 50 % женщин, леченных тремя препаратами, появилась мутация M184V. Более того, хотя всего несколько участниц получали невирапин, почти у 40 % из них после родов были выявлены мутации устойчивости к ННИОТ. Напротив, у женщин, получавших нелфинавир, развитие устойчивости к ингибиторам протеазы наблюдалось редко.

Использование двухкомпонентной схемы и длительность применения зидовудина, отражавшая общую длительность АРТ, были единственными показателями, которые независимо вызывали повышение риска появления мутации M184V после родов. Точно так же выявление мутации K103N в послеродовой период было независимо связано с использованием невирапина и длительностью применения зидовудина и ламивудина. Эти результаты убедительно свидетельствуют против применения двухкомпонентной АРТ для профилактики вертикальной передачи вируса, если имеется возможность использования трехкомпонентной схемы.

Факт частого выявления мутаций устойчивости у женщин, получавших трехкомпонентную АРТ, противоречит результатам, полученным ранее в странах Латинской Америки и Карибского бассейна,²⁷ и позволяют предположить, что применение АРТ во время беременности менее эффективно для стойкого снижения уровня РНК ВИЧ, чем ожидалось. При проведении однофакторного анализа обнаружено, что у женщин с вирусной нагрузкой более 400 копий/мл в течение исследования мутации M184V после родов выявлялись в 2,7 раза чаще, чем у тех, у кого вирус в крови на протяжении беременности не определялся. Аналогичным образом у женщин, получавших нелфинавир, мутации M184V после родов развивались в 4 раза реже, чем у женщин, не применявших этот препарат. Эти данные позволяют предположить, что у женщин, получающих препараты с высоким генетическим барьером для развития устойчивости, меньше вероятность появления мутации M184V. Ни один из этих показателей, однако, не был независимо связан с риском развития устойчивости после родов в многофакторном анализе.

Наличие первичных мутаций устойчивости до начала АРТ также могло бы объяснить высокую частоту устойчивости в послеродовой период в настоящем исследовании. За последние 10 лет распространенность первичной устойчивости среди беременных женщин в США увеличилась.²⁸ Ранее мы сообщали о выявлении первичной устойчивости к ламивудину и эмтрицитабину в 9,4 % случаев и к нелфинавиру — в 6,3 % по данным АСПЦР среди женщин, принявших участие в исследовании WITS в период с 1998 по 2004 г., характеристики которых были аналогичны таковым у участниц настоящего исследования.⁸ Поскольку большинство женщин, включенных в этот анализ, стали получать АРТ до начала участия в WITS, данные о наличии устойчивости до начала лечения имелись только у 1/3 из них. На основании обследования этого ограниченного количества пациенток, мы не наблюдали взаимосвязи между устойчивостью, существовавшей до начала лечения, и селекцией штаммов с мутациями M184V или K103N после родов.

Мы не оценивали степень приверженности к лечению, поэтому мы не можем исключить наличие связи между недостаточной приверженностью к лечению и развитием устойчивости в послеродовой период. В предыдущих исследованиях такие факторы, как этническая принадлежность, употребление алкоголя и наркотиков, были связаны с низкой приверженностью к АРТ и неблагоприятными вирусологическими исходами;²⁹⁻³¹ тем

не менее в настоящем исследовании связи между этими факторами и развитием устойчивости после родов не обнаружено.

Наконец, нарушение фармакокинетики препаратов, связанное с физиологическими изменениями во время беременности, могло обусловить недостаточный уровень препаратов в крови на протяжении беременности или замедление их элиминации в послеродовой период. Применение большинства ингибиторов протеазы, включая нелфинавир, у ВИЧ-инфицированных женщин во время беременности ограничено в связи с повышенной активностью изоферментов СУРЗА кишечника и печени.³²⁻³⁶ Кроме того, для беременных характерны повышенный клиренс невирапина и более низкие его концентрации в плазме по сравнению с небеременными, хотя на уровень невирапина в плазме главным образом влияет масса тела.³⁷ Chaix et al.³⁸ показали, что селекция штаммов с мутациями устойчивости к невирапину имела выраженную взаимосвязь с повышением медианы концентрации невирапина в плазме. Замедление элиминации невирапина после родов у женщин с повышенным его уровнем в плазме дает возможность для репликации вирусов в присутствии недостаточных концентраций препарата.

Так же как и в предыдущих исследованиях,^{8,17,39} при использовании АСПЦР частота выявления ключевых мутаций устойчивости была выше, чем при популяционном секвенировании генома вируса. В нескольких исследованиях было показано, что наличие небольшого количества ННИОТ-резистентных штаммов более чем в 3 раза увеличивало риск вирусологической неудачи при последующем применении АРТ с ННИОТ.^{17,40} В связи с этим результаты настоящего исследования имеют важное клиническое значение для женщин, получающих АРТ во время беременности. Четко установлено, что селекция мутаций устойчивости к ламивудину, эмтрицитабину и ННИОТ во время беременности повышает риск терапевтических неудач при последующем применении АРТ, включающей ННИОТ, особенно если лечение начинается в течение 6–12 мес. после родов.^{18,19}

Несмотря на то что АСПЦР на несколько порядков чувствительнее секвенирования, она имеет ряд недостатков, ограничивающих ее применение в обычной клинической практике. Так, АСПЦР исследует только один кодон за реакцию, на результаты исследования может повлиять наличие полиморфизма участков вируса, связывающихся с праймерами. Кроме того, не определено минимальное количество фрагментов редких вариантов, которое с высокой чувствительностью и специфичностью может прогнозировать результаты АРТ.

Несмотря на ограниченное количество некоторых обследуемых категорий участниц и недостаток данных относительно устойчивости до начала лечения, результаты нашего исследования позволяют предположить, что использование трехкомпонентной схемы АРТ для профилактики вертикальной передачи вируса более предпочтительно для сохранения возможностей дальнейшей терапии у женщин. По возможности антиретровирусные схемы, применяемые для предотвращения передачи вируса от матери ребенку, должны включать препараты с высоким генетическим барьером. АРТ на

основе нелфинавира больше не считается предпочтительной схемой в этом случае.⁴¹ Результаты настоящего исследования указывают на возможность использования других ингибиторов протеазы.²⁷ У женщин, получающих АРТ на основе невирапина, время прекращения его приема и длительность применения сопутствующих препаратов требуют дальнейшего уточнения во избежание активной вирусной репликации в присутствии недостаточных концентраций препарата. Необходимо сделать все возможное для обеспечения высокой приверженности к АРТ во время беременности. И наконец, учитывая, что количество мутаций устойчивости, появившихся во время беременности, уменьшается после прекращения АРТ, исследование генотипической устойчивости через 1–2 мес. после родов высокоинформативно в отношении планирования дальнейшего лечения женщин, получавших АРТ, ограниченную периодом беременности, и может оказать помощь в выборе схемы АРТ в послеродовой период.

Благодарности

R.P. выполнял исследование устойчивости методами секвенирования и АСПЦР, а также является автором первоначального варианта статьи. Он принимал участие в ее обсуждении и пересмотре. I.C. выполняла статистические анализы и принимала участие в написании статьи, ее обсуждении и пересмотре. D.R.K. и R.E.T. осуществляли разработку и координацию исследования, принимали участие в обзоре результатов исследования и написании статьи, ее обсуждении и пересмотре. Исследовательская группа Women and Infant's Transmission Study внесла вклад в дизайн и материальное обеспечение исследования, а также принимала участие в обзоре, обсуждении и написании рукописи.

Исследование проведено при финансовой поддержке системы Национальных институтов здоровья США, предоставившей следующие гранты: K24 RR16482 от Лаборатории по вирусологическим исследованиям, U01 AI-38858 от Группы по клиническим испытаниям в области СПИДа у взрослых (Adult ACTG) и P30 AI60354 от Центра исследований СПИДа медицинской школы Гарварда. R.P. получил грант от Caixa d'Estalvis i Pensions de Barcelona (Испания).

Главные исследователи, координаторы исследования, руководители проекта и финансовые директора исследования WITS: Clemente Diaz, Edna Pacheco-Acosta (University of Puerto Rico, San Juan, PR; U01 AI 034858); Ruth Tuomala, Ellen Cooper, Donna Mesthene (Boston/Worcester Site, Boston, MA; 9U01 DA 015054); Phil LaRussa, Alice Higgins (Columbia Presbyterian Hospital, New York, NY; U01 DA 015053); Sheldon Landesman, Herman Mendez, Ava Dennie (State University of New York, Brooklyn, NY; U01 HD 036117); Kenneth Rich, Delmyra Turpin (University of Illinois at Chicago, Chicago, IL; U01 AI 034841); William Shearer, Norma Cooper (Baylor College of Medicine, Houston, TX; U01 HD 041983); Joana Rosario (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Bethesda, MD); Kevin Ryan, (National Institute of Child Health and Human Development, Bethesda, MD); Vincent Smeriglio, Katherine Davenny (National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD); Bruce Thompson (Clinical Trials & Surveys Corp., Baltimore, MD, N01 AI 085339).

Научные руководители: Kenneth Rich (PI), Delmyra Turpin (Study Coordinator) (1 U01 AI 050274-01). Дополнительную поддержку оказали местные центры клинических исследований: Baylor College of Medicine, Houston, TX; NIH GCRC RR000188; Columbia University, New York, NY; NIH GCRC RR000645.

Настоящая работа была частично представлена на 15-й Конференции по ретровирусам и оппортунистическим инфекциям в 2008 г. (Бостон, США).

Литература

- Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, de Ruiter A, Lyall H, Tookey PA. Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000–2006. *AIDS* 2008; 22:973–981.
- Horvath T, Madi BC, Iuppa IM, Kennedy GE, Rutherford G, Read JS. Interventions for preventing late postnatal mother-to-child transmission of HIV. *Cochrane Database Syst Rev* 2009: CD006734.
- Suksomboon N, Poolsup N, Ket-Aim S. Systematic review of the efficacy of antiretroviral therapies for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *J Clin Pharm Ther* 2007; 32:293–311.
- Volmink J, Siegfried NL, van der Merwe L, Brocklehurst P. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2007: CD003510.
- Read JS, Newell MK. Efficacy and safety of cesarean delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *Cochrane Database Syst Rev* 2005: CD005479.
- Guay LA, Musoke P, Fleming T, Bagenda D, Allen M, Nakabiito C, et al. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* 1999; 354:795–802.
- Arrive E, Newell ML, Ekouevi DK, Chaix ML, Thiebaut R, Masquelier B, et al. Prevalence of resistance to nevirapine in mothers and children after single-dose exposure to prevent vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2007; 36:1009–1021.
- Paredes R, Cheng I, Kuritzkes DR, Tuomala RE. High prevalence of primary lamivudine and nelfinavir resistance in HIV-1-infected pregnant women in the United States, 1998–2004. *AIDS* 2007; 21:2103–2106.
- Shah SS, Crane M, Monaghan K, McGowan JP. Genotypic resistance testing in HIV-infected pregnant women in an urban setting. *Int J STD AIDS* 2004; 15:384–387.
- Henry M, Thuret I, Solas C, Genot S, Colson P, Tamalet C. Vertical transmission of multidrug-resistant Q151M human immunodeficiency virus type 1 strains. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27:278–280.
- Martinson NA, Morris L, Gray G, Moodley D, Pillay V, Cohen S, et al. Selection and persistence of viral resistance in HIV-infected children after exposure to single-dose nevirapine. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44:148–153.
- Lee EJ, Kantor R, Zijenah L, Sheldon W, Emel L, Mateta P, et al. Breast-milk shedding of drug-resistant HIV-1 subtype C in women exposed to single-dose nevirapine. *J Infect Dis* 2005; 192:1260–1264.
- Johnson VA, Petropoulos CJ, Woods CR, Hazelwood JD, Parkin NT, Hamilton CD, Fiscus SA. Vertical transmission of multi-drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and continued evolution of drug resistance in an HIV-1-infected infant. *J Infect Dis* 2001; 183:1688–1693.
- Eshleman SH, Mracna M, Guay LA, Deseyve M, Cunningham S, Mirochnick M, et al. Selection and fading of resistance mutations in women and infants receiving nevirapine to prevent HIV-1 vertical transmission (HIVNET 012). *AIDS* 2001; 15:1951–1957.
- Siegrist CA, Yerly S, Kaiser L, Wyler CA, Perrin L. Mother to child transmission of zidovudine-resistant HIV-1. *Lancet* 1994; 344:1771–1772.
- Jourdain G, Ngo-Giang-Huong N, Le Coeur S, Bowonwatanuwong C, Kantipong P, Leechanachai P, et al. Intrapartum exposure to nevirapine and subsequent maternal responses to nevirapine-based antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 2004; 351:229–240.
- Paredes R, Lalama C, Ribaudo H, Schackman B, Shikuma C, Meyer W, et al. Presence of minor populations of Y181C mutants detected by Allele-Specific PCR (ASPCR) and risk of efavirenz failure in treatment-naive patients: results of an ACTG 5095 case-cohort study. In: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Boston; 2008.
- Coffie PA, Ekouevi DK, Chaix ML, Tonwe-Gold B, Clarisse AB, Becquet R, et al. Maternal 12-month response to antiretroviral therapy following prevention of mother-to-child transmission of HIV type 1, Ivory Coast, 2003–2006. *Clin Infect Dis* 2008; 46:611–621.
- Lockman S, Shapiro RL, Smeaton LM, Wester C, Thior I, Stevens L, et al. Response to antiretroviral therapy after a single, peripartum dose of nevirapine. *N Engl J Med* 2007; 356:135–147.
- Sheon AR, Fox HE, Rich KC, Stratton P, Diaz C, Tuomala R, et al. The women and infants transmission study (WITS) of maternal-infant HIV transmission: study design, methods and baseline data. *J Women's Health* 1996; 5:69–78.
- Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, Gunthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Spring 2008. *Top HIV Med* 2008; 16:62–68.
- Paredes R, Marconi VC, Campbell TB, Kuritzkes DR. Systematic evaluation of allele-specific real-time PCR for the detection of minor HIV-1 variants with pol and env resistance mutations. *J Virol Methods* 2007; 146:136–146.
- Lin HJ, Tanwandee T, Hollinger FB. Improved methods for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA and hepatitis C virus RNA in blood using spin column technology and chemiluminescent assays of PCR products. *J Med Virol* 1997; 51:56–63.
- Paredes R, Marconi VC, Campbell TB, Kuritzkes DR. Systematic evaluation of allele-specific real-time PCR for the detection of minor HIV-1 variants with pol and env resistance mutations. *J Virol Methods* 2007; 146:136–146.
- Wainberg MASH, Gu Z, Montaner JS, Cooley TP, McCaffrey R, Ruedy J, et al. Development of HIV-1 resistance to (–)2'-deoxy-3'-thiacytidine in patients with AIDS or advanced AIDS-related complex. *AIDS* 1995; 9:351–357.
- Gao Q, Gu Z, Parniak MA, Cameron J, Cammack N, Boucher C, Wainberg MA. The same mutation that encodes low-level human immunodeficiency virus type 1 resistance to 2',3'-dideoxyinosine and 2',3'-dideoxycytidine confers high-level resistance to the (–) enantiomer of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1390–1392.
- Duran AS, Losso MH, Salomon H, Harris DR, Pampuro S, Soto-Ramirez LE, et al. Drug resistance among HIV-infected pregnant women receiving antiretrovirals for prophylaxis. *AIDS* 2007; 21:199–205.
- Welles SL, Bauer GR, LaRussa PS, Colgrove RC, Pitt J. Time trends for HIV-1 antiretroviral resistance among antiretroviral-experienced and naive pregnant women in New York City during 1991 to early 2001. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44:329–335.
- Cohn SE, Umbleja T, Mrus J, Bardiguez AD, Andersen JW, Chesney MA. Prior illicit drug use and missed prenatal vitamins predict non-adherence to antiretroviral therapy in pregnancy: adherence analysis A5084. *AIDS Patient Care STDS* 2008; 22:29–40.
- Mellins CA, Chu C, Malee K, Allison S, Smith R, Harris L, et al. Adherence to antiretroviral treatment among pregnant and postpartum HIV-infected women. *AIDS Care* 2008; 20:958–968.
- Schackman BR, Ribaudo HJ, Krambrink A, Hughes V, Kuritzkes DR, Gulick RM. Racial differences in virologic failure associated with adherence and quality of life on efavirenz-containing regimens for

- initial HIV therapy: results of ACTG A5095. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46:547–554.
32. Bryson YJ, Mirochnick M, Stek A, Mofenson LM, Connor J, Capparelli E, et al. Pharmacokinetics and safety of nelfinavir when used in combination with zidovudine and lamivudine in HIV-infected pregnant women: Pediatric AIDS Clinical Trials Group (PACTG) Protocol 353. *HIV Clin Trials* 2008; 9:115–125.
 33. Unadkat JD, Wara DW, Hughes MD, Mathias AA, Holland DT, Paul ME, et al. Pharmacokinetics and safety of indinavir in human immunodeficiency virus-infected pregnant women. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:783–786.
 34. Nellen JF, Schillevoort I, Wit FW, Bergshoeff AS, Godfried MH, Boer K, et al. Nelfinavir plasma concentrations are low during pregnancy. *Clin Infect Dis* 2004; 39:736–740.
 35. Mathias AA, Maggio-Price L, Lai Y, Gupta A, Unadkat JD. Changes in pharmacokinetics of anti-HIV protease inhibitors during pregnancy: the role of CYP3A and P-glycoprotein. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316:1202–1209.
 36. Stek AM, Mirochnick M, Capparelli E, Best BM, Hu C, Burchett SK, et al. Reduced lopinavir exposure during pregnancy. *AIDS* 2006; 20:1931–1939.
 37. von Hentig N, Carlebach A, Gute P, Knecht G, Klauke S, Rohrbacher M, et al. A comparison of the steady-state pharmacokinetics of nevirapine in men, nonpregnant women and women in late pregnancy. *Br J Clin Pharmacol* 2006; 62:552–559.
 38. Chaix ML, Ekouevi DK, Peytavin G, Rouet F, Tonwe-Gold B, Viho I, et al. Impact of nevirapine (NVP) plasma concentration on selection of resistant virus in mothers who received single-dose NVP to prevent perinatal human immunodeficiency virus type 1 transmission and persistence of resistant virus in their infected children. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:896–901.
 39. Metzner KJ, Rauch P, Walter H, Boesecke C, Zollner B, Jessen H, et al. Detection of minor populations of drug-resistant HIV-1 in acute seroconverters. *AIDS* 2005; 19:1819–1825.
 40. Simen BB, Huppler Hullsiek K, Novak RM, MacArthur RD, Baxter JD, Huang C, et al. Prevalence of Low abundance drug resistant variants by ultra-deep sequencing in chronically HIV-infected antiretroviral (ARV) naive patients and the impact on virologic outcomes. In: 16th International HIV Drug Resistance Workshop; Barbados, West Indies; June 12–16, 2007. 2007.
 41. Perinatal HIV Guidelines Working Group. Public Health Service Task Force recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV transmission in the United States. November 2, 2007. 1–96. <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PerinatalGL.pdf>. [Accessed: July 28th, 2008]

AIDS

Том 3 • №1 • Январь – март 2010

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И СОЦИАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

-
- 63 **Врожденные пороки у детей, матери которых принимали эфавиренз в составе комбинированной антиретровирусной терапии во время беременности: исследование в региональной больнице ЮАР**
Ebrahim Bera, Katrin McCausland, Roxaan Nonkwelo, Batembu Mgudlwa, Saji Chacko, Busiwe Majeke
- 71 **Влияние комбинированной антиретровирусной терапии на общую смертность ВИЧ-инфицированных пациентов. Реферат**
Объединенная исследовательская группа HIV-CAUSAL Collaboration

Врожденные пороки у детей, матери которых принимали эфавиренз в составе комбинированной антиретровирусной терапии во время беременности: исследование в региональной больнице ЮАР

Ebrahim Bera^{a,b}, Katrin McCausland^a, Roxaan Nonkwelo^a,
Batembu Mgudlwa^a, Saji Chacko^a, Busiwe Majeke^a

Цель. Установить распространенность и виды пороков развития у детей, матери которых принимали эфавиренз в составе комбинированной антиретровирусной терапии (АРТ на основе эфавиренза) во время беременности.

Методы. Для того чтобы обеспечить проспективное наблюдение за женщинами, принимающими АРТ на основе эфавиренза, был основан регистр «Эфавиренз и беременность». Если женщина, которая забеременела на фоне приема АРТ на основе эфавиренза, обращалась в I триместре беременности, эфавиренз меняли на другой препарат, если на 14-й неделе или позже — схему АРТ оставляли прежней. Женщинам, которым показана пожизненная АРТ, назначали терапию на основе эфавиренза с 14-й недели беременности. За детьми наблюдали в течение 6 нед. после рождения.

Результаты. В период с января 2006 г. по декабрь 2008 г. 623 женщинам, ранее не принимавшим антиретровирусных средств, назначена АРТ на основе эфавиренза во II или III триместре беременности; 195 женщин забеременели на фоне АРТ на основе эфавиренза. Частота врожденных пороков составила 16 случаев на 623 новорожденных (2,6 %; 95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 1,5–4,2 %) и 6 на 184 новорожденных (3,3 %; 95% ДИ 1,2–7,0 %), матери которых принимали эфавиренз во II–III и в I триместрах беременности соответственно. Достоверных различий в распространенности врожденных пороков у новорожденных, матери которых принимали эфавиренз в I или II–III триместре беременности, выявлено не было (соотношение распространенности 1,27; 95% ДИ 0,50–3,20; $p = 0,301$).

Выводы. Достоверного увеличения распространенности врожденных пороков у детей, матери которых принимали АРТ на основе эфавиренза в I триместре беременности, в данной когорте выявлено не было. Однако небольшое количество таких наблюдений не позволяет сделать окончательный вывод о тератогенности или безопасности эфавиренза.

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2010, **24**:283–289

Ключевые слова: антиретровирусная терапия, беременность, ВИЧ, врожденные пороки, ЮАР, эфавиренз.

^aWalter Sisulu University, ^bDepartment of Obstetrics and Gynaecology, Frere Hospital, East London, Eastern Cape, South Africa. Автор, ответственный за переписку: Dr Ebrahim Bera, Department of Obstetrics & Gynaecology, East London Hospital Complex, Private Bag X9047, East London, Eastern Cape, South Africa.

Tel: +27 76 788 6888; fax: +27 43 709 2483; e-mail: drebera@hotmail.com

Получено 11 августа 2009 г.; получено с поправками 28 сентября 2009 г., принято в печать 30 сентября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e328333af32

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: 95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; АРТ — антиретровирусная терапия; ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения; КТ — компьютерная томография.

Введение

Эфавиренз был переведен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) из категории С (риск не исключен) в категорию D (риск аномалий развития плода) после сообщений о случаях врожденных пороков у новорожденных, матери которых принимали эфавиренз в I триместре беременности.¹ Аналогичные пороки: анэнцефалия, анофтальмия, микрофтальмия и расщелина нёба — наблюдались в эксперименте у 3 из 20 детенышей яванских макаков при назначении самкам эфавиренза с 20-х по 150-е сутки беременности в концентрациях, сходных с таковыми у человека. К настоящему времени были сообщения о трех случаях миеломенингоцеле и двух случаях синдрома Денди—Уокера у людей.²⁻⁵ Однако без контрольной группы и знания механизма развития порока судить о наличии или степени тератогенного риска эфавиренза невозможно.

Хотя в приведенных случаях врожденные пороки были аналогичны наблюдаемым в экспериментальных исследованиях на животных, последнее сообщение о синдроме Денди—Уокера, связанном с приемом невирапина,⁶ выявило низкую предсказательную ценность экспериментальных исследований токсичности для плода. Исследования невирапина на крысах и кроликах не показали его тератогенности.⁷

Беременных женщин обычно исключают из исследований препаратов. Это затрудняет оценку безопасности препаратов у беременных. Врачи принимают решение о безопасности препаратов на основе обширного клинического опыта его использования у беременных или из проспективных регистров, например регистра «Ацикловир и беременность».⁸

Данные международного регистра «Антиретровирусная терапия во время беременности» не показали значимого увеличения частоты пороков развития после применения эфавиренза в I триместре беременности. Врожденные пороки наблюдались у 14 (2,9 %) из 477 новорожденных, среди них был один случай миеломенингоцеле и один случай расщелины лица с анофтальмией.⁹ Количество женщин, принимавших АРТ на основе эфавиренза в европейском совместном исследовании, в исследовании передачи ВИЧ от матери ребенку и исследовании в Ботсване, было недостаточным для оценки врожденных пороков.¹⁰⁻¹² Обнадёживающие результаты были получены в исследовании 8000 ВИЧ-инфицированных беременных в Великобритании и Ирландии:¹³ из 205 новорожденных, матери которых принимали эфавиренз на ранних сроках беременности, врожденные пороки были только у 5 (2,4 %) детей, случаев синдрома Денди—Уокера или миеломенингоцеле не было.

Применение эфавиренза у беременных во всем мире значительно снизилось вследствие доступности альтернативных схем АРТ. Однако в развивающихся странах выбор препаратов для АРТ ограничен. В ЮАР для лечения ВИЧ-1-инфицированных взрослых эфавиренз назначают чаще, чем невирапин, поскольку он безопаснее, не требует столь тщательного наблюдения, быстрее снижает вирусную нагрузку и, вероятно, лучше влияет на выживаемость.¹⁴

Повышение доступности АРТ для женщин репродуктивного возраста предполагает, что число случаев наступления беременности на фоне приема эфавиренза может вырасти.

В связи с этим мы попытались установить распространенность и виды врожденных пороков у детей, матери которых принимали эфавиренз в составе комбинированной АРТ во время беременности.

Клиническая база

Больница Frege, расположенная в Ист-Лондоне, — это региональная больница, которая функционирует как медицинский центр, куда направляют нуждающихся в специализированной стационарной помощи с огромной территории Восточного Кейпа, провинции ЮАР. Распространенность ВИЧ-инфекции среди беременных в этой провинции составляет 29 %.¹⁵ В этом учреждении рождается около 7000 детей в год.

Методы

В январе 2006 г. был основан региональный регистр «Эфавиренз и беременность», чтобы иметь возможность проспективного наблюдения за беременными данного региона, принимающими АРТ на основе эфавиренза.

Женщинам, которым показана пожизненная АРТ, назначали схемы на основе эфавиренза при следующих условиях: срок беременности превышает 14 нед., получено письменное согласие использовать контрацепцию после родов, проводилось подробное УЗИ плода для исключения пороков развития до начала АРТ, исключены психические заболевания.

Показаниями для пожизненной АРТ являются число лимфоцитов CD4 < 250/мкл или IV стадия ВИЧ-инфекции по классификации ВОЗ.

Эфавиренз обычно применяют в сочетании со следующими нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы: ставудин и ламивудин. Местное управление по вопросам ВИЧ и СПИДа разрешило применение зидовудина только в случае непереносимости ставудина и ограничило применение лопинавира/ритонавира I триместром беременности только для замены эфавиренза у женщин с числом лимфоцитов CD4 > 250/мкл.

В соответствии с протоколом женщинам, забеременевшим на фоне лечения эфавирензом, предлагали прервать беременность до 20-й недели. Женщинам, которые решили сохранить беременность, эфавиренз заменяли на невирапин, если у них число лимфоцитов CD4 не превышало 250/мкл, и на лопинавир/ритонавир, если число лимфоцитов CD4 превышало 250/мкл. С января 2007 г. всем женщинам, забеременевшим на фоне приема эфавиренза, в I триместре беременности препарат меняли на невирапин независимо от числа лимфоцитов CD4, руководствуясь данными о меньшей токсичности невирапина у женщин, получавших АРТ ранее.¹⁶

У женщин, впервые обратившихся на 14-й неделе или позже, продолжали АРТ на основе эфавиренза по пре-

жней схеме, если только клиническая ситуация не требовала ее пересмотра. Женщин, забеременевших на фоне лечения эфавирензом, дополнительно вносили в регистр «Антиретровирусная терапия во время беременности» с начала 2008 г.⁹

Основные демографические показатели (возраст, количество предшествовавших родов, число лимфоцитов CD4, концентрация вирусной РНК (вирусная нагрузка), стадия заболевания согласно ВОЗ и срок беременности) узнавали у всех женщин. У женщин, забеременевших на фоне лечения эфавирензом, собирали дополнительную информацию: продолжительность приема эфавиренза до беременности, предшествующий самопроизвольный аборт, мертворождение или гибель новорожденного, концентрация вирусной РНК при первом обращении и в родах, одновременный прием триметоприма/сульфаметоксазола и рождение детей с врожденными пороками. Женщины, которые принимали АРТ на основе эфавиренза весь I триместр, классифицировались как «принимавшие эфавиренз весь I триместр». Женщины, у которых эфавиренз был заменен на другой препарат, рассматривались как «принимавшие эфавиренз часть I триместра». I триместр заканчивался на сроке беременности 13 нед. и 6 дней.

Подробное УЗИ плода проводили на 18–23-й неделе. При необходимости выполняли амниоцентез или кордоцентез для дальнейшего исследования найденных при УЗИ пороков развития.

После родов новорожденного обследовал педиатр или старший акушер для выявления врожденных пороков. За матерью и ребенком наблюдали в течение 6 нед. после родов.

Оценивали распространенность и виды врожденных пороков. Поскольку за детьми данной группы наблюдали лишь 6 нед., определение наличия врожденных пороков было ограничено теми из них, которые можно выявить в этот период. Распространенность врожденных пороков оценивали как отношение числа врожденных пороков, выявленных у всех беременных после 24-й не-

дели, к общему числу рожденных живыми детей. Группа из 200 новорожденных, матери которых принимали АРТ на основе эфавиренза, признана достаточной, для того чтобы выявить двукратное увеличение риска врожденных пороков по сравнению с международными исследованиями.¹⁷

Самопроизвольные аборты, которые произошли ранее 24-й недели беременности,¹⁸ исключены из анализа. Однако беременности, прерванные на любом сроке по причине установления пороков развития плода при УЗИ, в анализ включены. Врожденные пороки у близнецов оценивались отдельно. Несколько пороков у одного ребенка рассматривали как один случай.

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы Epi-info, версия 3.2.2 (Центр по контролю заболеваемости, США, 2005). Непрерывные переменные представлены в виде медианы с межквартильными интервалами, а дихотомические данные — в виде доли с 95% ДИ. Разрешение на проведение данного исследования было получено от больничного этического комитета.

Результаты

В период с 1 января 2006 г. по 31 декабря 2008 г. 744 женщины начали АРТ на основе эфавиренза во II триместре беременности. Из них 89 беременных еще не родили к концу исследования, а 32 (4,9 %) — выбыли. За этот же период 220 женщин забеременели на фоне АРТ на основе эфавиренза и 42 — на фоне АРТ на основе невирапина.

17 женщин, забеременевших на фоне АРТ на основе эфавиренза, и 7 — на фоне АРТ на основе невирапина сохранили беременность. Из них соответственно 8 (3,9 %) и 2 (5,7 %) женщины выбыли из исследования.

Представлены сведения об исходе беременностей у 851 женщины. В табл. 1 приводятся сводные данные о беременных, новорожденных и распространенности врожденных пороков в каждой группе.

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп женщин, принимавших эфавиренз во II–III триместре, которые забеременели на фоне приема эфавиренза или невирапина, и исходов их беременностей

Показатель	Принимавшие эфавиренз во II–III триместре (n = 623)	Забеременевшие на фоне приема эфавиренза (n = 195)	Забеременевшие на фоне приема невирапина (n = 33)
Возраст, годы (МКИ)	28 (25–32)	30 (27–34)	31 (26–33)
Первая беременность (%)	228 (37)	48 (25)	10 (30)
Число лимфоцитов CD4, клетки/мкл (МКИ)	171 (106–218)	275 (196–374)	260 (164–461)
Длительность АРТ, нед. (МКИ)	9 (4–13)	39 (37–40)	38 (36–39)
Близнецы (%)	16 (2,6)	5 (2,6)	1 (3,0)
Родившиеся живыми	623	184	33
Масса тела при рождении, кг (МКИ)	3,00 (2,60–3,27)	3,00 (2,64–3,30)	2,90 (2,40–3,25)
Мальчики (% от родившихся живыми)	319 (51,2)	90 (48,9)	17 (51,5)
Врожденные пороки/родившиеся живыми	16/623	6/184	1/33
Распространенность пороков (95% ДИ)	2,6 % (1,5–4,2)	3,3 % (1,2–7,0)	3,0 % (0,1–15,8)

МКИ — межквартильный интервал.

Данные представлены в виде средних величин, если не указано иное. Не выявлено достоверных различий в распространенности врожденных пороков между детьми, матери которых забеременели на фоне приема эфавиренза, и детьми, матери которых забеременели на фоне невирапина ($p = 0,690$). Не выявлено достоверных различий в распространенности врожденных пороков между детьми, матери которых забеременели на фоне приема эфавиренза, и детьми, матери которых принимали эфавиренз во II–III триместре беременности ($p = 0,301$).

Женщины, которые во время беременности получали АРТ на основе эфавиренза ($n = 623$)

Ни одна из участниц этой группы не получала АРТ ранее. Средний возраст составлял 28 лет, средний срок беременности при начале АРТ — 30 нед. У 228 (37 %) женщин это была первая беременность. Среднее число лимфоцитов CD4 и средняя концентрация вирусной РНК в плазме составляли 171/мккли $4,42 \log_{10}$ копий/мл соответственно. У 26 (4 %) женщин была IV стадия ВИЧ-инфекции по классификации ВОЗ, 41 (7 %) женщина одновременно лечилась от туберкулеза.

Медиана срока беременности на момент родов составляла 39 нед. Концентрация вирусной РНК в плазме к моменту родов была известна у 459 (74 %) женщин, у 320 (70 %) из них концентрация вирусной РНК составляла менее 50 копий/мл.

У 28 (5 %) женщин после родов была выполнена операция по перевязке маточных труб по их просьбе. У 16 (2,6 %) женщин родились близнецы и у одной — тройня. Было 6 самопроизвольных аборт (включая тройню) и 10 мертворождений. Из 623 новорожденных 319 (51,2 %) — мальчики.

На 623 новорожденных было 16 врожденных пороков, соответственно распространенность составила 2,6 % (95% ДИ 1,5–4,2 %). Эти пороки включали арахноидальные кисты, стеноз легочной артерии (неподтвержденный), постаксиальная полидактилия (7 случаев), асимметрия лица и перекрывание пальцев, двусторонняя врожденная косолапость, врожденный невоклеточный невус и пупочная грыжа (4 случая).

Арахноидальная киста у одного новорожденного была выявлена при УЗИ, выполненном перед началом АРТ. Кисту задней черепной ямки обнаружили на 26-й неделе. После рождения ребенка наличие арахноидальной кисты было подтверждено при КТ. У новорожденного со стенозом легочной артерии была тяжелая интранатальная асфиксия, проведена искусственная вентиляция легких, развилась сердечная недостаточность. Подозрение на стеноз легочной артерии возникло сразу, однако новорожденный умер до подтверждения диагноза. Ввиду отсутствия перинатальной патологоанатомической службы в нашем институте мы не смогли подтвердить или опровергнуть диагноз стеноза легочной артерии у этого ребенка. У всех детей с постаксиальной полидактилией был дефектный палец, представлявший собой кожный вырост.

Женщины, которые забеременели на фоне АРТ на основе эфавиренза ($n = 195$)

Все эти беременности были незапланированными. 181 (93 %) женщина до беременности принимала эфавиренз более месяца.

Средний возраст этих женщин составлял 30 лет, у 48 (25 %) из них это была первая беременность. Среднее число лимфоцитов CD4 при поступлении было 275/мкл. 55 (26 %) женщин лечились от туберкулеза до начала АРТ, и у 37 (19 %) показанием к началу АРТ послужила IV стадия ВИЧ-инфекции по классификации ВОЗ до беременности. 65 (33 %) женщин до подтверждения бере-

менности принимали триметоприм/сульфаметоксазол в качестве профилактики. У двух женщин былаотягощенная наследственность по врожденным порокам.

Средний срок беременности при первом обращении составил 19 нед. Только 9 (5 %) женщин впервые обратились на 6-й неделе, 46 (24 %) — между 6-й и 13-й неделей, 140 (72 %) — на 14-й неделе или позже.

Эфавиренз был заменен на невирапин у 55 (28 %) женщин и на лопинавир/ритонавир — у 8. Из 140 женщин, впервые обратившихся после 14-й недели, 134 принимали эфавиренз весь I триместр. 6 женщинам эфавиренз заменили на невирапин в их местных медицинских центрах, проводивших АРТ, до обращения в нашу клинику.

Почти все женщины (кроме трех) со сроком беременности менее 20 нед. решили прервать беременность. У двух женщин была внематочная беременность, потребовавшая сальпингэктомии.

5 (2,6 %) женщин были беременны близнецами. Произошло 6 самопроизвольных абортов (включая одну пару близнецов) и 4 мертворождения (включая внутриутробную гибель плода и беременность близнецами). Из 184 новорожденных было 90 (48,9 %) мальчиков.

Данные о концентрации вирусной РНК в плазме были только у 131 (72 %) из 181 женщины, родившей живых детей (включая три пары близнецов), у 103 (79 %) из них вирусная нагрузка была ниже 50 копий/мл. Концентрация вирусной РНК к началу родов не изменилась у значительного большего количества женщин, которые продолжали принимать эфавиренз в течение всей беременности (75/90, 83 %; 95% ДИ 74–90 %) по сравнению с теми, кого перевели на невирапин или лопинавир/ритонавир (28/41, 68 %; 95% ДИ 52–82 %) ($p = 0,031$).

Один из четырех мертворожденных погиб при родах, вызванных на 32-й неделе беременности у 43-летней женщины. У этого плода была диагностирована трисомия по хромосоме 18 (синдром Эдвардса) по УЗИ, диагноз подтвержден при цитогенетическом анализе амниотической жидкости.

Редкий, но тяжелый порок — врожденный множественный артрогрипоз — обусловил случай ранней неонатальной гибели в этой группе. Новорожденный появился на свет с тяжелыми контрактурами суставов, перепонками на пальцах рук и ног, гипоплазией легких, отсутствием крестца и односторонней расщелиной верхней губы и нёба. При УЗИ обнаружили акинезию и многоводие. Цитогенетическое исследование амниотической жидкости не выявило аномалий.

Врожденные пороки обнаружены у 5 из 184 новорожденных и у одного из 4 мертворожденных, таким образом, их частота составила 3,3 % (95% ДИ 1,2–7,0 %). Врожденные пороки включали трисомию по хромосоме 18 (синдром Эдвардса), врожденный множественный артрогрипоз, атрезию пищевода с трахеопищеводным свищем, постаксиальную полидактилию кистей и преаксиальную полидактилию с синдактилией стоп, постаксиальную полидактилию и нижний центральный резец. Подробная характеристика врожденных пороков и исходы даны в табл. 2.

Таблица 2. Виды врожденных пороков у детей, матери которых принимали эфавиренз в I триместре беременности, исходы

Пациентка №	Возраст	Срок беременности при первом обращении	Прием эфавиренза весь I триместр	Врожденный порок	Исход
1	43 года	26 нед.	Да	Трисомия по хромосоме 18 (синдром Эдвардса)	Вызванные роды/мертворождение
2	36 лет	18 нед.	Да	Врожденный множественный артрогрипоз ^а	Ранняя неонатальная гибель
3	37 лет	9 нед.	Нет	Атрезия пищевода с трахео-пищеводным свищом	Хирургическая коррекция
4	28 лет	14 нед.	Нет	Полисиндактилия ^б	Врачебное вмешательство не проводилось
5	33 года	17 нед.	Да	Постаксиальная полидактилия ^б	Удаление
6	31 год	31 нед.	Да	Нижний центральный резец	Удаление

^а Врожденный множественный артрогрипоз — врожденный порок, включающий контрактуры суставов, перепонки на пальцах рук и ног, гипоплазию легких, отсутствие крестца и одностороннюю расщелину верхней губы и нёба.

^б Полисиндактилия, полидактилия с синдактилией — дополнительные полностью сформированные пальцы с фалангами и ногтями, пальцы рук расположены постаксиально, а пальцы ног — преаксиально, последние спаяны с большим пальцем.

Статистически значимой разницы между распространенностью врожденных пороков между детьми, матери которых принимали эфавиренз в I и II–III триместрах беременности, выявлено не было (соотношение распространенности составило 1,27; 95% ДИ 0,50–3,20; $p = 0,301$). Распространенность пороков не различалась у детей, матери которых принимали триметоприм/сульфаметоксазол (2/63, 3,2 %) или не принимали данный препарат (4/121, 3,3 %) (соотношение распространенности 0,96; 95% ДИ 0,18–5,10; $p = 0,664$). Распространенность врожденных пороков также не различалась у детей, матери которых принимали эфавиренз весь I триместр (4/131, 3,1 %) или только часть I триместра (2/53, 3,8 %) (соотношение распространенности 0,81; 95% ДИ 0,15–4,29; $p = 0,556$). В табл. 3 представлены врожденные пороки по органам и системам органов у детей, матери которых принимали эфавиренз, согласно классификации врожденных пороков регистра «Антиретровирусная терапия во время беременности».⁹

Женщины, которые забеременели на фоне приема АРТ на основе невирапина ($n = 33$)

Из этой группы у одной женщины были близнецы и еще у одной — самопроизвольный аборт. Врожденный порок (пупочная грыжа) был у одного из 33 новорожденных, распространенность составила 3 % (95% ДИ 0,1–15,8 %). Не было выявлено значимой разницы в распространенности врожденных пороков у детей, матери которых забеременели на фоне приема эфавиренза и невирапина (соотношение распространенности составило 1,08; 95% ДИ 0,13–8,65; $p = 0,690$).

В табл. 1 показаны различия в исходе беременности у женщин, которые начали АРТ на фоне эфавиренза во время беременности, которые забеременели на фоне АРТ на основе эфавиренза и которые забеременели на фоне АРТ на основе невирапина.

Обсуждение

В настоящее время это самое крупное исследование по изучению влияния АРТ на основе эфавиренза во время беременности. Все женщины были включены в него проспективно, и большинство прошли исследование до

Таблица 3. Распределение врожденных пороков у детей по системам органов, согласно классификации международного регистра, а также по приему их матерями эфавиренза в I или II–III триместре беременности за период с 1 января 2006 г. по 31 декабря 2008 г. (с разрешения регистра «Антиретровирусная терапия во время беременности»)

Показатель	Прием эфавиренза в I триместре	Прием эфавиренза во II–III триместре
Общее количество беременных	220	744
Самопроизвольный аборт	17	89
Выбывшие из исследования (%)	8 (3,9)	32 (4,9)
Беременности, завершившиеся родами	195	623
Близнецы	5	16
Искусственные аборты/внематочная беременность	5 ^а	0
Самопроизвольные аборты	6 ^б	6
Мертворождение	4 ^с	10
Рожденные живыми	184	623
Врожденные пороки	6	16
Пороки нервной системы	0	1
Пороки лица и шеи	1	1
Расщелина верхней губы или нёба	0	0
Пороки сердечно-сосудистой системы	0	1
Пороки дыхательной системы	0	0
Пороки костно-мышечной системы	0	2
Пороки кожи и ее придатков	0	1
Отсутствие конечностей/дополнительные конечности (пальцы)	2	7
Пороки ЖКТ	1	4
Пороки почек и мочевых путей	0	0
Пороки половых органов	0	0
Хромосомные аномалии	1	0
Специфические синдромы	1	0

При подсчетах для каждой системы органов учитывали новорожденных с наличием хотя бы одного порока в данной системе. Для каждого врожденного порока учитывали новорожденных с наличием хотя бы одного порока. Таким образом, подсчеты по разным органам и системам могут включать одного и того же новорожденного.

^а Трех женщинам по их просьбе был сделан аборт, и у двух была внематочная беременность.

^б Один случай самопроизвольного аборта включал близнецов.

^с В одном случае мертворождения произошла внутриутробная гибель близнецов. Остальные близнецы родились живыми.

конца. Прежде опубликованные когортные исследования приема эфавиренза во II–III триместре беременности включали недостаточное количество участниц для оценки двукратного увеличения общего риска появления врожденных пороков у детей.^{9,11,13} Мы заметили, что в этой группе распространенность врожденных пороков составила 2,6 %, что соответствует опубликованному диапазону 1,4–3,5 % распространенности врожденных пороков при приеме матерями других классов антиретровирусных препаратов во всем мире.^{9–11,13} В нашем исследовании связь наблюдаемых врожденных пороков с приемом эфавиренза не была доказана, а в случае новорожденного с арахноидальной кистой такой связи не было. Самым частым пороком была постаксиальная полидактилия, которая сама по себе довольно часто встречается в ЮАР, ее распространенность составила 15,49 случая на 1000 рожденных живыми детьми.¹⁹ Распространенность врожденных пороков в ЮАР, по оценке Департамента здравоохранения, варьирует от 2,5 до 8 %.²⁰

Некоторые протоколы АРТ в первую очередь рекомендуют невирапин, а не эфавиренз после I триместра беременности, даже если женщина принимает противотуберкулезные препараты или число лимфоцитов CD4 превышает 250/мкл.^{7,21,22}

Такие рекомендации дают ввиду нехватки данных о безопасности применения эфавиренза во II и III триместрах беременности и возможном риске врожденных пороков при последующей беременности в случае продолжения приема эфавиренза после родов. В нашем центре предпочитают эфавиренз, чтобы избежать последствий нежелательного лекарственного взаимодействия между невирапином и рифампицином у женщин, принимающих противотуберкулезную терапию.²³ При очень низком числе лимфоцитов CD4 невирапин менее эффективен, чем эфавиренз.²⁴ Кроме того, невирапин более гепатотоксичен, особенно у женщин с числом лимфоцитов CD4 > 250/мкл.²⁵ Полученные результаты применения эфавиренза у этой группы населения обнадеживают и требуют пересмотра существующих рекомендаций, отдающих предпочтение невирапину, начиная со II триместра беременности.

Статистически значимых различий в распространенности врожденных пороков у детей, матери которых применяли АРТ на основе эфавиренза в I и во II–III триместрах беременности, выявлено не было. В данной группе не было случаев рождения детей с анофтальмией, пороками развития нервной системы или синдромом Денди—Уокера после приема матерями эфавиренза в I триместре беременности. Хотя не обнаружено каких-либо характерных пороков развития, количество детей, матери которых принимали эфавиренз, не позволяет сделать однозначного вывода о безопасности или тератогенности данного препарата. Более того, внушают беспокойство выявленные расщепление твердого нёба и агенезия крестца у одного новорожденного, поскольку эти пороки могут происходить в результате тератогенного действия, что соответствует экспериментальным данным в опыте с эфавирензом на яванских макаках.

Несмотря на небольшое количество участников исследования, можно сделать вывод о необходимости пересмотреть целесообразность замены эфавиренза на другой препарат в I триместре беременности. Данная

замена не оказывала значимого влияния на распространенность врожденных пороков в этой группе, хотя наше исследование не было специально нацелено на определение этой разницы. Эфавиренз имеет длительный период полувыведения и может определяться в плазме через 8 нед. после отмены препарата.²⁶

Большинство женщин (95 %) обратились на 6-й неделе беременности или позже, что предполагало прием эфавиренза в течение по крайней мере 11 дней эмбрионального периода внутриутробного развития, т. е. в критический период органогенеза.

Замена схемы АРТ во время или после эмбрионального периода не может предотвратить риск врожденных пороков, но может помешать добиться супрессии вируса к дате родов, что и наблюдалось в данной группе.

Распространенность пороков развития нервной системы в Великобритании составляет 1,4 случая на 1000 новорожденных,²⁷ а в некоторых регионах ЮАР достигает 3,55 случая на 1000 новорожденных.^{19,28} В наших условиях потребовалось бы обследование более 3000 детей, матери которых принимали АРТ на основе эфавиренза в I триместре беременности, чтобы установить удвоенные частоты пороков развития нервной системы.

Маловероятно, чтобы какой-либо один центр смог накопить достаточное число наблюдений за детьми, матери которых принимали эфавиренз, для оценки риска тератогенного эффекта данного препарата. Поэтому большую роль в изучении этого вопроса играют международные регистры, в которые заносятся сведения о женщинах, забеременевших на фоне АРТ.⁹

В развивающихся странах, где возможности АРТ ограничены и велико число больных туберкулезом,²⁹ эфавиренз, вероятно, остается важным компонентом АРТ. Также следует учитывать тот факт, что в антенатальные клиники будет обращаться большее число женщин, забеременевших на фоне лечения. В связи с этим необходимо формирование южноафриканского национального регистра.³⁰

Наше исследование имело некоторые ограничения. Во-первых, было довольно мало детей, матери которых принимали эфавиренз, и продолжительность наблюдения ограничивалась 6 нед. Обычно у нас в клинике детей обследуют на предмет врожденных пороков только при рождении. Лишь около 25 % врожденных пороков, проявляющихся в течение первых 5 лет жизни, можно диагностировать при рождении.¹⁹ Следовательно, необходима оценка отдаленных результатов внутриутробного воздействия АРТ на детей.

Во-вторых, у нас не было контрольной группы для женщин, начавших прием эфавиренза, а сравнительная группа женщин, забеременевших на фоне АРТ на основе невирапина, была небольшой.

В-третьих, не оценивался риск врожденных пороков в результате приема препаратов, которые применялись в комбинации с эфавирензом. Однако международные данные по распространенности врожденных пороков у детей, матери которых принимали зидовудин, ставудин, ламивудин и лопинавир/ритонавир, обнадеживают.⁹

Заключение

Наше исследование представляет обнадеживающие результаты по применению эфавиренза во II и III триместрах беременности, которые будут способствовать расширению терапевтических возможностей для беременных, особенно тех из них, для кого рекомендуемые в настоящее время препараты могут быть недоступны. Вывод о безопасности приема эфавиренза в I триместре беременности на основе данного исследования сделать невозможно ввиду малого числа наблюдений. Мы подчеркиваем важность организации национальных программ наблюдения за женщинами, принимающими АРТ на основе эфавиренза, в развивающихся странах.

Благодарности

Мы благодарим д-ра Gary Maartens, профессора кафедры клинической фармакологии медицинского факультета Кейптаунского университета, за рецензированные рукописи.

Также мы выражаем благодарность д-рам Kim Harper, Felicity Goosen и Verena Linder из отделения педиатрии и детского здоровья больничного комплекса в Ист-Лондоне; д-ру Rhoda Bennett, проф. G.J. Homeug и д-ру Eyob Nigussie из медицинского перинатального центра больничного комплекса в Ист-Лондоне.

Мы благодарим Nomvula Kwadjo, д-ра PM Shweni и Ndileka Gaba из организации «Спасение матерей, спасение детей» Департамента здравоохранения Восточного Кейпа; Jennifer Dohrn, Celestine Lottering, Nkosazana Jwacu, Thozeka Mancotywa, Thozama Nkuntayi, Zoe Sofute, Yoliswa Hlati, Ndileka Ngcelwane, Freda Pauls, Bongwiwe Luzipho и Lungiswa Kahlane из программы «Матери матерям» в больнице Fregre. Мы выражаем искреннюю благодарность всем ВИЧ-инфицированным беременным, согласившимся принять участие в исследовании.

Благодарим всех принявших участие в создании настоящего документа: Е.В., К.М. и R.N., подготовивших черновой вариант статьи; Е.В., выполнившего статистический анализ; всех принявших участие в обработке результатов. Всех, включая В.Мг., S.C. и В.Ма, представивших комментарии ко всем черновикам и утвердивших окончательную версию.

Представлено в качестве постера: врожденные пороки и исход беременности у 748 женщин, принимавших эфавиренз в составе пожизненной АРТ (проспективное исследование).

Исследование было представлено на 4-й Южноафриканской конференции по ВИЧ и СПИДу с 31 марта по 3 апреля 2009 г. (Дурбан, ЮАР), реферат PSI-36.

Литература

- Lewis-Hall FC. Important Change in SUSTIVA (efavirenz) Package Insert – Change from Category C to D. Bristol-Myers Squibb Company; 2005. <http://www.fda.gov>. (Accessed 19 April 2008)
- Bristol-Myers Squibb Company. Efavirenz drug label; 2008.
- De Santis M, Carducci B, De Santis L, Cavaliere AF, Straface G. Periconceptional exposure to efavirenz and neural tube defects. *Arch Intern Med* 2002; 162:355.
- Fundaro C, Genovese O, Rendeli C, Tamburrini E, Salvaggio E. Myelomeningocele in a child with intrauterine exposure to efavirenz. *AIDS* 2002; 16:299–300.
- Saitoh A, Hull AD, Franklin P, Spector SA. Myelomeningocele in an infant with intrauterine exposure to efavirenz. *J Perinatol* 2005; 25:555–556.
- Urban MF, Chersich MF. Dandy-Walker variant in an infant prenatally exposed to antiretroviral medication. *S Afr Med J* 2007; 97:947–948.
- Public Health Service Task Force. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. Supplement: Safety and Toxicity of Individual Antiretroviral Agents in Pregnancy; 29 April 2009. <http://AIDSinfo.nih.gov>. (Accessed 6 July 2009)
- Reiff-Eldridge R, Heffner CR, Ephross SA, Tennis PS, White AJ, Andrews EB. Monitoring pregnancy outcomes after prenatal drug exposure through prospective pregnancy registries: a pharmaceutical company commitment. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:159–163.
- Antiretroviral Pregnancy Registry Steering Committee. Antiretroviral Pregnancy Registry International Interim Report for 1 January 1989 through 31 January 2009. Wilmington, NC: Registry Coordinating Center; 2008. www.APRRegistry.com. (Accessed 31 July 2009)
- Patel D, Thorne C, Fiore S, Newell ML. Does highly active antiretroviral therapy increase the risk of congenital abnormalities in HIV-infected women? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40:116–118.
- Watts HD, Li D, Handelsman E, Tilson H, Paul M, Foca M, et al. Assessment of birth defects according to maternal therapy among infants in the women and infants transmission study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44:299–305.
- Bussmann H, Wester WC, Wester CN, Lekoko B, Okezie O, Thomas AM, et al. Pregnancy rates and birth outcomes among women on efavirenz-containing highly active antiretroviral therapy in Botswana. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 45:269–273.
- Townsend CL, Willey BA, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and congenital abnormalities in infants born to HIV-infected women in the UK and Ireland, 1990–2007. *AIDS* 2009; 23:519–524.
- Nacheha JB, Hislop M, Dowdy DW, Gallant JE, Chaisson RE, Regensberg L, et al. Efavirenz versus nevirapine-based initial treatment of HIV infection: clinical and virological outcomes in Southern African adults. *AIDS* 2008; 22:2117–2125.
- National Department of Health. National HIV and Syphilis Antenatal Sero-prevalence Survey in South Africa 2007. Pretoria, South Africa: Directorate: Health Systems Research, Research Coordination and Epidemiology, Department of Health; 2008. <http://www.doh.gov.za>. (Accessed 20 April 2008)
- De Lazzari E, Leon A, Arnias JA, Martinez E, Knobel H, Negro E, et al. Risk of hepatotoxicity in virologically suppressed HIV patients switching to nevirapine according to gender and CD4 count. 46th ICAAC, San Francisco, CA. September 27–30, 2006. Abstract H-1064.
- Watts HD, Covington DL, Beckerman K, Garcia P, Scheuerle A, Dominguez K, et al. Assessing the risk of birth defects associated with antiretroviral exposure during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:985–992.
- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The management of early pregnancy loss. Guideline No. 25. London: RCOG; 2006.
- Venter PA, Christianson AL, Gericke GS, Hutamo CM, Makhura MP. Congenital anomalies in rural black South African neonates: a silent epidemic? *S Afr Med J* 1995; 85:15–20.
- Human Genetics Policy Guidelines for the Management and Prevention of Genetic Disorders, Birth Defects and Disabilities. Pretoria,

- South Africa: Sub-Directorate, Human Genetics, National Department of Health; 2008. www.doh.gov.za. (Accessed 29 December 2008)
21. National Department of Health. National Antiretroviral Treatment Guidelines. 1st ed. Pretoria, South Africa: Jacana; 2004.
 22. World Health Organization. Antiretroviral drugs for treating pregnant women and preventing HIV infection in infants: towards universal access. Geneva, Switzerland: WHO; 2006.
 23. Back D, Gibbons S, Khoo S. Pharmacokinetic Drug Interactions with Nevirapine. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 34 (Suppl 1):S08–S14.
 24. van Leth F, Andrews S, Grinsztejn B, Wilkins E, Lazanas MK, Lange JMA, et al. The effect of baseline CD4 cell count and HIV-1 viral load on the efficacy and safety of nevirapine or efavirenz-based first-line HAART. *AIDS* 2005; 19:463–471.
 25. Baylor MS, Johann-Liang R. Hepatotoxicity associated with nevirapine use. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 35:538–539.
 26. Tariq Sadiq S, Fredericks S, Khoo SH, Rice P, Holt DW. Efavirenz detectable in plasma 8 weeks after stopping therapy and subsequent development of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-associated resistance. *AIDS* 2005; 19:1716–1717.
 27. Rankin J, Pattenden S, Abramsky L, Boyd P, Jordan H, Stone D, et al. Prevalence of congenital anomalies in five British regions, 1991–99. *Arch Dis Child Fetal Neonatol Ed* 2005; 90:F374–F379.
 28. Robertson H-L, Steyn NP, Venter PA, Christianson AL. Neural tube defects and folic acid: a South African perspective. *S Afr Med J* 1997; 87:928–931.
 29. Lawn SD, Myer L, Bekker LG, Wood R. Burden of tuberculosis in an antiretroviral treatment programme in sub-Saharan Africa: impact on treatment outcomes and implications for tuberculosis control. *AIDS* 2006; 20:1605–1612.
 30. Rossouw T. Quantifying antiretroviral risk in pregnancy. *S Afr Med J* 2007; 97:1014–1016.

Влияние комбинированной антиретровирусной терапии на общую смертность ВИЧ-инфицированных пациентов (реферат)

Объединенная исследовательская группа HIV-CAUSAL Collaboration

Цель. Оценить влияние комбинированной антиретровирусной терапии (кАРТ) на смертность ВИЧ-инфицированных пациентов с поправкой на зависящие от времени факторы, связанные с показаниями к лечению.

Методы. Проанализированы объединенные результаты 12 проспективных когортных исследований, проводившихся в Европе и США (HIV-CAUSAL Collaboration), которые включали 62 760 ВИЧ-инфицированных пациентов, ранее не получавших лечения, с периодом наблюдения в среднем в течение 3,3 года. Для коррекции факторов, связанных с показаниями к лечению, использованы маргинальные структурные модели с обратными весовыми коэффициентами.

Результаты. За время наблюдения умерло 2039 пациентов. Отношение рисков смерти для пациентов, начавших кАРТ, в сравнении с не начавшими составило 0,48 (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 0,41–0,57). При анализе, стратифицированном по исходному числу лимфоцитов CD4, отношение рисков составило 0,29 (95% ДИ 0,22–0,37) при числе лимфоцитов CD4 < 100/мкл, 0,33 (95% ДИ 0,25–0,44) при их числе от 100 до 200/мкл, 0,38 (95% ДИ 0,28–0,52) при числе от 200 до 350/мкл, 0,55 (95% ДИ 0,41–0,74) при числе от 350 до 500/мкл и 0,77 (95% ДИ 0,58–1,01) при числе лимфоцитов CD4 500/мкл и более. Отношение рисков зависело от времени, прошедшего от начала кАРТ, и составило от 0,57 (95% ДИ 0,49–0,67) в случаях, когда от начала терапии прошло менее 1 года, до 0,21 (95% ДИ 0,14–0,31) в случаях, когда от начала терапии прошло 5 лет и более (p для тренда < 0,001).

Выводы. Мы установили, что кАРТ снижала смертность ВИЧ-инфицированных пациентов в 2 раза. Снижение смертности было выше у пациентов с худшим прогнозом на момент начала наблюдения.

AIDS 2010, **24**:123–137

Автор, ответственный за переписку: Miguel A. Hernan, Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health, 677 Huntington Avenue, Boston, MA 02115, USA.

Tel: +1 617 432 0101; fax: +1 617 432 1884; e-mail: miguel_hernan@post.harvard.edu.

Получено 3 июня 2009 г.; получено с поправками 24 августа 2009 г.; принято в печать 25 августа 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e3283324283

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS

Том 3 • №1 • Январь – март 2010

СООБЩЕНИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ

-
- 75 **Случай рабдомиолиза на фоне лечения ралтегравиром**
Luca Dori, Anna R. Buonomini, Magda Viscione, Loredana Sarmati, Massimo Andreoni
- 78 **Количественное определение уровня РНК ВИЧ-1 в капле высушенной крови**
Asgeir Johannessen

Случай рабдомиолиза на фоне лечения ралтегравиром

Luca Dori, Anna R. Buonomini, Magda Viscione, Loredana Sarmati, Massimo Andreoni

AIDS 2010, **24**:473–475

Ралтегравир — первый представитель нового класса антиретровирусных препаратов, обладающих способностью специфически ингибировать интегразу ВИЧ-1.¹

Применение ралтегравира служит идеальной альтернативой для пациентов, у которых стандартная комбинированная терапия не приводит к эффективному снижению уровня РНК ВИЧ-1.^{2,3}

Среди отклонений лабораторных показателей от нормы, отмеченных при лечении ралтегравиром, было временное повышение активности сывороточной креатинфосфокиназы и повышение уровня сывороточного креатинина.⁴

Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) и производитель рекомендуют с осторожностью применять ралтегравир у пациентов с повышенным риском развития заболевания мышц.⁵

Мы описываем случай рабдомиолиза на фоне высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), включающей прием ралтегравира, у 69-летнего пациента.

В истории болезни присутствует хроническая диарея и кандидоз ротовой полости. В момент постановки диагноза ВИЧ-инфекции в 2007 г. число лимфоцитов CD4 составляло 174/мкл (8 %), концентрация РНК ВИЧ — 8000 копий/мл.

Кроме того, из-за высокого АД, которое не удавалось снизить гипотензивными средствами, пациент характеризовался высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний (20 % по Фремингемской шкале).

В мае 2007 г. больной начал ВААРТ по схеме: эфавиренз (600 мг) и тенофовир дизопроксил/эмтрицитабин

(245/200 мг) 1 раз в день. Несмотря на неизменный генотип ВИЧ и строгое соблюдение режима ВААРТ (определялось с помощью специального опросника), концентрация РНК ВИЧ превышала уровень 50 копий/мл по окончании 6 мес. лечения. Вследствие этого в январе 2008 г. нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы был заменен на ингибитор протеазы (лопинавир/ритонавир).

В июне 2008 г. из-за того, что подавления вирусемии не наблюдалось, к схеме терапии добавили зидовудин по 300 мг 2 раза в день.

При этом из-за появления гиперхолестеринемии у пациента вырос риск развития сердечно-сосудистых заболеваний (> 30 %), поэтому ему был назначен правастатин в дозе 20 мг в день, что снизило уровень липидов в сыворотке крови.

Однако даже при усиленной схеме ВААРТ у пациента наблюдался недостаточный ответ на лечение: вирусемия сохранялась, а число лимфоцитов CD4 постоянно превышало 300/мкл.

16 сентября 2008 г. в связи с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и недостаточной эффективностью последней схемы ВААРТ было решено прекратить прием зидовудина и добавить ралтегравир по 400 мг 2 раза в день. Постепенно сердечно-сосудистый риск снизился до 16 % при условии продолжения приема гиполипидемических средств и начала физических упражнений по мере нормализации АД.

Изначально приему ралтегравира сопутствовал прием сертралина 25 мг 1 раз в день и правастатина 20 мг 1 раз в день.

Clinic of Infectious Diseases, University of Tor Vergata, Rome, Italy.

Автор, ответственный за переписку: Loredana Sarmati, MD, Clinical Infectious Diseases, Tor Vergata University, V. Montpellier, 1, 00133, Rome, Italy.

Tel: +39 0672596874; fax: +39 0672596873; e-mail: sarmati@med.uniroma2.it

Получено 17 октября 2009 г.; принято в печать 30 октября 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e328334cc4a

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: FDA — Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США; ВААРТ — высокоактивная антиретровирусная терапия.

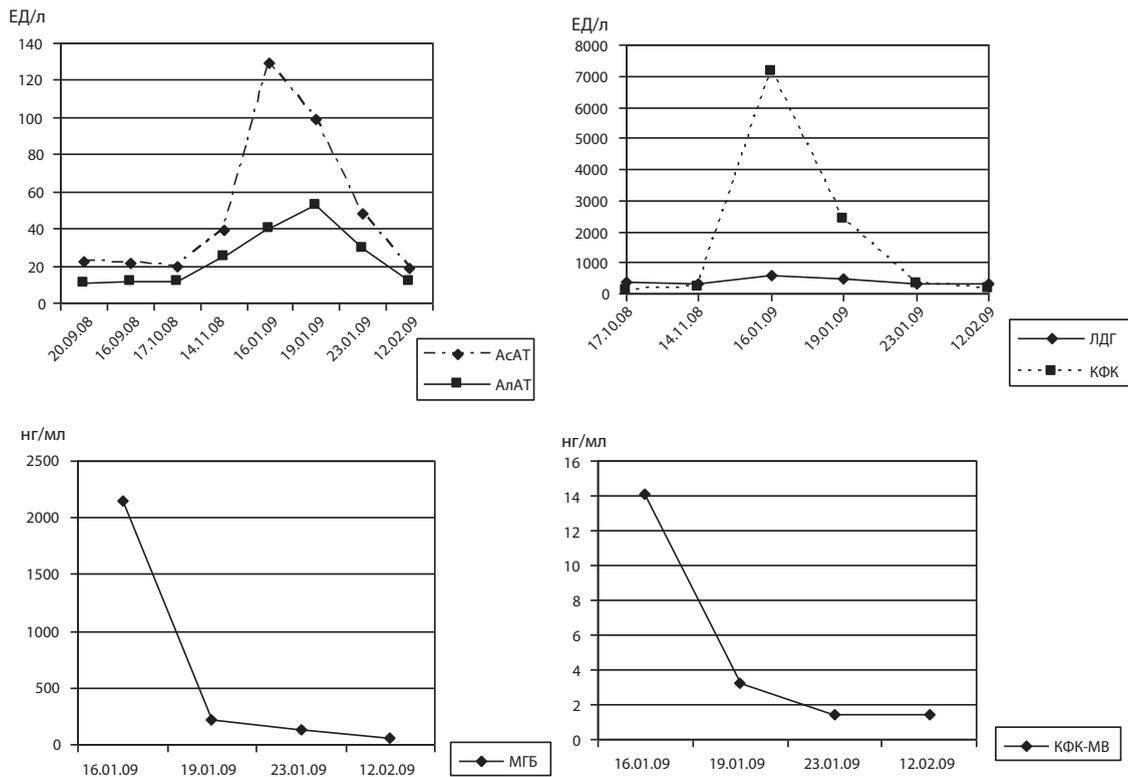


Рис. 1. Изменение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), креатинфосфокиназы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), миоглобина (МГБ) и МВ-фракции КФК (КФК-МВ)

Через 2 мес. у пациента появилась мышечная боль и слабость, он больше не мог выполнять физические упражнения. В дальнейшем отмечались прогрессирующее усиление боли в мышцах, слабость и затрудненность передвижения. 16 января 2009 г. лабораторные анализы показали повышение активности креатинфосфокиназы до 6237 ЕД/л (норма 10–190 ЕД/л), аланинаминотрансферазы до 116 ЕД/л (норма 10–38 ЕД/л), аспартатаминотрансферазы до 53 ЕД/л (норма 10–41 ЕД/л), лактатдегидрогеназы до 556 ЕД/л (норма 240–480 ЕД/л), миоглобина 223,02 нг/мл (максимальное значение 110 нг/мл) и нормальный уровень тропонина I (0,03 нг/мл) и МВ-фракции креатинфосфокиназы (3,24 нг/мл) (рис. 1). Остальные лабораторные показатели были в пределах нормы.

В тот же день пациент прекратил прием ралтегравира, но продолжал принимать лопинавир/ритонавир, а также тенофовира дизопроксил/эмтрицитабин и правастатин.

Через 2 дня после прекращения приема ралтегравира уровень креатинфосфокиназы и другие повышенные показатели, мышечная боль и слабость уменьшились.

В течение месяца уровень креатинфосфокиназы, биохимические показатели функции печени и уровень миоглобина вернулись к норме, пациент постепенно восстановил силы, мышечная боль прошла и стало возможным вернуться к физическим упражнениям.

Это второй известный случай развития рабдомиолиза в ответ на прием ралтегравира; о первом сообщили Zembower et al. в 2008 г.⁶

Переносимость, фармакокинетический профиль и противовирусная активность ралтегравира *in vivo* были установлены в ходе многочисленных исследований. Легкие и средней тяжести клинические нежелательные явления, связанные с приемом препарата, включали желудочно-кишечные нарушения, чувство недомогания, слабость, озноб,⁷⁻⁹ а также тошноту, диарею, головокружение и головную боль.¹⁰ Также наблюдались следующие отклонения лабораторных показателей от нормы: снижение абсолютного числа нейтрофилов, повышение активности аминотрансфераз и панкреатических ферментов.¹ У пациентов, принимавших ралтегравир, отмечены случаи повышения активности креатинфосфокиназы, миопатия и рабдомиолиз, однако непосредственная связь между приемом ралтегравира и перечисленными симптомами не доказана.⁵

Хотя FDA и производитель советуют с осторожностью назначать ралтегравир пациентам с повышенным риском мышечных заболеваний, у нашего пациента на момент начала приема ралтегравира таких факторов риска обнаружено не было. Когда пациент начал принимать правастатин, еще один препарат, способный вызвать рабдомиолиз,^{11,12} каких-либо клинических проблем или отклонений в лабораторных анализах не возникло, но спустя 2 мес. лечения ралтегравиrom у него появилась острая и прогрессирующая мышечная боль и слабость. Эти проявления исчезли через несколько дней после отмены ралтегравира.

Учитывая сходные данные других авторов, мы полагаем, что лечащие врачи должны иметь в виду риск возникновения описанного осложнения у пациентов, принимающих ралтегравир, даже при отсутствии явных факторов риска и должны внимательно следить за уровнем креатинфосфокиназы.⁶

Для изучения эпидемиологии рабдомиолиза, связанного с лечением ралтегравиром, необходимы дальнейшие исследования.

Литература

1. Evering TH, Markowitz M. Raltegravir: an integrase inhibitor for HIV-1. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17:413–422.
2. Steigbigel RT, Cooper DA, Kumar PN, Eron JE, Schechter M, Markowitz M, et al. Raltegravir with optimized background therapy for resistant HIV-1 infection. *NEJM* 2008; 359:339–354.
3. Croxtall JD, Keam SJ. Raltegravir: a review of its use in the management of HIV infection in treatment-experienced patients. *Drugs* 2009; 69:1059–1075.
4. Connelly S. Raltegravir NDA 22-145. U.S. Food and Drug Administration Division of Antiviral Products Antiviral Drugs Advisory Committee Meeting; September 5, 2007: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/AC/07/slides/2007-4314s1-06-connelly.ppt>256, 1, Raltegravir NDA 22-145.
5. Isentress [package insert]. Whitehouse Station, New Jersey: Merck & Co., Inc.; 2007.
6. Zembower TR, Gerzenshtein L, Coleman K, Palella Jr FJ. Severe rhabdomyolysis associated with raltegravir use. *AIDS* 2008; 22:1382–1384.
7. Steigbigel R, Cooper D, Eron J, Gatell J, Kumar P, Rockstroh J, et al. and BENCHMRK-1 and 2 Study Groups. 96-week results from BENCHMRK 1 and 2. Phase III studies of raltegravir in patients failing ART with triple-class-resistant HIV. 16th CRI 2009. abstract 571B.
8. Podsadecki T, Tian M, Fredrick L, Lawal A, Bernstein B. Lopinavir/ritonavir (LPV/r) combined with raltegravir (RAL) provides mode rapid viral decline than LPV/r combined with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine (TDF/FTC) in treatment-naive HIV-1-infected subjects. 15th British HIV Association (BHIVA) Meeting 2009. Poster 31.
9. Markowitz M, Morales-Ramirez JO, Nguyen BY, Gotuzzo E, Mendo F, Ratanasuwana W, et al. Antiretroviral activity, pharmacokinetics, and tolerability of MK-0518, a novel inhibitor of HIV-1 integrase, dosed as monotherapy for 10 days in treatment-naive HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 43:509–515.
10. Cocohoba J, Dong BJ. Raltegravir: the first HIV integrase inhibitor. *Clin Ther* 2008; 30:1747–1765.
11. Perault MC, Ladouch-Bures L, Dejean C, Delaunay C, Pouget Abadie JF, Vandel B, et al. Rhabdomyolysis related to ingestion of pravastatin. *Therapie* 1993; 48:487.
12. Mikhail N, Iskander E, Cope D. Rhabdomyolysis in an HIV-infected patient on antiretroviral therapy precipitated by high-dose pravastatin. *Curr Drug Saf* 2009; 4:121–122.

Количественное определение уровня РНК ВИЧ-1 в капле высушенной крови

Asgeir Johannessen

AIDS 2010, **24**:475–476

Недавно Lofgren et al.¹ сообщили об опыте количественного определения РНК ВИЧ-1 в высушенной капле крови (ВКК) в клинических условиях в Танзании. Несмотря на то что диагностика с использованием ВКК оказалась высокочувствительной и специфичной для выявления ВИЧ-инфекции у детей, результаты, полученные с помощью ВКК, были менее специфичны для определения терапевтической неудачи у пациентов, получавших антиретровирусную терапию (АРТ). В последней группе по ВКК был получен ряд ложноположительных результатов, особенно у пациентов с низким уровнем вирусной нагрузки ($< 3 \log_{10}$ копий/мл). Подобная проблема отмечалась и другими исследователями при применении метода ВКК для измерения вирусной нагрузки.^{2,3}

ВКК представляет собой цельную кровь, следовательно, при амплификации свой вклад может вносить и провирусная ДНК из мононуклеаров крови. Большинство коммерчески доступных тестов для определения вирусной нагрузки основано на ПЦР с обратной транскрипцией, в ходе которой происходит амплификация всей нуклеиновой кислоты, содержащейся в образце. Поэтому положительный результат, полученный с использованием ВКК, а не бесклеточной плазмы, возможен в результате амплификации и РНК, и ДНК, или и того и другого. Однако наличие ДНК ВИЧ-1 в крови не означает терапевтическую неудачу, поэтому смешанная амплификация РНК и ДНК значительно затрудняет интерпретацию положительного результата.

Это затруднение можно преодолеть с помощью теста, в котором амплификация основана на последовательности нуклеиновых кислот (АПНК), например коммерчески доступный тест NucliSENS EasyQ HIV-1 assay (BioMérieux Inc., Франция). Метод АПНК представляет собой изотермическую амплификацию (41 °С), в ходе которой с помощью T7 РНК-полимеразы специфически амплифицируется одноцепочечная РНК. В отсутствие термической

денатурации двухцепочечная ДНК не участвует в амплификации.^{4,5} Таким образом, технология АПНК особенно подходит для количественного определения РНК ВИЧ-1 в случае использования ВКК, а не бесклеточной плазмы.

Результаты недавних попыток количественного определения вирусной нагрузки с помощью АПНК показали перспективность этого подхода.

Garrido et al. с помощью теста NucliSENS EasyQ HIV-1 сравнили уровень ВИЧ-1 РНК в плазме и ВКК. В целом прослеживалась строгая корреляция между вирусной нагрузкой, определенной в плазме и ВКК ($R^2 = 0,87$).⁶ Только в 2 из 97 образцов результаты, полученные в случае ВКК, превышали таковые для плазмы более чем на $0,5 \log_{10}$ копий/мл.⁶ Более того, в наших собственных исследованиях в отдаленных районах Танзании мы получили такой же хороший результат при использовании ВКК-образцов, собранных в полевых условиях. Мы наблюдали сильную корреляцию между значениями вирусной нагрузки, полученными при анализе плазмы и ВКК ($R^2 = 0,75$). Только в 2 из 33 образцов с неопределяемой вирусной нагрузкой РНК ВИЧ-1 была обнаружена при тестировании ВКК методом NucliSENS EasyQ HIV-1.⁷ Хотя специфичность в обоих исследованиях оказалась высокой, из-за небольшого объема крови в высушенной капле чувствительность у пациентов с низким уровнем вирусной нагрузки была снижена ($< 3,5 \log_{10}$ копий/мл).

Существует острая необходимость разработки стратегии выявления пациентов, нуждающихся в АРТ второй линии в странах с ограниченными ресурсами. Клинические и иммунологические критерии, рекомендованные ВОЗ, обладают недостаточной чувствительностью и специфичностью для определения вирусологической неудачи.⁸ С другой стороны, измерение вирусной нагрузки и тестирование на генотипическую устойчивость, рекомендованные в промышленно развитых странах, редко

Department of Infectious Diseases, Oslo University Hospital, Ullevål, Oslo, Norway.

Автор, ответственный за переписку: Dr Asgeir Johannessen, Department of Infectious Diseases, Oslo University Hospital, Ullevål, 0407 Oslo, Norway.

Tel: +47 97983264; fax: +47 22119181; e-mail: asgeir.johannessen@medisin.uio.no

Получено 10 ноября 2009 г.; принято в печать 8 декабря 2009 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e3283365383

© 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: АПНК — амплификация, основанная на последовательности нуклеиновых кислот; АРТ — антиретровирусная терапия; ВКК — высушенная капля крови; ПЦР — полимеразная цепная реакция.

доступны из-за высокой стоимости и жестких требований, предъявляемых к хранению и пересылке плазмы.

ВКК могут храниться и пересылаться при температуре окружающей среды и могут служить удобной альтернативой методам, в которых применяется плазма крови, при работе в отдаленных районах с ограниченными ресурсами. Lofgren et al.¹ продемонстрировали возможность использования ВКК для мониторинга вирусной нагрузки в двух сельских клиниках Танзании. Пониженная чувствительность ВКК в случае низкой вирусной нагрузки вполне допустима, т. к. схема лечения антиретровирусными препаратами первой линии может быть эффективна в течение нескольких лет, даже при наличии слабой вiremии.⁹ Наоборот, большое число ложноположительных результатов, как сообщают Lofgren et al.,¹ возможно, является большой проблемой, т. к. может привести к преждевременному переходу на более дорогую и сложную АРТ второй линии у многих пациентов с адекватной супрессией вируса. Таким образом, чтобы избежать гипердиагностики неудачного лечения, необходимо для достоверного определения уровня РНК ВИЧ-1 использовать ВКК в комбинации с АПНК, а не с ПЦР с обратной транскрипцией.

Литература

1. Lofgren SM, Morrissey AB, Chevallier CC, Malabeja AI, Edmonds S, Amos B, et al. Evaluation of a dried blood spot HIV-1 RNA program for early infant diagnosis and viral load monitoring at rural and remote healthcare facilities. *AIDS* 2009; 23:2459–2466.
2. Waters L, Kambugu A, Tibenderana H, Meya D, John L, Mandalia S, et al. Evaluation of filter paper transfer of whole-blood and plasma samples for quantifying HIV RNA in subjects on antiretroviral therapy in Uganda. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46:590–593.
3. Monleau M, Montavon C, Laurent C, Segondy M, Montes B, Delaporte E, et al. Evaluation of different RNA extraction methods and storage conditions of dried plasma or blood spots for human immunodeficiency virus type 1 RNA quantification and PCR amplification for drug resistance testing. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1107–1118.
4. Bruisten S, van Gemen B, Koppelman M, Rasch M, van Strijp D, Schukink R, et al. Detection of HIV-1 distribution in different blood fractions by two nucleic acid amplification assays. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993; 9:259–265.
5. van Gemen B, Wiel P, van Beuningen R, Sillekens P, Jurriaans S, Dries C, et al. The one-tube quantitative HIV-1 RNA NASBA: precision, accuracy, and application. *PCR Methods Appl* 1995; 4:S177–S184.
6. Garrido C, Zahonero N, Corral A, Arredondo M, Soriano V, de Mendoza C. Correlation between human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA measurements obtained with dried blood spots and those obtained with plasma by use of Nuclisens EasyQ HIV-1 and Abbott RealTime HIV load tests. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1031–1036.
7. Johannessen A, Garrido C, Zahonero N, Sandvik L, Naman E, Kivuyo SL, et al. Dried blood spots perform well in viral load monitoring of patients who receive antiretroviral treatment in rural Tanzania. *Clin Infect Dis* 2009; 49:976–981.
8. Mee P, Fielding KL, Charalambous S, Churchyard GJ, Grant AD. Evaluation of the WHO criteria for antiretroviral treatment failure among adults in South Africa. *AIDS* 2008; 22:1971–1977.
9. Deeks SG, Barbour JD, Grant RM, Martin JN. Duration and predictors of CD4 T-cell gains in patients who continue combination therapy despite detectable plasma viremia. *AIDS* 2002; 16:201–207.