

10. Prabakaran M., Ho H.T., Prabhu N., Velumani S., Szyport M., He F. et al. Development of epitope-blocking ELISA for universal detection of antibodies to human H5N1 influenza viruses. *PloS One*. 2009; 4(2): e4566.
11. He F., Prabakaran M., Tan Y., Indira K., Kumar S.R., Kwang J. Development of dual-function ELISA for effective antigen and antibody detection against H7 avian influenza virus. *BMC Microbiol*. 2013; 13: 219—27.
12. van Baalen C.A., Els L., Sprong R., van der Vries E., van Beek R., Osterhaus A.D. et al. Detection of nonhemagglutinating influenza A(H3) viruses by enzyme-linked immunosorbent assay in quantitative influenza virus culture. *J. Clin. Microbiol*. 2014; 52(5): 1672—7.
13. Davies H.W., Appleyard G., Cunnighan P., Pereira M.S. The use of continuous cell line for the isolation of influenza virus. *Bull. World Health Organ*. 1978; 56(6): 991—3.
14. Markwell M.A., Haas S.M., Bieber L.L., Tolbert N.E. Modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal. Biochem*. 1978; 87(1): 206—11.
15. Julkunen I., Pyhala R., Hovi T. Enzyme immunoassay, complement fixation and hemagglutination inhibition tests in the diagnosis of influenza A and B virus infections. Purified hemagglutinin in subtype-specific diagnosis. *J. Virol. Methods*. 1985; 10(1): 75—84.
16. Roganova I.V., Suzdal'tsev A.A. *Influenza: Monograph [Gripp: monografiya]*. Samara: As Gard; 2013. (in Russian)

Поступила 01.07.16  
Принята в печать 13.12.16

© ОЛЕЙНИК А.Ф., ФАЗЫЛОВ В.Х., 2017

УДК 616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064]-085.37.036.8

Олейник А.Ф., Фазылов В.Х.

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИЧ ДО НАЧАЛА АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА РАЗВИТИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ НЕЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ

ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 420012, г. Казань

**Введение.** У части пациентов с ВИЧ-инфекцией, получающих вирусологически эффективную антиретровирусную терапию (АРВТ), отсутствует прирост лимфоцитов CD4 на фоне лечения. Несмотря на длительное лечение, у пациентов сохраняется иммунодефицитное состояние. **Методы.** В обсервационном когортном ретро/проспективном исследовании мы изучали влияние длительности инфицирования ВИЧ до начала АРВТ на развитие иммунологической неэффективности терапии. **Результаты.** В группе из 140 ВИЧ-инфицированных пациентов установлено наличие обратной корреляционной зависимости умеренной силы между длительностью инфицирования ВИЧ и приростом лимфоцитов CD4 через 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ ( $r = -0,33, p < 0,01$ ;  $r = -0,3, p < 0,01$ ;  $r = -0,3, p < 0,01$ ;  $r = -0,29, p < 0,01$  соответственно). При старте АРВТ с уровня CD4 200—350 кл/мкл выявлены статистически значимые различия по уровню относительного количества лимфоцитов CD4 через 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ в подгруппах с длительностью инфицирования ВИЧ до начала терапии 1—8 лет и более 8 лет ( $p = 0,035$ ;  $p = 0,015$ ;  $p = 0,05$ ;  $p = 0,05$  соответственно). У пациентов, начавших АРВТ с уровня CD4 > 200 кл/мкл после 8 лет инфицирования ВИЧ, риск развития иммунологической неэффективности терапии в 4 раза выше по сравнению с пациентами с таким же уровнем CD4, но меньшим сроком инфицирования ВИЧ. **Выводы.** Чем меньше длительность инфицирования ВИЧ, тем выше прирост CD4-лимфоцитов. При старте АРВТ с уровня CD4 200—350 кл/мкл восстановление лимфоцитов CD4 происходит интенсивнее в группе с менее продолжительным периодом инфицирования ВИЧ. Установлено негативное влияние длительности инфицирования ВИЧ более 8 лет до начала АРВТ на развитие иммунологической неэффективности терапии в подгруппе со стартовым уровнем CD4 > 200 кл/мкл.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция; восстановление CD4; иммунологическая эффективность/неэффективность АРВТ; длительность инфицирования ВИЧ.

**Для цитирования:** Олейник А.Ф., Фазылов В.Х. Влияние длительности инфицирования ВИЧ до начала антиретровирусной терапии на развитие иммунологической неэффективности лечения. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62(3): 114-119.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-3-114-119>

Oleynik A.F., Fazylov V.Kh.

### THE INFLUENCE OF HIV INFECTION DURATION BEFORE ANTIRETROVIRAL THERAPY ON IMMUNOLOGICAL TREATMENT FAILURE

Kazan State Medical University, Kazan, 420012, Russian Federation

**Introduction.** Some patients with HIV infection receiving virologically effective antiretroviral therapy (ART) did not show any growth in CD4 cell count during treatment. Despite the long-term treatment of patients, immunodeficiency persisted.

**Methods.** In the observational cohort retro/prospective study we investigated the effect of the duration of HIV infection before starting the antiretroviral therapy on the development of immunological treatment failure.

**Results.** In a group of 140 HIV-infected patients a moderate inverse correlation was found between the duration of HIV infection and CD4 cell gain after 6 months, 1, 2 and 3 years of ART ( $r = -0.33, p < 0.01$ ;  $r = -0.3, p < 0.01$ ;  $r = -0.3, p < 0.01$ ;  $r = -0.29, p < 0.01$ , respectively). In the case of ART starting at CD4 count of 200-350 cells/mcl statistically significant differences were revealed in the levels of relative CD4 count at 6 months, 1, 2 and 3 years

**Для корреспонденции:** Олейник Альфия Фаридовна, аспирант кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», 420012, г. Казань. E-mail: aalfons@yandex.ru

of ART in sub-groups with durations of HIV infection prior to initiating therapy of 1-8 years and > 8 years ( $p = 0.035$ ;  $p = 0.015$ ;  $p = 0.05$ ;  $p = 0.05$ , respectively). In patients who started ART with CD4 levels > 200 cells/mcl after 8 years of HIV infection, the risk of immunological treatment failure is 4 times higher as compared to patients with the same CD4 level, but lesser duration of HIV infection.

**Conclusions.** The shorter the duration of HIV infection, the greater the increase in CD4 cell count. When starting ART at CD4 level of 200-350 cells/mcl, restoration of CD4 count is more intense in the group with lesser period of HIV infection. A negative effect of the >8-year infection duration before the start of ART on the development of the immunological treatment failure was observed in a subgroup with a starting level of CD4 > 200 cells /mcl.

**Key words:** HIV infection; CD4 recovery; immunological efficiency/inefficiency of ART; duration of HIV infection.

**For citation:** Oleynik A.F., Fazylov V.Kh. The influence of HIV infection duration before antiretroviral therapy on immunological treatment failure. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(3): 114-119. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-3-114-119>

**For correspondence:** Alfiya F. Oleynik, PhD, Kazan State Medical University, Kazan, 420012, Russian Federation.

E-mail: [aalfons@yandex.ru](mailto:aalfons@yandex.ru)

**Information about authors:**

Oleynik A.F., <https://orcid.org/0000-0001-6576-9839>; Fazylov V.H., <https://orcid.org/0000-0003-4333-6316>

**Acknowledgements.** The authors are grateful to the senior staff of GAUZ RTsPB SPID IZ MZ RT (chief medical officer N.I. Galiullin, deputy chief medical officer F.I. Nagimova, head of the Department of sociomedical rehabilitation of HIV patients A.T. Beshimov) for making this study possible. The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 16 May 2016

Accepted 13 December 2016

## Введение

С появлением антиретровирусной терапии (АРВТ) ВИЧ-инфекция перешла в разряд терапевтически контролируемых заболеваний [1]. Основными задачами АРВТ, позволяющими добиться улучшения показателей выживаемости ВИЧ-инфицированных пациентов, являются вирусологический и иммунологический ответы на терапию. Если вирусологическая задача — снизить вирусную нагрузку до минимального уровня и удерживать ее на этом уровне в течение как можно более длительного времени, то об иммунологическом успехе АРВТ свидетельствует увеличение числа лимфоцитов CD4 на фоне лечения. Динамика прироста количества лимфоцитов CD4 коррелирует с динамикой снижения вирусной нагрузки, однако в некоторых случаях наблюдаются дискордантные изменения показателей, в рамках которых можно выделить феномен иммунологической неэффективности АРВТ. Иммунологическая неэффективность лечения развивается ориентировочно у 15% пациентов [2], когда на фоне исчезновения вируса из крови отсутствует подъем уровня CD4-лимфоцитов. Несмотря на длительный прием антиретровирусных препаратов, у данной категории пациентов сохраняется иммунодефицитное состояние и как следствие повышенный риск наступления стадии СПИДа. Кроме того, в этой группе пациентов отмечается небольшое увеличение показателей смертности, не связанной со СПИД-индикаторными заболеваниями [3]. К факторам, способным повлиять на выраженность иммунологического ответа на фоне вирусологически успешной АРВТ, относятся прежде всего исходный уровень CD4-лимфоцитов, возраст, генетическая предрасположенность, наличие вторичных и сопутствующих заболеваний. Эффект неблагоприятного влияния большинства вышеперечисленных факторов учтен в ведущих руководствах, регламентирующих показания к началу АРВТ [4—7]. Длительность инфицирования ВИЧ до начала АРВТ также способна оказывать влияние на восстановление лимфоцитов CD4 [8]. Однако неясно, насколько выражен этот эффект и связано ли негативное влияние фактора длительности инфицирования ВИЧ до начала лечения с исходным уровнем CD4-лимфоцитов.

Цель нашего исследования — оценить влияние факто-

ра длительности инфицирования ВИЧ до начала АРВТ на развитие иммунологической неэффективности лечения.

## Материал и методы

Обсервационное когортное ретро/проспективное исследование было проведено в 2010—2014 гг. на базе ГАУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (далее — СПИД-центр). В работу были включены данные о пациентах с установленным диагнозом «ВИЧ-инфекция», находившихся на диспансерном наблюдении в СПИД-центре в период с 1999 по 2014 г. Данные для ретро-спективной оценки за период с 1999 по 2010 г. взяты из электронной базы данных СПИД-центра AIDS-NET. Данные для проспективной оценки отбирались во время плановой диспансеризации пациентов в 2010—2014 гг. В исследование включали пациентов, отвечающих критериям включения: это взрослые пациенты с ВИЧ-инфекцией, получающие АРВТ в течение 3 лет, с уровнем РНК ВИЧ в плазме крови ниже порога определения через 6 мес от начала АРВТ и в дальнейшем периоде наблюдения; АРВТ начата в стадиях 3 или 4 по классификации ВИЧ-инфекции, утвержденной приказом Минздравсоцразвития России от 17 марта 2006 г. № 166. Критериями исключения из исследования были: детский возраст; длительность АРВТ менее 3 лет; пациенты с ВИЧ-инфекцией, получающие АРВТ, с определяемым уровнем РНК ВИЧ в плазме крови через 6 мес от начала АРВТ и в дальнейшем периоде наблюдения; пациенты с ВИЧ-инфекцией, находящиеся в стадиях инкубации, первичных проявлений и терминальной; пациенты с ВИЧ-инфекцией, получающие одновременно АРВТ и противовирусную терапию (ПВТ) вирусного гепатита (для первого и третьего этапа исследования). Критерии досрочного выбытия из исследования: прекращение пациентом получения АРВТ; определяемая вирусная нагрузка РНК ВИЧ, развившаяся после ранее достигнутой супрессии ВИЧ в плазме крови; старт ПВТ вирусного гепатита у пациента, принимающего АРВТ (для первого и третьего этапа исследования); смерть пациента.

Все пациенты, согласно правилам клинической практики, подписали информированное согласие на обследование при постановке на учет в СПИД-центр, а также информированное согласие на АРВТ перед ее началом. Было получено одобрение локального этического комитета на проведение данного исследования.

Под наблюдением находились 140 ВИЧ-инфицированных пациентов с известной длительностью инфицирования ВИЧ в возрасте 34 [30; 39] лет, 53% мужчин. В 44% случаев путь заражения парентеральный. Стаж инфицирования ВИЧ до начала лечения — 6 [3; 9,5] лет. Пациенты находились в стадиях: 3 — 34,8%, 4А — 22,5%, 4Б — 35,9%, 4В — 6,8%. У 8,9% пациентов отмечено прогрессирование ВИЧ-инфекции на фоне АРВТ, из них более половины (62,5%) — пациенты с иммунологической неэффективностью АРВТ. Надир лимфоцитов CD4 в периферической крови составил 188 [111; 290] кл/мкл. Уровень РНК ВИЧ в плазме крови перед началом АРВТ — 98 600 [18 400; 359 500] копий/мл.

Длительность инфицирования установлена на основании данных об отрицательном результате иммуноферментного анализа на антитела к ВИЧ в течение 1 года до первого положительного результата. В этом случае за дату заражения принималась срединная дата между отрицательным и положительным тестом на ВИЧ. Кроме того, длительность инфицирования устанавливалась на основании лабораторных признаков незавершенной сероконверсии методом иммунного блоттинга. Учитывались наличие клинических данных, свидетельствующих о стадии первичных проявлений, и эпидемиологических данных, свидетельствующих о вероятном заражении ВИЧ. Для пациентов с сероконверсией за дату инфицирования принималась точка, соответствующая 12 мес (как максимально возможный инкубационный период) до первого положительного/сомнительного результата иммунного блоттинга.

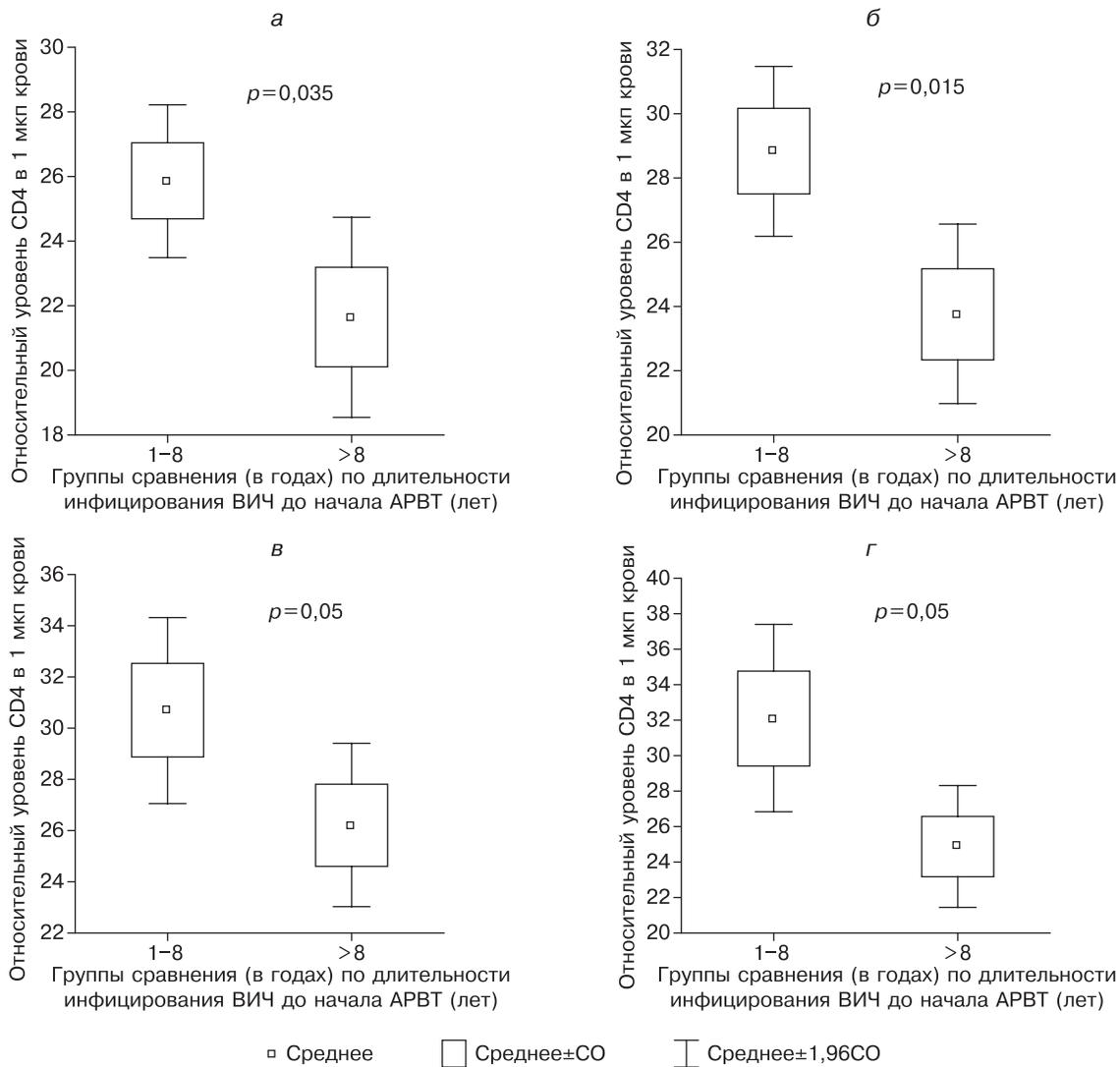
На основании длительности инфицирования пациенты были разделены на 4 группы: 1—3 года, 4—7 лет, 8—10 лет, более 10 лет инфицирования. Однако в ходе исследования не было обнаружено различий между группами 1—3 и 4—7 лет, а также 8—10 и более 10 лет. С целью упрощения статистической обработки группы с отсутствием различий были объединены с образованием двух групп: 1—8 и более 8 лет инфицирования ВИЧ до начала терапии. Всем пациентам начата АРВТ (в соответствии с Методическими рекомендациями Минздравсоцразвития РФ № 7125-РХ от 29.12.2006), за ходом которой наблюдали в течение 3 лет. В зависимости от уровня прироста CD4-лимфоцитов на фоне АРВТ пациенты были разделены на 2 группы: иммунологические «неответчики» — пациенты с приростом CD4-лимфоцитов менее 50 кл/мкл за 1 год; пациенты, ответившие на АРВТ приростом CD4-лимфоцитов более 50 кл/мкл за 1 год. Оценка прироста CD4-лимфоцитов проводилась как минимум в двух повторных измерениях с разницей в 3 мес для исключения случайной ошибки ввиду вариабельности абсолютного показателя уровня лимфоцитов CD4.

Для исследования отобраны данные клинического и лабораторного обследования (абсолютное и относительное количество лимфоцитов CD4 в 1 мкл крови, количество копий РНК ВИЧ в 1 мл крови) следующих временных точек: перед началом АРВТ, через 6 и 12 мес после начала АРВТ, далее ежегодно на протяжении всего периода лечения. Количественное определение РНК

ВИЧ в плазме крови выполнялось методом ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на анализаторах COBAS TaqMan 48 («Hoffman-La-Roche», Швейцария), Abbott m2000rt («Abbott Biosystems», США) с порогом чувствительности 400 копий/мл до 2010 г., 150 копий/мл — в более поздний период. Количество CD4-лимфоцитов определялось методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител. Фенотипирование лимфоцитов выполняли методом прямой реакции иммунофлуоресценции с моноклональными антителами (мкАТ) фирмы «Becton Dickinson» (США). Использовали реагент BD Мультитест 6-цветный TBNK, содержащий мкАТ CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19 с учетом реакции иммунофлуоресценции на проточном цитофлуориметре FACScanto II («Becton Dickinson», США).

Исследование проведено в 3 этапа. На первом этапе оценивали силу связи стажа инфицирования ВИЧ с приростом лимфоцитов CD4 через 6 мес, 1, 2 и 3 года получения АРВТ. На этом этапе исключены из исследования пациенты, получающие одновременно АРВТ и ПВТ хронического гепатита С (ХГС) ввиду значительного снижения абсолютного количества CD4-лимфоцитов на фоне ПВТ ХГС. Число наблюдаемых на этом этапе составило 89 человек. На втором этапе проводилось сравнение темпа восстановления относительного количества лимфоцитов CD4 в группах с равным стартовым уровнем лимфоцитов CD4, но разной длительностью инфицирования: 1—8 и более 8 лет инфицирования в группах с исходными CD4 < 100, 100—200, 200—350 и > 350 кл/мкл. Поскольку исследовали относительный уровень CD4-лимфоцитов, в этом этапе приняли участие 140 больных, включая пациентов, получавших ПВТ ХГС. На заключительном этапе оценивали влияние фактора длительности инфицирования ВИЧ на развитие иммунологической неэффективности (ИН) АРВТ. Воздействие фактора оценивали за трехлетний период АРВТ в целом независимо от срока возникновения ИН. На этом этапе из исследования исключены пациенты, получающие одновременно АРВТ и ПВТ ХГС, количество наблюдаемых составило 89 человек.

*Статистическая обработка.* Необходимый размер выборки рассчитан на основе 90% мощности обнаружения значимого на уровне 5% различия в группах. Используются методы описательной и сравнительной статистики с помощью программ Statistica 10.0, Microsoft Excel 2003. Нормальность распределения количественного признака в вариационном ряду оценивали с помощью критерия Шапиро—Уилка, равенство дисперсий распределения признаков — с применением *F*-теста. В случае наличия отличного от нормального распределения признака в вариационном ряду применяли непараметрические методы статистического анализа. Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения, представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). При отличном от нормального распределении признака в вариационном ряду для представления данных использованы медиана и межквартильный размах  $Me [Q_1; Q_3]$ . При сравнении независимых выборок для определения достоверности различий между группами прибегали к *t*-критерию Стьюдента и критерию Манна—Уитни (при распределении, отличном от нормального). Сравнение категориальных данных проведено при помощи критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера (при малом числе наблюдений). Для оценки



Относительный уровень лимфоцитов CD4 через 6 мес (а), 1 год (б), 2 года (в) и 3 года (г) АРВТ в группах с различной длительностью инфицирования ВИЧ до начала лечения, но одинаковым стартовым уровнем CD4-лимфоцитов 200—350 кл/мкл.

связи двух признаков ( $r$ ) применен непараметрический метод корреляционного анализа Спирмена. Для сравнения частот исходов рассчитывали относительный риск (RR) и 95% доверительные интервалы. Отклонение нулевой гипотезы происходило при пороговом уровне статистической значимости  $p = 0,05$ .

### Результаты

Установлено наличие обратной корреляционной зависимости между длительностью инфицирования ВИЧ и приростом лимфоцитов CD4 через 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ ( $r = -0,33, p < 0,01$ ;  $r = -0,3, p < 0,01$ ;  $r = -0,3, p < 0,01$ ;  $r = -0,29, p < 0,01$  соответственно), т. е. с увеличением длительности инфицирования ВИЧ до начала АРВТ снижался показатель прироста CD4-лимфоцитов на фоне лечения.

При старте АРВТ с уровня CD4 200—350 кл/мкл выявлены статистически значимые различия по уровню относительного количества лимфоцитов CD4 через 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ в группах с различной длительностью инфицирования ВИЧ до начала терапии (1—8 и более 8 лет) (см. рисунок).

При этом в группе с длительностью инфицирования ВИЧ до начала лечения 1—8 лет содержание CD4 на фоне лечения было больше в среднем на 58, 60, 73 и 100 кл/мкл на этапах лечения 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ соответственно.

При старте АРВТ с уровня CD4 100—200 кл/мкл также зарегистрирован более высокий относительный уровень CD4-лимфоцитов на всех этапах лечения в группе с длительностью инфицирования 1—8 лет по сравнению с группой с большим стажем инфицирования ВИЧ до начала лечения, однако результат не был статистически значимым ( $p = 0,31$ ;  $p = 0,07$ ;  $p = 0,19$ ;  $p = 0,08$  на этапах лечения 6 мес, 1, 2 и 3 года АРВТ соответственно).

При старте АРВТ с уровня CD4 менее 100 и более 350 кл/мкл не выявлено существенных различий между группами сравнения по содержанию CD4-лимфоцитов в крови на фоне АРВТ.

При оценке влияния длительности инфицирования ВИЧ как фактора риска развития ИН АРВТ выявлено повышение риска развития иммунологического «неответа» в 2,694 раза в группе со стажем инфицирования более 8 лет по сравнению с пациентами со стажем ин-

фицирования 1—8 лет ( $F = 0,03$ ;  $\chi^2 = 0,016$ ; 95% ДИ 1,174—6,179).

Для оценки возможной модификации эффекта и конфаундинга мы провели стратификацию пациентов по надиру CD4-лимфоцитов: менее 200 и более 200 кл/мкл. Стратификация показала, что стартовый уровень CD4 значительно модифицирует влияние длительности инфицирования ВИЧ на развитие ИН лечения: RR для подгруппы «надир CD4 < 200» составил 1,75 ( $F = 0,45$ ;  $\chi^2 = 0,28$ ; ДИ 0,6139—4,989), для подгруппы «надир CD4 > 200» — 4 ( $F = 0,05$ ;  $\chi^2 = 0,03$ ; ДИ 1,055—15,16). Таким образом, неблагоприятное влияние длительности инфицирования более 8 лет на развитие ИН терапии может иметь отношение к группе со стартовым уровнем CD4 > 200 кл/мкл; ранжирование больных по возрасту и полу показало, что возраст и пол не являлись конфаундером или модификатором эффекта.

### Обсуждение

Причины отсутствия прироста лимфоцитов CD4 при достижении вирусологического ответа на АРВТ до сих пор остаются недостаточно ясными. Четких рекомендаций в случае возникновения феномена ИН АРВТ нет. На иммунологическую эффективность терапии влияют множество факторов, среди которых исходный низкий уровень CD4-лимфоцитов является, вероятно, самым неблагоприятным в отношении восстановления CD4-лимфоцитов при АРВТ [9]. Кроме того, иммунологический ответ нередко менее выражен у пожилых пациентов. Показано, что больные старше 50 лет имеют худший иммунологический ответ на АРВТ и низкую выживаемость [10]. Возможно, это связано в первую очередь с дистрофическими изменениями тимуса [11].

Среди прочих факторов, которые потенциально могут оказывать влияние на прирост CD4-лимфоцитов на фоне вирусологически эффективной АРВТ, рассматриваются также длительность инфицирования ВИЧ до начала терапии. Данные литературы относительно эффекта этого фактора крайне скудные и противоречивые. Например, в исследовании К. Shmagel и соавт. [8] обнаружено, что чем больше длительность течения заболевания без АРВТ, тем ниже восстановительный потенциал CD4-лимфоцитов. Результаты первого этапа нашего исследования подтверждают эти данные: установлена обратная связь между длительностью инфицирования ВИЧ до начала АРВТ и приростом CD4-лимфоцитов на фоне лечения. Указанная закономерность может быть следствием разного стартового уровня CD4-лимфоцитов перед началом АРВТ, так как известно, что чем больше длительность инфицирования ВИЧ, тем меньше содержание в крови лимфоцитов CD4. Чтобы ответить на этот вопрос, на втором этапе нами проведено сравнение темпа восстановления относительного количества лимфоцитов CD4 в группах с одинаковым стартовым уровнем лимфоцитов CD4, но разной длительностью инфицирования: 1—8 и более 8 лет инфицирования в группах с исходными CD4 < 100, 100—200, 200—350 и > 350 кл/мкл. Равный уровень CD4 на старте дал возможность проявить эффект длительности инфицирования ВИЧ, а не надир лимфоцитов CD4, а показатель процентного содержания CD4-клеток обеспечил точность измерения количества лимфоцитов CD4, поскольку является менее вариабельным, чем их абсолютное число [12]. Этот подход позволил нам выявить различия в уровне относительного количества лимфоцитов CD4 на всех этапах лечения в группах с различной длительностью инфицирования ВИЧ до на-

чала терапии при старте АРВТ с уровня CD4 200—350 и 100—200 кл/мкл. При меньшем стартовом количестве CD4 негативное влияние длительного инфицирования ВИЧ нивелировалось, вероятно, потому, что ключевым фактором неэффективного восстановления лимфоцитов CD4 является низкий надир CD4.

Кроме того, К. Shmagel и соавт. [8] не удалось продемонстрировать влияние длительности инфицирования ВИЧ на развитие ИН. Полученные данные могли быть результатом недостаточной мощности исследования либо недостаточной строгости критериев установления длительности инфицирования ВИЧ и ИН. Изучение длительности инфицирования ВИЧ до АРВТ в качестве возможного фактора риска развития ИН лечения, по нашему мнению, не кажется обосновательным и заслуживает внимания. Одним из возможных механизмов, лежащих в основе негативного влияния стажа инфицирования ВИЧ на восстановление лимфоцитов CD4, может являться гиперактивация иммунной системы [13], которая запускается вслед за инфицированием ВИЧ [14]. Чем длительнее период инфицирования ВИЧ до начала АРВТ, тем длительнее и период активации иммунной системы, что в конечном счете может приводить к неэффективному восстановлению CD4 при АРВТ. Установлено, что уровень маркеров иммунной активации и сосудистой дисфункции значительно повышен у так называемых «элитных контролеров» [15]. Следует заметить, что современные рекомендации в отношении показаний к АРВТ опираются на клинические, иммунологические, эпидемиологические и в меньшей степени вирусологические критерии без учета при этом стажа инфицирования ВИЧ. «Элитные контролеры» длительное время способны удерживать нормальный уровень лимфоцитов CD4 и низкую вирусную нагрузку РНК ВИЧ, в связи с чем нет показаний к началу АРВТ. Однако активация иммунной системы непрерывно продолжается, а показания к назначению АРВТ длительно отсутствуют. Нами было установлено, что длительность инфицирования ВИЧ до начала АРВТ более 8 лет является фактором риска развития ИН терапии. Подтверждено также, что негативное влияние длительности инфицирования ВИЧ более 8 лет сильнее в группе с более высоким уровнем CD4 на старте терапии. Полученные результаты диктуют необходимость учета длительности инфицирования ВИЧ при назначении АРВТ.

### Выводы

1. Установлена обратная связь между длительностью инфицирования ВИЧ до начала АРВТ и приростом CD4-лимфоцитов при АРВТ: чем меньше длительность инфицирования ВИЧ, тем выше прирост CD4-лимфоцитов.
2. При старте АРВТ с уровня CD4 200—350 кл/мкл восстановление лимфоцитов CD4 происходит интенсивнее в группе с менее продолжительным периодом инфицирования ВИЧ.
3. Длительность инфицирования ВИЧ до начала АРВТ более 8 лет является фактором риска развития ИН терапии, увеличивая вероятность ее возникновения в 4 раза (у пациентов, начавших АРВТ с уровня CD4 более 200 кл/мкл).

**Благодарность.** Авторы благодарят руководство ГАУЗ «РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ» в лице главного врача Н.И. Галиуллина, заместителя главного врача по лечебной работе Ф.И. Нагимову, заведующего отделением медико-социальной реабилитации пациентов с ВИЧ-инфекцией А.Т. Бешимова за возможность проведения данного исследования.

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2, 3, 5—13, 15 см. REFERENCES)

1. Бартлетт Д., Галант Д., Фам П. *Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2009—2010*. Пер. с англ. М.: Р. Валент; 2010.
4. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Канестри В.Г., Афонина Л.Ю. и др. Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2014; (6): 14—5.
14. Фазылов В.Х., Манапова Э.Р., Гольц М.Л., Бешимов А.Т. Клинико-иммунологический и цитокиновый профиль у пациентов ВИЧ-инфекцией на ранних сроках заболевания при различных путях инфицирования. *Цитокины и воспаление*. 2013; 12(3): 35—40.

#### REFERENCES

1. Bartlett J.G., Gallant J.E., Pham P.A. *Medical management of HIV infection*. Durham, NC: Knowledge Source Solutions, LLC; 2009.
2. Moore D., Hogg R., Yip B., Wood E., Tyndall M., Braitstein P. et al. Discordant immunologic and virologic responses to highly active antiretroviral therapy are associated with increased mortality and poor adherence to therapy. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2005; 40: 288—293.
3. Gilson R.J., Man S.L., Copas A., Rider A., Forsyth A., Hill S. et al. Discordant responses on starting highly active antiretroviral therapy: suboptimal CD4 increases despite early viral suppression in the UK Collaborative HIV Cohort (UK CHIC) Study. *HIV Med.* 2010; 11: 152—160.
4. Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Kanestri V.G., Afonina L.Yu. et al. Protocols of follow-up and treatment of patients with HIV infection. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2014; (6): 14—5. (in Russian)
5. Antiretroviral therapy guidelines, version 7.1. November 2014. European AIDS Clinical Society. Available at: [http://arvt.ru/sites/default/files/EACS\\_Guidelines\\_v7.1\\_ENG.pdf](http://arvt.ru/sites/default/files/EACS_Guidelines_v7.1_ENG.pdf)
6. Consolidated guidelines on HIV prevention, diagnosis, treatment and care for key populations. World Health Organization. Available at: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/en/>
7. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Available at: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>
8. Shmagel K., Smagel N., Saydakova E., Zverev S., Korolevskaya L., Vorobyeva N. et al. Investigation of mechanisms of immunological inefficiency of antiretroviral therapy in HIV-infected patients. In: *Proceedings of the ERA.Net RUS Brokerage event*. Yekaterinburg; 2011.
9. Julg B., Poole D., Ghebremichael M., Castilla C., Altfeld M., Sunpath H. et al. Factors predicting discordant virological and immunological responses to antiretroviral therapy in HIV-1 clade C infected Zulu/Xhosa in South Africa. *PLoS One*. 2012; 7(2): 1—5.
10. Blanco J.R., Jarrin I., Vallejo M., Berenguer J., Solera C., Rubio R. et al. Definition of advanced age in HIV infection: looking for an age cut-off. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2012; 28(9): 1000—6.
11. Grabar S., Kousignian I., Sobel A., Le Bras P., Gasnault J., Enel P. et al. Immunological and clinical responses to Highly active antiretroviral therapy over 50 years of age. Results from the French Hospital Database on HIV. *AIDS*. 2004; (18): 2029—38.
12. Hoover D.R. Would confirmatory retesting of CD4+ cells to verify AIDS status be too expensive? *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1993; 6(5): 537—9.
13. Deeks S.G., Kithen C.M., Liu L., Guo H., Gascon R., Narváez AB., et al. Immune activation see point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load. *Blood*. 2004; 104(4): 942—7.
14. Fazylov V.Kh., Manapova E.R., Gol'ts M.L., Beshimov A.T. Clinical and immunological and cytokine profile in patients with HIV infection in the early stages of the disease at different ways of infection. *Tsitokiny i vospalenie*. 2013; 12(3): 35—40. (in Russian)
15. Hunt P.W., Brenchley J., Sinclair E., McCune J.M., Roland M., Shafer KP. et al. Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy. *J. Infect. Dis.* 2008; 197(1): 126—33.

Поступила 16.05.16

Принята в печать 13.12.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 578.891:578.31.083.2

**Коноплева М.В.<sup>1</sup>, Соколова М.В.<sup>1</sup>, Шевлягина Н.В.<sup>1</sup>, Баженов А.И.<sup>2</sup>, Фельдшера А.А.<sup>1</sup>, Крымский М.А.<sup>3</sup>, Борисова В.Н.<sup>3</sup>, Семенов Т.А.<sup>1</sup>, Нестеренко В.Г.<sup>1</sup>, Суслов А.П.<sup>1</sup>**

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИРУСА ГЕПАТИТА В с ЭСКЕЙП-МУТАЦИЯМИ в S-гене G145R и S143L

<sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;

<sup>2</sup> ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы, 129090, г. Москва;

<sup>3</sup> ЗАО НПК «Комбиотех», 117997, г. Москва

**Введение.** По серологическим свойствам и при иммунизации дикий тип HBsAg вируса гепатита В (ВГВ) и его мутант G145R ведут себя как различные антигены. Это свидетельствует о серьезных структурных изменениях, которые предположительно способны оказать существенное влияние на морфогенез вирионов и субвирусных частиц. Однако морфологические и ультраструктурные исследования ВГВ с мутацией G145R ранее не проводились. **Цель работы:** изучение структурно-морфологической организации ВГВ при наличии эскейп-мутации G145R. **Методы.** Исследования сывороток, очищенных вирусов, а также рекомбинантных HBsAg проводили с помощью трансмиссионной электронной микроскопии методом негативного контраста и непрямой реакции иммуномечения с применением моноклональных антител различной специфичности. В качестве контроля использовали образцы ВГВ дикого типа и ВГВ, имеющего мутацию S143L, полученные аналогичным способом.

**Для корреспонденции:** Коноплева Мария Вениаминовна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета, отдел иммунологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: maria-konopleva@rambler.ru