

Кузовкова Н.В.¹, Подымова А.С.¹, Сабитов А.У.², Кива Л.Д.¹

Формирование резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-инфицированных детей

1 - ГБУЗ СО "Свердловский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями", г.Екатеринбург; 2 - ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург

Kuzovkova N.V., Podymova A. S., Sabitov A.U., Kiva L.D.

Emergence of HIV resistance to antiretroviral drugs in HIV-infected children

Резюме

Целью работы явилось выявление факторов риска развития резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в зависимости от схем их применения у детей с перинатальной ВИЧ инфекцией. Проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт ВИЧ-инфицированных детей Свердловской области, обследованных методом генетического секвенирования ВИЧ в 2009 – 2010 годах на устойчивость ВИЧ к антиретровирусным препаратам. Показано, что резистентность ВИЧ у детей, получавших АРВП только с профилактической целью в перинатальном периоде, выявляется в единичных случаях. Антиретровирусная терапия (АРВТ) с применением схемы, включающей ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы менее устойчива к развитию резистентности, чем схемы с ингибиторами протеазы. В случае возникновения устойчивости развивается перекрестная резистентность к другим препаратам этого класса.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция у детей, антиретровирусная терапия, резистентность

Summary

This research was aimed to reveal risk factors in the emergence of HIV drug resistance among children at risk of perinatal infection with different schemes of antiretroviral drug administration. Retrospective analysis of the out-patients' cards was performed for the HIV-infected children in Sverdlovsk district, who were tested by HIV genetic sequence analysis for antiretroviral resistance in 2009 – 2010. It was shown that HIV resistance in children, who received antiretroviral therapy only in the perinatal period, was detected in a few cases. Antiretroviral therapy scheme with administration of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors appeared to be less robust to the emergence of drug resistance than the schemes with protease inhibitors. In case of HIV resistance to one drug, cross-resistance to the drugs of the same class appears.

Key words: HIV-infected child, antiretroviral therapy, resistance

Введение

Детям с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции в большинстве случаев антиретровирусная терапия (АРВТ) начинается раньше, чем взрослым [2], поэтому значительное число детей имеет длительный стаж лечения. Многие ВИЧ-инфицированные дети начинали получать антиретровирусные препараты еще в перинатальном периоде с целью профилактики. В связи с этим возможно формирование резистентных штаммов ВИЧ у этих детей даже до назначения антиретровирусной терапии, что затрудняет в дальнейшем выбор схемы эффективного лечения [1,3]. В Свердловской области перинатальная передача ВИЧ зафиксирована у 548 детей. В настоящее время получают антиретровирусную терапию (АРВТ) 344 ребенка. В лечении детей применяются АРВП (антиретровирусные препараты) 3 классов: нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы

(НИОТ), ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ), ингибиторы протеазы (ИП), при этом схема терапии «2 НИОТ+ИП» используется у 274 (79,9%) пациентов, «2 НИОТ+ННИОТ» – у 66 (19,3%), «3 НИОТ» – у 3 детей (0,8%), «НИОТ+ННИОТ+ИП» – у 1 ребенка (0,3%). На фоне антиретровирусной терапии достигнута клиничко-лабораторная ремиссия у 89% детей. Однако у части детей на фоне проводимого лечения в связи с недостаточным соблюдением режима терапии сохраняется определяемая вирусная нагрузка, что создает условия для формирования лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам.

Цель исследования - провести оценку первичной резистентности ВИЧ у детей с перинатальным путем инфицирования и выявить частоту развития лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам на фоне различных схем АРВТ.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт ВИЧ-инфицированных детей, имевших результаты генотипирования ВИЧ с целью выявления мутаций, определяющих устойчивость к антиретровирусным препаратам, методом генетического секвенирования в 2009 – 2010 годах. Обследование проводилось на секвенаторе Applied Biosistem 3130 (Hitachi, Япония) на тест-системах ViroSeq V2 и V 2.8 в лаборатории центра. Анализ изменения генов проводился с помощью программы ViroSeq V2 и 2.8. Выделялись мутации, отражающие появление устойчивых штаммов вируса и штаммов со снижением чувствительности к АРВП.

Результаты и обсуждение

В течение 2 лет на резистентность ВИЧ к антиретровирусным препаратам были обследованы 122 ВИЧ-инфицированных ребенка с определяемой вирусной нагрузкой, принимавших антиретровирусные препараты, в том числе:

- только с профилактической целью – 63;
- прервавших АРВТ на момент обследования – 17;
- получающих АРВТ на момент обследования – 42.

В группе детей с профилактическим приёмом АРВП у 51 пары мать-ребенок была проведена только интранатальная профилактика (невирапин – у 22, зидовудин – у 14, невирапин+зидовудин – у 15). Полная перинатальная профилактика (во время беременности, родов и новорожденному) была осуществлена у 12 пар мать-ребенок (в т.ч. схемы с применением невирапина – у 8, с применением лопинавира-ритонавира у 4). Методом генетического секвенирования дети были обследованы в различном возрасте и, соответственно, в разные сроки от прекращения селективного давления препаратов, в том числе: в 1,5 – 2 месяца – 8 человек; в 3-6 месяцев – 15; в 7 – 11 месяцев – 6; в 12 месяцев и старше – 34 ребенка. Ген мутации, приведший к устойчивости вируса к АРВП, был выявлен только у 1 (1,6%) ребенка в возрасте 7 месяцев, мать которого получила с профилактической целью зидовудин в родах, а сам ребенок этот же препарат в 6 недель после рождения. Была обнаружена мутация T215I, обуславливающая снижение чувствительности вируса к зидовудину и ставудину. В связи с наличием лабораторных показаний после проведения генотипирования АРВТ начата 25 детям. Через 6 месяцев терапии вирусная нагрузка не определялась у 23 (92%) детей. В связи с недостаточной приверженностью к АРВТ у 2 детей сохранялась определяемая вирусная нагрузка.

Среди 17 детей, прервавших АРВТ до начала настоящего исследования, генотипирование проводилось через 1-2 месяца после отмены терапии – у 3, через 3 – 6 месяцев – у 4, через 7-11 месяцев – у 4, 12 и более месяцев – у 6 детей. Была выявлена мутация M184V, обуславливающая резистентность к ламивудину и эмтрицитабину и снижение чувствительности к зальцитабину

у 1 (5,8%) ребенка через 7 месяцев после срыва схемы зидовудин, ламивудин, невирапин. У остальных детей на момент обследования значимых мутаций не выявлено. Среди пациентов данной группы 8 детей возобновили АРВТ после получения результата генотипирования, в т.ч. 4 ребенка - без изменения схемы АРВТ. В результате лечения было достигнуто значительное снижение вирусной нагрузки у 2 и неопределяемая вирусная нагрузка – у 1 ребенка. Вирусная нагрузка оставалась высокой у 1 ребенка, получавшего зидовудин в сочетании с диданозином и невирапином. Через 2 месяца при повторном обследовании на резистентность у него была выявлена мутация Y181C, определяющая устойчивость к невирапину, делавирдину и снижение чувствительности к эфавиренцу и этравирину. 4 детей возобновили лечение с заменой 1 – 2 препаратов в схеме АРВТ. У 3 детей была достигнута неопределяемая вирусная нагрузка; у одного ребенка эффекта не было (получал ставудин, ламивудин, невирапин, затем зидовудин, диданозин, лопинавир/ритонавир; возобновил терапию в составе зидовудин, ламивудин, невирапин). Через 3 месяца после возобновления АРВТ у него выявлены мутация M184V, определяющая резистентность к ламивудину и эмтрицитабину и мутация G190A, с которой связана нечувствительность к невирапину и ее снижение к эфавиренцу. Таким образом, во второй группе детей на фоне прерывания АРВТ частота регистрации мутаций устойчивости ВИЧ составила 17,6%.

Среди детей третьей группы (42 ребенка) использовались различные варианты АРВТ. Первая линия терапии применялась у 34 детей, среди них схема «2НИОТ+ННИОТ» – у 21 (зидовудин, ламивудин, невирапин – 11; зидовудин, диданозин, невирапин – 9; ставудин, ламивудин, невирапин – 1), схема «2НИОТ+ИП» – у 13 (зидовудин, ламивудин, лопинавир/ритонавир – 7, зидовудин, диданозин, лопинавир/ритонавир – 2, ставудин, ламивудин, лопинавир/ритонавир – 2), абакавир, ламивудин, лопинавир/ритонавир – 2). Препараты второй линии АРВТ принимали 5 детей, в том числе: «НИОТ+ННИОТ+ИП» 2 детей, «2НИОТ + ННИОТ» – 2 детей, «2 НИОТ + ИП» – 1 ребенок. Третью линию АРВТ получили 3 ребенка, все имели опыт приема препаратов трех классов.

Результаты генотипирования ВИЧ при применении различных схем АРВТ, представлены в таблицах 1,2,3. Из таблицы 1 видно, что у детей с неэффективной антиретровирусной терапией с применением первой линии терапии в схеме

«2 НИОТ + ННИОТ» мутации выявлены у 20 из 21 (95%) детей, причем у 17 из 21 (85%) - сразу к двум классам. Наиболее часто развивается устойчивость к невирапину (18 детей из 21 или 90,0%), перекрестная к другим препаратам класса (эфавиренц, делавирдин). В схемах с применением ламивудина, устойчивость к нему развилась у 9 из 12 (75%) детей, получающих препарат в одной схеме с невирапином. Одновременно формируется перекрестная резистентность

Таблица 1. Результаты генотипирования ВИЧ у детей, получавших первую линию терапии по схеме «2 НИОТ + ННИОТ»

Схема терапии.	Число детей в группе.	Число детей, у которых обнаружены мутации	преобладающие мутации и частота их выявления от получавших схему (в %)		наименования препаратов, к которым сформировалась:	
			класс препаратов	мутация	резистентность и ее частота выявления среди получавших схему (в %)	снижение чувствительности и ее частота выявления среди получавших схему (в %)
«зидовудин, ламивудин, невирапин»	11	10 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 9	НИОТ	M184V (81,8)	ламивудин (81,8) эмтрицитабин(81,8)	-
			ННИОТ	K103N (63,6)	невирапин (90,9) эфаверенц (72,7) делавирдин (72,7)	-
«зидовудин, диданозин, невирапин»	9	9 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 7	НИОТ	K70R (55,6) T215F1 (55,6)	зидовудин (77,8) ставудин (77,8)	тенофовир (55,5)
			ННИОТ	G190S/A(55,6)	невирапин (77,8) эфаверенц (55,6)	-
«ставудин, ламивудин, невирапин»	1	1 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 1	НИОТ	M184V (100,0)	ламивудин (100) эмтрицитабин(100)	-
			ННИОТ	Y181C (100,0)	делавирдин (100,0)	эфаверенц (100,0) этравирин (100,0)

Таблица 2. Результаты генотипирования ВИЧ у детей, получавших первую линию терапии в составе «2 НИОТ + ИП»

Схема терапии.	Число детей в группе.	Число детей, у которых обнаружены мутации	преобладающие мутации и частота их выявления от получавших схему (в %)		наименования препаратов, к которым сформировалась:	
			класс препаратов	мутация	резистентность и ее частота выявления среди получавших схему (в %)	снижение чувствительности и ее частота выявления среди получавших схему (в %)
«зидовудин, ламивудин, лопинавир/ ритонавир»	7	2 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 0	НИОТ	M184V (28,6)	ламивудин (28,6) эмтрицитабин(28,6)	-
«зидовудин, диданозин, лопинавир/ ритонавир»	2	1 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 1	НИОТ	K70R (50,0) D67N (50,0)		зидовудин (50,0) ставудин (50,0)
			ИП	M46I (50,0) V82A (50,0) I54V (50,0)	индинавир (50,0) нелфинавир (50,0)	дыпренавир (50,0) фосампренавир(50,0) саквинавир (50,0) лопинавир/ритонавир (50,0) атазанавир (50,0) типранавир (50,0)
«ставудин, ламивудин, лопинавир/ ритонавир»	2	2 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 0	НИОТ	M184V(100,0) T215D (50,0)	ламивудин (100,0) эмтрицитабин(100,0)	зидовудин (50,0) ставудин (50,0)
«абакавир, ламивудин, лопинавир/ ритонавир»	2	1 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов - 0	НИОТ	M184V (50,0)	ламивудин (50,0) эмтрицитабин (50,0)	-

Таблица 3. Результаты генотипирования ВИЧ у детей, получавших несколько схем АРВТ

Схема терапии.	Число детей в группе.	Число детей, у которых обнаружены мутации	преобладающие мутации и частота их выявления от получавших схему (в %)		наименования препаратов, к которым сформировалась:	
			класс препаратов	мутация	резистентность и ее частота выявления среди получавших схему (в %)	снижение чувствительности и ее частота выявления среди получавших схему (в %)
«зидовудин/ ламивудин/ абакавир/ диданозин/ ставудин + неврирапин, лопинавир/ ритонавир, нельфинавир»	8	4 в т.ч. мутации к 2 классам препаратов – 4; мутации к 3 классам препаратов – 1	НИОТ	M184V (50,0) K219E (25,0) T215Y/F (25,0)	ламивудин (50,0) эмтрицитабин (50,0) зидовудин (50,0) ставудин (50,0)	-
			ННИОТ	G190S/A (37,5) K103N (25,0)	неврирапин (75,0) эфавиренц (50,0)	-
			ИП	L10F (12,5) L33F (12,5) K43T (12,5) M46I (12,5) I54V (12,5) L76V (12,5) V82A (12,5)	ампренавир (12,5) фосампренавир (12,5) индинавир (12,5) лопинавир/ритонавир (12,5) нелфинавир (12,5) типранавир (12,5)	саквинавир (12,5) дарунавир (12,5) атазанавир (50,0)

к эмтрицитабину. В протоколах с применением зидовудина устойчивость к этому препарату развилась в 35% случаев, одновременно у всех обследованных определялась перекрестная устойчивость к ставудину.

В схемах первой линии терапии «2 НИОТ + ИП» мутации генов, приводящие к резистентности ВИЧ, были обнаружены у 6 из 13 детей (46,2%) (таблица 2). Наиболее частой была резистентность к ламивудину (5 из 9 детей, получавших этот препарат, 55,6%). Мутации, снижающие чувствительность вируса к ИП выявлены у 1 ребенка (7,7%).

Среди детей, получавших последовательно несколько схем (2 и более) АРВТ, мутации резистентности выявлены у 6 из 8 (75,0%) детей (таблица 3). Наиболее часто выявляются мутации к неврирапину, ламивудину, зидовудину, ставудину. Резистентность к ИП выявлена у 1 ребенка.

После определения лекарственной устойчивости схема АРВТ была изменена у 27 детей. При контрольном обследовании вирусной нагрузки уровень РНК ВИЧ менее 150 с/мл достигнут у 22 (81,5%). У 3 (11,1%) детей контроль РНК ВИЧ не был проведен в связи с малым сроком, прошедшим после смены АРВТ. Определяемая РНК ВИЧ сохранялась при недостаточной приверженности у 2 (7,4%) детей.

Таким образом, среди детей, получавших АРВТ при определяемой вирусной нагрузке, мутации выявлены в схемах «2 НИОТ + ННИОТ» у 95% детей, в схемах «2 НИОТ + ИП» – у 46% детей; при использо-

вании нескольких схем АРВТ – у 75% детей. Во всех случаях развития резистентности выявлена перекрестная устойчивость вируса к препаратам. При возникновении резистентности, мутации к НИОТ возникают в 88% случаев, к ННИОТ – в 100%, к ИП – в единичных случаях.

Выводы

1. Формирование резистентности ВИЧ у детей, получавших АРВТ только в перинатальном периоде с профилактической целью, выявлено в 1,6% случаев, при прерывании АРВТ – в 17,6%, на фоне проведения неэффективной АРВТ – 71,4%
2. При возобновлении ранее прерванной АРВТ целесообразно обследование на резистентность ВИЧ через 2-3 месяца после возобновления лечения.
3. Схемы с использованием ННИОТ менее устойчивы к развитию резистентности и требуют неукоснительного соблюдения времени приема лекарств.
4. В случае возникновения устойчивости к препаратам схемы, развивается перекрестная резистентность ВИЧ к другим препаратам класса. В связи с этим, при отсутствии возможности обследования на резистентность нецелесообразно при смене схемы менять неврирапин на эфавиренц, зидовудин на ставудин, диданозин на абакавир, отменять бустированные ИП.
5. Для повышения приверженности семьи к лечению первая схема лечения должна быть наиболее удобной для приема.■

Кузовкова Н.В., врач-педиатр ГБУЗ СО "Свердловский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями", г. Екатеринбург; Подымова А.С., главный врач ГБУЗ СО "Свердловский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями", г. Екатеринбург; Сабитов А.У., д.м.н., профессор, зав. кафедрой детских инфекций ГОУ ВПО УГМА, г. Екатеринбург; Кива Л.Д., заведующая клинико-диагностическим отделением №2 ГБУЗ СО "Свердловский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями", г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Кузовкова Наталья Владимировна г. Екатеринбург, Ул. Ясная, 46. Тел. (343) 350-27-19, E-mail: kuzovkovanv@mail.ru

Литература:

1. Бартлетт Д., Галант Д., Фам П. «Клинические аспекты ВИЧ-инфекции», М., 2010, 496 с.
2. Рахманова А.Г., Воронин Е.Е., Фомин Ю.А. «ВИЧ-инфекция у детей», С-Пб, 2003, 440 с.
3. Hoffman C, Rockstroh «HIV 2009», Hamburg, 2009, 670 с.