

Медицински университет – София

Факултет по медицина

Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина

**СПЕЦЕАЛИЗИРАНА БОЛНИЦА ЗА АКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ ПО ИНФЕКЦИОЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ
„ПРОФ. И. КИРОВ” ЕАД, ГР.СОФИЯ**

Д-р Ивайло Еленков

**Антиретровирусна терапия – ефективност. Собствено проучване при HIV-1 инфектирани
пациенти за периода 1999-2009 година**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор”

София, 2014

Медицински университет – София

Факултет по медицина

Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина

**СПЕЦЕАЛИЗИРАНА БОЛНИЦА ЗА АКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ ПО ИНФЕКЦИОЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ
„ПРОФ. И. КИРОВ” ЕАД, ГР.СОФИЯ**

Д-р Ивайло Еленков

**Антиретровирусна терапия – ефективност. Собствено проучване при HIV-1 инфектирани
пациенти за периода 1999-2009 година**

АВТОРЕФЕРАТ

На дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор”

Научна специалност: Инфекциозни болести,

шифър 7.1. Медицина

Научен ръководител

Проф. Д-р Татяна Червенякова, дмн

Официални рецензенти

Проф. Д-р Мария Николова, дмн

Проф.д-р Камен Плочев, дмн

София, 2014

Дисертационният труд съдържа 163 страници, онагледен е с 46 таблици, 13 фигури и 12 графики. Книгописът съдържа 343 заглавия, от които 6 на кирилица и 337 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от разширен Катедрен съвет (вътрешна защита) на Катедрата по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина с протокол № 1 от 23.04.2014 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 06.10.2014г. от 13ч. в аудиторията на Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина, гр.София, бул.“Акад.Иван.Ев.Гешов“ №17, съгласно чл.76 и чл.77 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ-София и въз основа на заповед № РК 36-967/ 30.05.2014г. на МУ-София, пред научно жури в състав:

Председател:

Проф. д-р Татяна Петрова Червенякова, дмн

Членове:

Проф. д-р Мария Християнова Николова, дмн

Проф. д-р Камен Сотиров Плочев, дмн

Проф. д-р Христо Борисов Тасков, дмн

Проф. д-р Златко Николов Кълвачев, дмн

Резервен член:

Доц. д-р Атанас Христов Мангъров, дм

Материалите по защитата на дисертационния труд са публикувани на интернет на страницата МУ- София и са разположение при секретаря на Катедрата по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина.

Забележка: Номерацията на фигурите и таблиците отговаря на тази в в дисертационния труд

Използвани съкращения

AIDS	синдром на придобита имунна недостатъчност
cART	комбинирана антиретровирусна терапия
CD4+T	CD4 Т лимфоцити или CD4 клетки
CDC	център за превенция и контрол на заболяванията на US
DHHS	департамент по здравеопазване на US
EACS	Европейска клинична асоциация по СПИН
ELISA	ензим свързан имуносорбентен тест
FDA	Агенция по храните и лекарствата на US
HAART	високоактивна антиретровирусна терапия
HbsAg	повърхностен антиген на хепатит В-вируса
HBV	хепатит В-вирус
HCV	хепатит С-вирус
HIV	човешки имунодефицитен вирус
HLA	човешки лимфоцитен антиген
IAS	международна СПИН асоциация
IVDUs	инжектиращи венозно наркотици
MSM	мъже , практикуващи секс с мъже
OI	опортюнистични инфекции
PR	протеаза
RT	обратна транскриптаза
VL	вирусен товар
ART	антиретровирусна терапия
BAART	високоактивна антиретровирусна терапия

ЕМЕА Европейска Агенция по лекарствата

HSE нежелани странични ефекти

AZT азидотимидин, зидовудин

3TC ламивудин

ddI диданозин

d4T ставудин

IDV индинавир

SQV саквинавир

LPV лопинавир

RTV ритонавир

EFV ефавиренц

NRTI нуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза

NNRTI ненуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза

PI протеазни инхибитори

1. Въведение

В края на 2011 г., броят на инфектираните с HIV достигна 34,2 млн. души, през същата година са регистрирани 2,5 млн. новозаразени, а починалите от AIDS са 1,7 млн. Около 6,860 човека се инфектират с HIV ежедневно, 2400 от които са под 25 годишна възраст. Максимално 8 млн. пациенти приемат антиретровирусна терапия по настоящем, докато други 8 млн. се нуждаят от нея в зависимост от указанията на специализираните ръководства кога да започнат (<500, <350, <200 CD4).

Целта за универсален достъп до лечение към 2015г. включва намаляване с 50% броя на новоинфектираните младежи (15 – 24 години), намаляване с 50% смъртността от туберкулоза, елиминиране на инфектирането при деца и намаляване на HIV – свързаната смъртност.

В България по данни на МЗ към края на 2012 г., официално са регистрирани 1 612 HIV-серопозитивни лица. За цялата година броят на новорегистрираните е 139, от които 108 мъже и 31 жени. Горната възрастова граница при мъжете е 63, при жените 56 години. Прави впечатление нарастналият дял на две от уязвимите групи – MSM 35 % и IVDU 26% от новорегистрираните. Особено тревожен е фактът, че 45% от новорегистрираните са млади хора на възраст под 29 години. В специализираните лаборатории през годината са изследвани 244 605 лица, а в мобилните кабинети - 50 741. В съответните центрове за наблюдение и лечение са регистрирани 816 от HIV -позитивните лица, като 518 от тях получават антиретровирусна терапия.

Антиретровирусната терапия е една от най-бурно развиващите се области в съвременната фармакология и медицина, довела до драматични промени в продължителността на живота, заболяванията и смъртността при пациентите, инфектирани с HIV. Макар и все още далеч от крйната си цел – радикалното лечение, тя е основен формиращ фактор за качеството на живота им. У нас започна да се прилага през 1999 г., продължава и към настоящия момент като непрекъснато се променя и осъвършенства в унисон с динамичните съвременни тенденции. Натрупаха се значителен обем резултати в хода на нейното прилагане и проследяване. Наблюдава се и промяна в качеството и продължителността на живота на пациентите. Към настоящия момент у нас няма проучвания, които да оценят медико-социалното значение на терапията въз основа на резултатите и настъпилите промени. Извън тесния кръг специалисти, профилирани в тази област, проблемът ХИВ/СПИН остава все още чужд, неразпознаваем и дори negliжиран за голяма част от медицинското съсловие. Целта ни е да премахнем границите на това статукво и достиженията ни да послужат за база и коректив на бъдещи практики и стратегии.

2. Цел и задачи

ЦЕЛ:

Проучване на ефекта от провежданата антиретровирусна терапия и влиянието на някои демографски, епидемиологични, клинично-терапевтични и психо-социални фактори върху него за десетгодишен период от време при пациенти с HIV-инфекция, лекувани с различни лекарствени комбинации.

ЗАДАЧИ:

1. Да се проследи динамиката на отклоненията от нормата на CD4+T -лимфоцитите и нивото на вирусния товар на фона на провежданата АРТ за целия период на проучването и между отделните му интервали.
2. Да се определи влиянието на факторите възраст, пол, трансмисивна категория, предхождаща моно- и битерапия, вирусна резистентност, изходен брой на CD4+T -клетките при започване на АРТ, ко-инфекция с HCV/ HBV и степен на придържане към терапията върху ефекта от АРТ, чрез динамиката на отклоненията от нормата на CD4+T клетките и вирусния товар.
3. Да се проследи динамиката на средните отклонения в броя на CD4+T -лимфоцитите и нивото на вирусния товар на фона на провежданата АРТ.
4. Да се проследи влиянието върху ефекта от АРТ на всеки от горе изброените фактори, чрез проследяване на средните отклонения в стойностите на CD4+T -клетките и вирусния товар.
5. Да се проследи ефективността на АРТ чрез сравняване динамиката на средните на CD4+T -клетките и вирусния товар между различни терапевтични режими.
6. Да се направи обща оценка на заболяемостта и смъртността през наблюдавания период.
7. Да се направи оценка на влиянието на нивото на CD4+T -лимфоцитите и вирусният товар върху заболяемостта и смъртността.
8. Да се оцени преживяемостта и факторите, от които зависи. Да се изготви модел за продължителност на живота по Kaplan-Meier.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. Пациенти

В проучването са включени 1080 HIV- 1 инфектирани пациенти, български граждани. Те са лекувани и проследявани в Отделението за придобита имунна недостатъчност на Специализираната болница за активно лечение по инфекциозни и паразитни болести „Проф. И.Киров“, гр. София в периода 01.01.1999 – 31.12.2009 г.

Пациентите са разпределени в подгрупи, включващи пол, възраст, трансмисивна категория – хетеросексуални, хомосексуални (MSM), инжектиращи венозно наркотици (IVDUs), заразени по вертикален път – деца, родени от HIV-инфектирани майки, заразени с кръв и кръвни продукти – хемофилици. Подгрупа според наличие на предшестваща моно- и битерапия терапия, обозначена в таблица „1“ с „Предшестваща терапия“. Подгрупи според изходния брой на CD4 Т-лимфоцитите. Подгрупи, резистентни към NNRTIs, PIs и резистентни към поне един клас медикаменти. Подгрупа ко-инфектирани с HIV/ HCV/ HBV. Подгрупи според степента на придържане към терапията.

Всички пациенти в нашето проучване имат базисно изследване на вирусния товар и CD4+T-лимфоцитите преди започване на АРТ и поне две последователни такива годишно през 6 месечни интервали, за всички останали години на наблюдение. Отчита се липсата на данни за някои пациенти през определени периоди. (Таблица 3 и Таблица 4, Глава IV Резултати), поради което за периода на наблюдение в динамиката на CD4+T лимфоцитите се оформят 18, а за вирусния товар -15 шестмесечни интервали, като във всяка точка на наблюдение са анализирани минимум 50 валидни случая.

Пациентите са лекувани с комбинации, съдържащи най-малко три антиретровирусни медикамента. Съставът на комбинациите е променян в хода на лечението, там където са установявани данни за лекарствена непоносимост и нежелани реакции и вирусна резистентност.

3.2. Методи

3.2.1 Клинични: Анамнеза и статус:

При всяка визита на пациентите се извършва физикален преглед и се снима анамнеза

за субективното им състояние, придържането към терапията и наличие на странични реакции.

Беседа и психологическа подкрепа.

3.2.2. Лабораторни:

□ Имунологични

Определяне абсолютния брой на CD4+Т-лимфоцитите посредством директен имунофлуцитометричен метод.

Флуцитометричните изследвания са осъществени с апарати:

FACSCalibur (BD Biosciences), с два лазера и възможност за едновременен анализ на четири флуорохома;

FACSCanto II, с три лазера и възможност за едновременен анализ на шест флуорохома.

Софтуеърни продукти за събиране и анализ на пробите:

MultiSet ver. 1.1.0 - специализиран клиничен софтуер на (BD), за събиране и анализ на проби за имунофенотипизация, предназначен за флуцитометри, анализиращи до 4 флуоресцентни канала;

FACSCanto ver. 1.1.0 - специализиран клиничен софтуер на (BD), за събиране и анализ на проби за имунофенотипизация, предназначен за флуцитометри, анализиращи до 8 флуоресцентни канала.

Преди събиране на пробите параметрите на апарата бяха верифицирани посредством сертифицирани калибрационни материали, като част от рутинната процедура по калибриране на флуцитометъра. За целта са използвани калибрационни флуоресцентни микросфери (CaliBRITE 3, CaliBRITE – APC (за апарат FACSCalibur) и BD FACSCanto™ 7-color (за апарат FACSCanto) и софтуеър за автоматична настройка на времето на флуцитометъра.

Клиничният софтуеър BD FACSCanto (v2.0) автоматично изчислява абсолютния брой и процент на всяка от основните лимфоцитни субпопулации, което осигурява точност и възпроизводимост на резултатите. Отклоненията в абсолютния брой на CD4 Т лимфоцитите са отчитани на базата на референтни стойности на индивиди от кавказката раса, съответни по възраст на изследваните пациенти: средна (P5 - P95) 0.7 (0.4 - 1.6) ref. W.M. Commans - Bitter et al., J.Pediatr.1997, 130: 388 – 393.

Изследванията са извършени в Националната референтна лаборатория по имунология, НЦЗПБ, МЗ
Ръководители Проф.д-р Христо Тасков и Проф.д-р Мария Николова.

□ Вирусологични

Определяне нивото на вирусния товар.

Методите за определяне на VL на пациентите, включени в нашето наблюдение са следните:

PCR – CobasAmpligor HIV-1, v.1.5 (Roche)

Праг на чувствителност на метода: От 400 до 1 млн вирусни копия/мл;

Real-time PCR – апаратура AmpliPrep и Taq Man 48

Тестове – COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV -1 Test, v.2.0 (Roche)

Праг на чувствителност на метода: От 20 до 10 млн вирусни копия/мл;

Branch DNA – VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay/bDNA (Siemens)

Праг на чувствителност на метода: От 50 до 750 000 вирусни копия/мл.

Генотипиране чрез секвенционен анализ за установяване на мутации отговорни за антиретровирусната резистентност

Апаратура - TrueGene DNA Sequencing system, Open Gene (Siemens)Тест - TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit (Siemens).Необходимо е вирусният товар да е над 1000 копия/мл

Диагностика на ХИВ инфекция

Две последователни ELISA (4-то поколение), едновременно откриващи Аг/Аг – анти-НИВ антитела и НИВ антиген (p24Аг)

Диагностиката на HIV-инфекцията и мониторирането на вирусния товар са извършени в Националната потвърдителна лаборатория по ХИВ, НЦЗПБ, МЗ с ръководител Гл.ас. Д-р Данаил Бешков.

□ Серологични

Диагностика на хепатитите

Диагностиката на хепатитите са базира на откриването на HbsAg и анти- HCV антитела, чрез ELISA.

Изследванията са извършени в Националната референтна лаборатория за диагностика на хепатити, НЦЗПБ, МЗ с ръководител Доц.д-р Павел Теохаров

3.2.3.Статистическите обработки са направени със SPSS 13.0 софтуерна програма при ниво на значимост за отхвърляне на нулевата хипотеза $p < 0,05$.

Извършен е описателен анализ с помощта на групировки по един или няколко признака, обобщаващи показатели – относителен дял, средна аритметична, медиана, мода. Проведен е също така диагностичен анализ за оценка на наличието на статистически значими ефекти чрез проверка на статистически хипотези относно наличие на определена връзка и разлика между средни аритметични.

- Използвани са параметрични анализи (едномерни ANOVA и Paired Sample ,T–Test както и многомерните модели Repeated Measures Analyses).
- Изпозвани са също така показатели за оценка на статистическата значимост на конкретни поднива на анализирани променливи (LSD и Tamhane’s T2) и непараметричните им анализи (*Man-Whitley U* и *Wilcoxon*).
- Изчислявани са „точни“ емпирични показатели на Фишер (Fisher exact test) за взимане на решение за тествания ефект.
- За статистическа оценка на преживяемостта са използвани таблици на преживяемост и Kaplan-Meier анализ.

4. Резултати

4.1. Демографска, епидемиологична и клиничко-лабораторна и психо-социална характеристика на пациентите

Таблица 1.: Разпределение на пациентите по подгрупи в зависимост от изследваните фактори

Изследвани фактори		Брой	%	Валиден процент
Пол	Мъже	814	75,4%	75,4%
	Жени	266	24,6%	24,6%
Възраст	до 50 г.	999	92,5%	92,5%
	51+ г.	81	7,5%	7,5%
Начин на заразяване	Хетеросексуални	614	56,9%	59,7%
	Хомосексуални	159	14,7%	15,5%
	Венозни наркомани	234	21,7%	22,8%
	Хемофилици	11	1,0%	1,1%
	Вертикален механизъм	10	0,9%	1,0%
	Липсват данни	52	4,8%	
CD4 групи	CD4 <100	245	22,7%	25,9%
	CD4 >=100 and CD4 <=200	101	9,4%	10,7%
	CD4 >200	601	55,6%	63,5%
	Липсват данни	133	12,3%	
Предшестваща терапия	Да	28	2,6%	2,6%
	Не	1052	97,4%	97,4%
Резистентност към NNRTI	Да	25	2,3%	2,3%
	Не	1055	97,7%	97,7%
Резистентност към PI	Да	34	3,1%	3,1%
	Не	1046	96,9%	96,9%
Резистентност към поне един клас медикаменти	Да	75	6,9%	6,9%
	Не	1005	93,1%	93,1%
Придържане към терапията	Добро	472	43,7%	81,0%
	Лошо/променливо	111	10,3%	19,0%
	Липсват данни	497	46,0%	
HCV/HBV ко-инфекция	Да	81	7,5%	7,5%
	Не	999	92,5%	92,5%

Общо пациенти

1080

Водещ е хетеросексуалният механизъм на заразяване – 614 (59,7%), следван от венозните наркомани, съответно 234(22,8%) и хомосексуалния механизъм – 159(15,5%). Най-нисък е относителният дял на децата, заразени по вертикален път – 10(1%), като близко до тях са хемофилиците -11(1,1%).

601(63,5%) от пациентите са започнали АРТ с CD4-клетки > 200с/μl, като същевременно относителния дял на тези с CD4-клетки < 100с/μl не е за пренебрегване – 245(25,9%).

Нисък е относителният дял на пациентите, лекувани с един или 2 медикамента преди да стартират сART – 28(2,6%).

Резистентност към един клас медикаменти са проявили 75(6,9%), към групата на протеазните инхибитори 34(3,1%), а към групата на нуклеозидните инхибитори на обратната транскриптаза 25(2,3%) от изследваните пациенти.

Добро придържане към терапията са имали 472(81%), а променливо и лошо – 111(19%) души.

Ко-инфектирани с HCV/HBV-инфекция са били общо 81(7,5%) от наблюдаваните пациенти.

Таблица 2. : Разпределение на пациентите по пол и възраст

Възраст	Пол	Брой пациенти	%	Средна възраст
до 50 г.	Общо	999	92.50%	29.78
	Мъже	753	69.72%	31.10
	Жени	246	22.78%	28.61
51+ г.	Общо	81	7.50%	56.96
	Мъже	61	5.65%	57.66
	Жени	20	1.85%	54.85
Общо		1080		31.35

Преобладава мъжкият пол –814(75,4%), срещу 266(24,6%) жени.

92,50% от пациентите са в млада възраст, като средната им възраст е 29,78 години.

Средната възраст при пациентите над 50 г. е 56,96 години, а средната възраст на всички пациенти е 31,35 г.

4.2. Да се проследи динамиката на отклоненията от нормата на CD4+T -лимфоцитите и нивото вирусният товар на фона на провежданата АРТ .

Общо ниво

Таблица 3. Динамика на отклоненията на вирусния товар по изследвани 6-месечни интервали

Показател		В	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Общо
Брой Валидни	Общо	1017	636	506	423	370	319	284	255	220	190	170	153	140	123	110	4916
Брой Липсващи данни	Общо	94	475	605	688	741	792	827	856	891	921	941	958	971	988	1001	11749
Брой Извън норма	Общо	949	464	326	259	206	178	152	130	113	95	67	58	55	56	44	3152
% Извън норма	Общо	93.3%	73.0%	64.4%	61.2%	55.7%	55.8%	53.5%	51.0%	51.4%	50.0%	39.4%	37.9%	39.3%	45.5%	40.0%	64.1%
Сравнения между интервалите*		2-В	3-2	4-3	5-4	6-5	7-6	8-7	9-8	10-9	11-10	12-11	13-12	14-13	15-14		
Общо		ЗР	ЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	

* ЗР - статистически незначима разлика (p>=0.05)
НЗР - статистически значима разлика (p<0.05)

Според анализирания данни, представени в горните таблица, 949 (93,3 %, n=1017) от нашите пациенти са със стойности на вирусния товар над прага на откриваемост при стартирането на HAART. В края на периода на наблюдението броят им спада до 44 (40 %, n=110). Установената разлика между началото и края на проучвания период е статистически значима, $p < 0,05$. Статистически значимо отклонение се отчита също между първия и втория и втория и третия интервали, съответно $-485(20,3\%)$, $p < 0,05$ и $138(8,6\%)$, $p < 0,05$.

Таблица 4. Динамика на отклоненията от нормите за CD4 по изследвани 6-месечни интервали

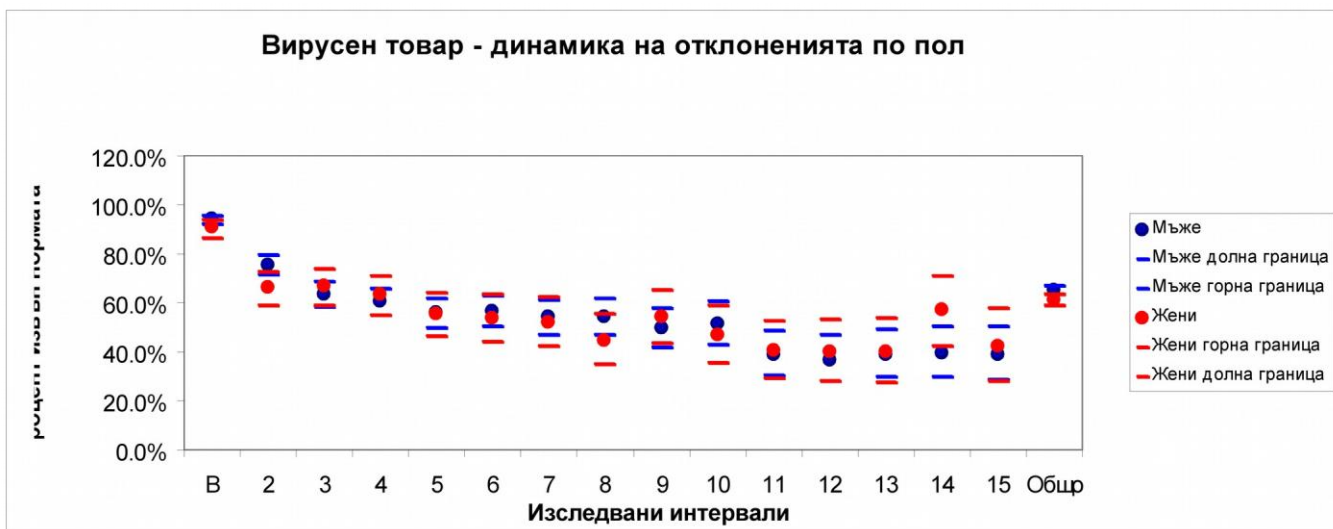
Показател		В	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Общо
Брой Валидни	Общо	947	654	547	472	415	373	342	293	252	227	201	181	170	155	139	128	115	99	5710
Брой Липсващи данни	Мъже	164	457	564	639	696	738	769	818	859	884	910	930	941	956	972	983	996	1012	14288
Брой Извън норма	Общо	657	455	389	325	293	253	224	193	151	141	115	99	86	71	55	55	45	41	3648
% Извън норма	Общо	69.4%	69.6%	71.1%	68.9%	70.6%	67.8%	65.5%	65.9%	59.9%	62.1%	57.2%	54.7%	50.6%	45.8%	39.6%	43.0%	39.1%	41.4%	63.9%
Сравнения между интервалите*		2-В	3-2	4-3	5-4	6-5	7-6	8-7	9-8	10-9	11-10	12-11	13-12	14-13	15-14	16-15	17-16	18-17		
Общо		НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	НЗР	

* ЗР - статистически незначима разлика (p>=0.05)
НЗР - статистически значима разлика (p<0.05)

При стартирането на терапията броят на пациентите с по-ниски стойности на CD4 е 657 (69,4 %, n=947). В крайния етап на наблюдението той спада до 41 (41,4 %, n=99). Общото отклонение, отчетено за целия период е статистически значимо, $p < 0,05$.

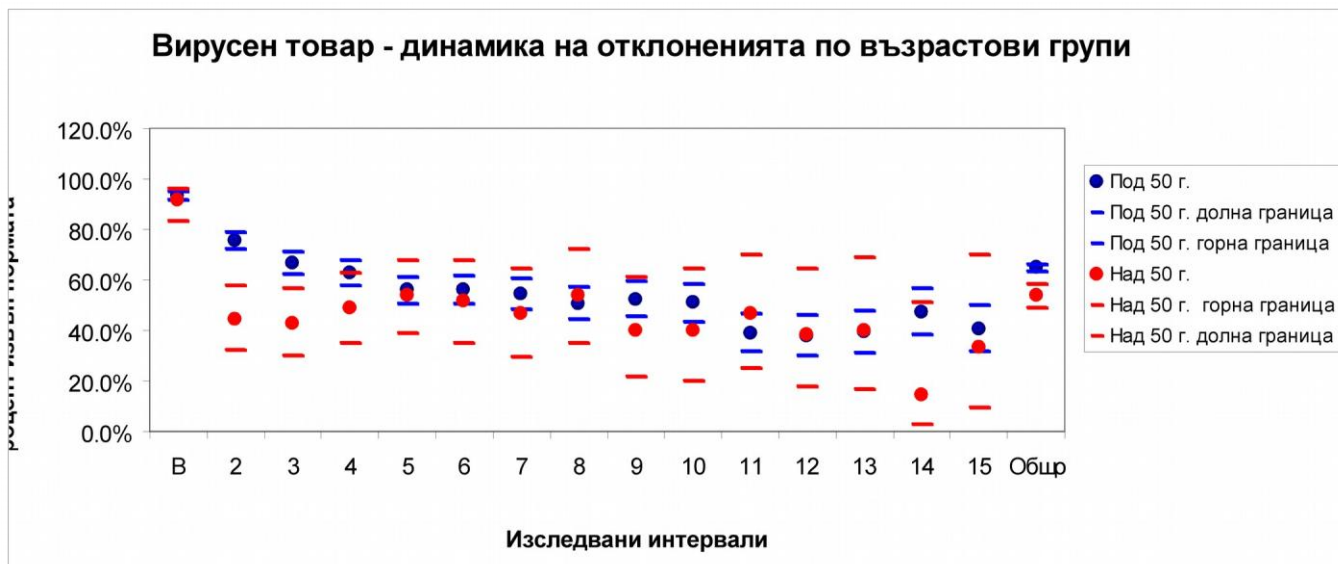
4.3. Да се определи влиянието на възрастта, пола, механизма на заразяване, наличието на предхождащо субоптимално лечение, наличието на лекарствена резистентност, изходния брой на CD4+T -клетките при започване на АРТ, наличието на ко-инфекция с HCV/HBV и степента на придържане към терапията, върху ефекта от АРТ, чрез динамиката на отклоненията от нормата на CD4 и вирусния товар.

Фигура 4: Динамика на отклоненията на VL между интервалите по пол



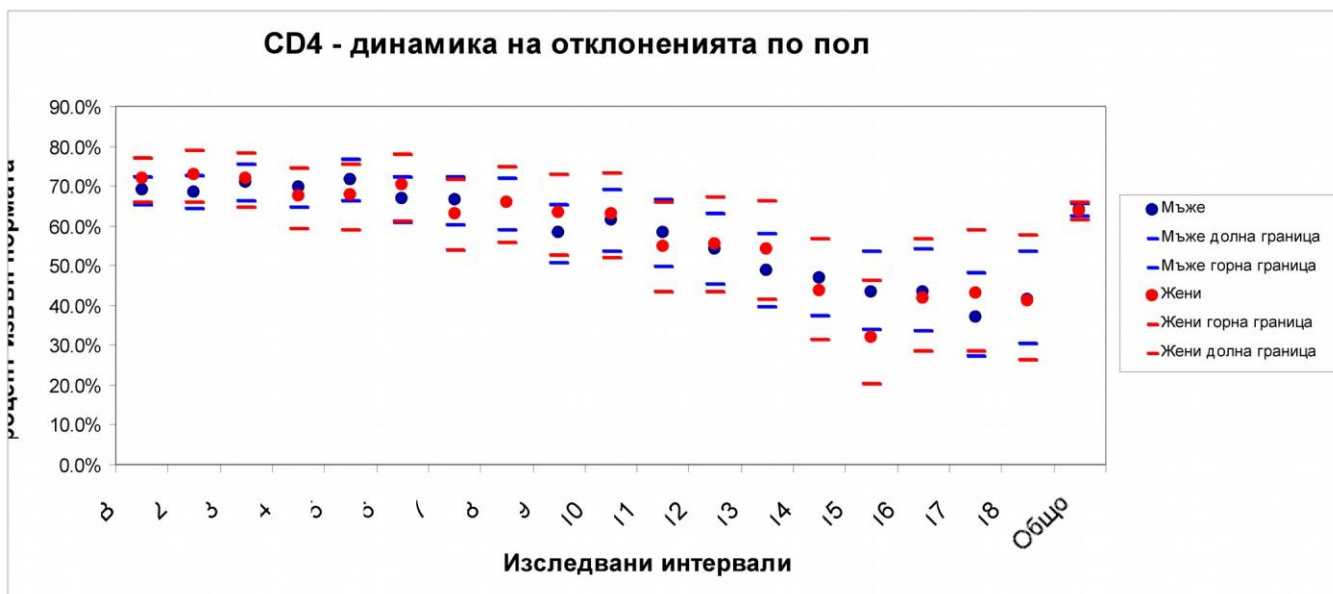
„Фигура 4” изобразява динамиката на отклоненията между интервалите с изградени интервали на доверителност, като ги сравнява между жените и мъжете. Там където символите им се припокриват или застъпват няма статистически значима разлика в отклоненията на сравняваните фактори. При общата оценка в края на фигурата се вижда, че символите за пол се доближават без да се застъпват, т.е. – има статистическа разлика. Мъжете имат по-висок вирусен товар от жените, $p < 0,05$ (65,3% срещу 61,1%, CI 95%).

Фигура 5: Динамика на отклоненията на VL между интервалите по възраст



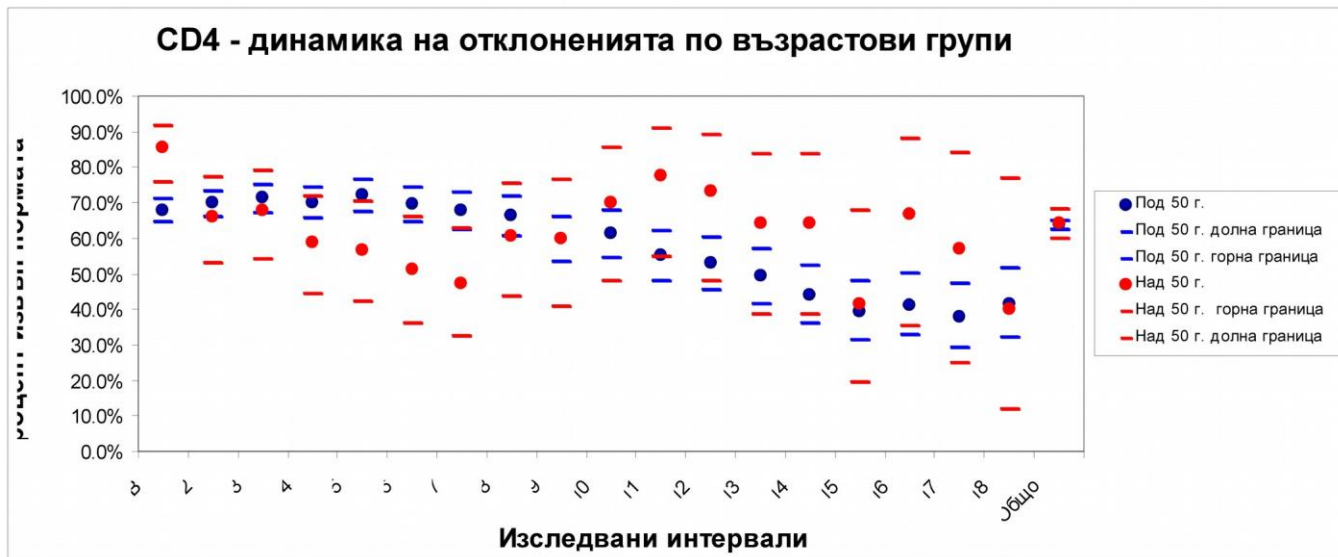
Тук изобразените символи показват значителна статистическа разлика между двете възрастови групи – под 50 и над 50 г., която личи както между отделните интервали, така и в края на общо ниво. Установява се, че групата над 50 г. възраст има по-малко отклонения от нормата, т.е. по-нисък вирусен товар, $p < 0,05$ (53,7% срещу 65%, CI95%).

Фигура 6: Динамика на отклоненията на CD4 между интервалите по пол



Изградените интервали на доверителност в по-голямата си част се припокриват по сравняваните интервали, така също и на общо ниво, следователно няма статистическа разлика между наблюдаваните фактори.

Фигура 7: Динамика на отклоненията на CD4 между интервалите по възраст



Отклоненията на CD4+T -лимфоцитите при двете възрастови групи не се различават на общо ниво в края на периода на наблюдение.

Представената таблица 8 представя обобщените резултати за влиянието на факторите „в статика”, т.е. дали наличието на проява на определен фактор води до различни дялове на отклонения от нормите като цяло или за определен период.

Таблица 8: Обобщение на проявена статистическа значимост на изследвани фактори относно динамиката на отклоненията за вирусния товар и CD4.

Значими ефекти		
Фактор	CD4	VL
пол	2	1
възраст	2	1,2
изходен брой CD4	1,2	1,2
предшестваща субоптимална АРТ	2	1,2
Резистентност към NNRTI	1,2	1,2
Резистентност към PI	1,2	2
Резистентност към поне един клас АРВ медикаменти	1,2	2
HBV/HCV ко-инфекция	1,2	1,2
Придържане към терапията	1,2	1,2

1 - на общо ниво ; 2 - в динамика

Маркировка 1 означава, че се наблюдава статистически значимо влияние на фактора само на сумарно ниво (всички визити взети заедно, т.е. за целия анализиран период). Маркировка 2 означава, че са налице статистически значими различия спрямо общото ниво за определени интервали (не задължително за всички). 1,2 означава, че се наблюдава значимо влияние по интервали, както и за тяхното обединяване.

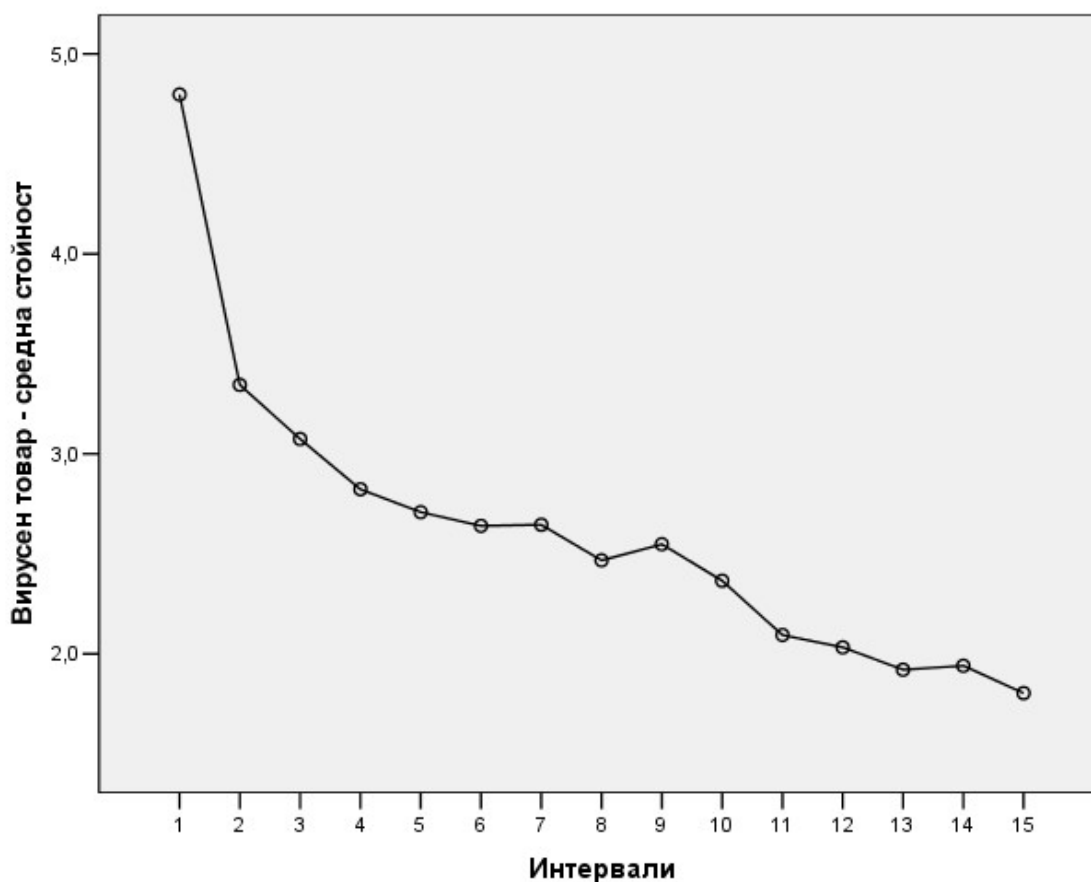
По отношение на имунологичния отговор статистически значимо влияние показват факторите базисно ниво на CD4-клетките, резистентност, HBV/HCV ко-инфекция, придържане към терапията. По отношение на вирусологичния отговор влияят също ко-инфекциите и придържането към терапията, както и възраст, базисно ниво на CD4- клетките, резистентността, предхождаща терапия.

4.4. Да се проследи динамиката на средните стойности в броя на CD4+Т -лимфоцитите и нивото на вирусния товар на фона на провежданата АРТ на общо ниво.

Анализ на средните – на общо ниво

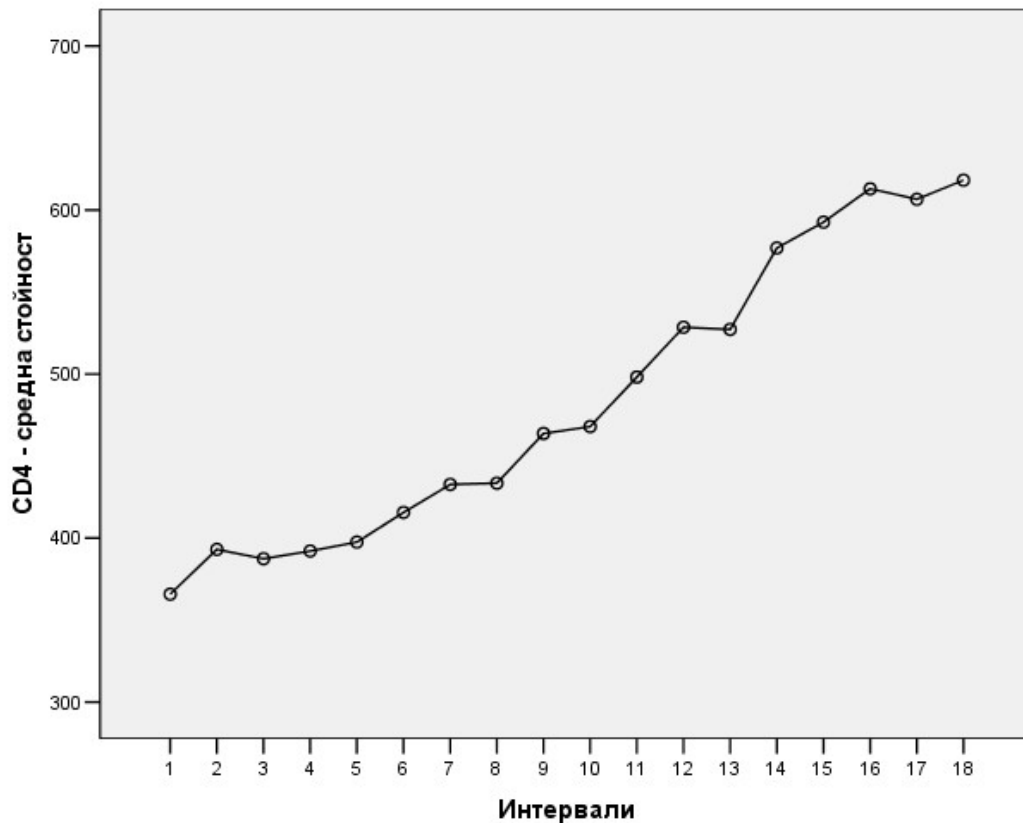
Приложен е диагностичен вариационен многомерен анализ (GeneralLinearModel – RepeatedMeasures) за оценка на динамиката на анализираниите средни нива (за вирусен товар и CD4), както и за оценка на влиянието на определените тествани фактори.

Графика 1: Графика 1: Динамика на Вирусния товар ($\text{Log}_{10}\text{HIV RNA}$ копия/ml)



- Разликата между първия и втория интервал в проследяването на VL се измерва с $1,45 \text{ Log}_{10}$ (30 копия/ ml). Между 1-ия и 3-ия - $1,73 \text{ Log}_{10}$ (75 копия/ ml), а между базисния и крайния интервали е $3,0 \text{ Log}_{10}$ (1000 копия/ ml);

Графика 2: Динамика на CD4+T -лимфоцитите (клетки/μl)



- Нарастването броя на CD4+T -лимфоцитите между първия и втория интервал е с 27,32 клетки/μl, а разликата между началото и крайния интервал е 252,44 клетки/μl.

Отчита се наличие на значима разлика в средните стойности – статистически значимо намаление на VL и увеличение за CD4 (p=0.00) между цитираните интервали на наблюдението.

По-долу представената „**таблица 13**“, обобщава резултатите от проведения диагностичен анализ за оценка на влиянието на различните тествани фактори, изложени в Таблицы 6 и 7 в Приложението, стр. 154 и 155 (специфицирани като „Изследвани фактори“) върху резултатите за Вирусния товар и CD4. Представени са само статистически значимите ефекти, в скоби са дадени „p“стойностите – всички помалки от 0.05. Значимостта е тествана на общо ниво, което показва дали има определена разлика между нивата на даден фактор като цяло, а също така и в динамика – дали има определено влияние, което се проявява по-различен начин за различните интервали.

Таблица 13: Обобщен диагностичен анализ за влиянието на факторите върху средните стойности на вирусния товар и CD4-клетките

Изследвани фактори:		Пол, Възраст, Механизъм на заразяване, Начални групи за CD4, Алтернативна терапия, NNRTI, PI Резистентни към поне един клас медикаменти (RI), Придържане към терапията, Инфекция	
Значими фактори:			
Вирусен товар		CD4	
Общо ниво	Динамика	Общо ниво	Динамика
RI (0.035)		Възраст (0.015)	Възраст (0.010)
Придържане към терапията (0.000)		Начални групи за CD4 (0.000)	Начални групи за CD4 (0.000)
		Алтернативна терапия (0.012)	
		NNRTI (0.000)	
		PI (0.000)	
		RI (0.000)	
		Придържане към терапията (0.000)	Придържане към терапията (0.029)
		Инфекция (0.000)	Инфекция (0.000)

- По отношение на VL на общо ниво влияние оказват резистентността към поне един клас медикаменти и придържането към терапия;
- На „Общо ниво“ по отношение на имунологичния отговор, това са възраст, начин на заразяване, групи на стартиране на терапията според базисната стойност на CD4, вирусна резистентност към NNRTI, PI и към поне един клас медикаменти, придържане към терапията, ко-инфекция HIV/ HCV/ HBV;
- Полът не оказва статистически значимо влияние върху средните стойности на вирусния товар и CD4-клетките, поради което не поместваме резултатите от анализа му в следващата глава.

4.5. Индивидуален анализ на факторите, показали значимост на влияние върху АРТ при оценката на отклоненията от нормата и отклоненията на средните стойности

4.5.1.Възраст

Средните нива за CD4+T -лимфоцитите в двете възрастови групи, както и тяхната динамика са представени на графика 3(виж по-долу). От приложените анализи – проучване на едномерен и двумерен ефект (Табл. 14, по-долу) се вижда, че възрастта е статистически значим фактор за CD4+T – клетките, $p < 0,05$

Таблица 14. Проучване на едномерен и двумерен ефект за значимост

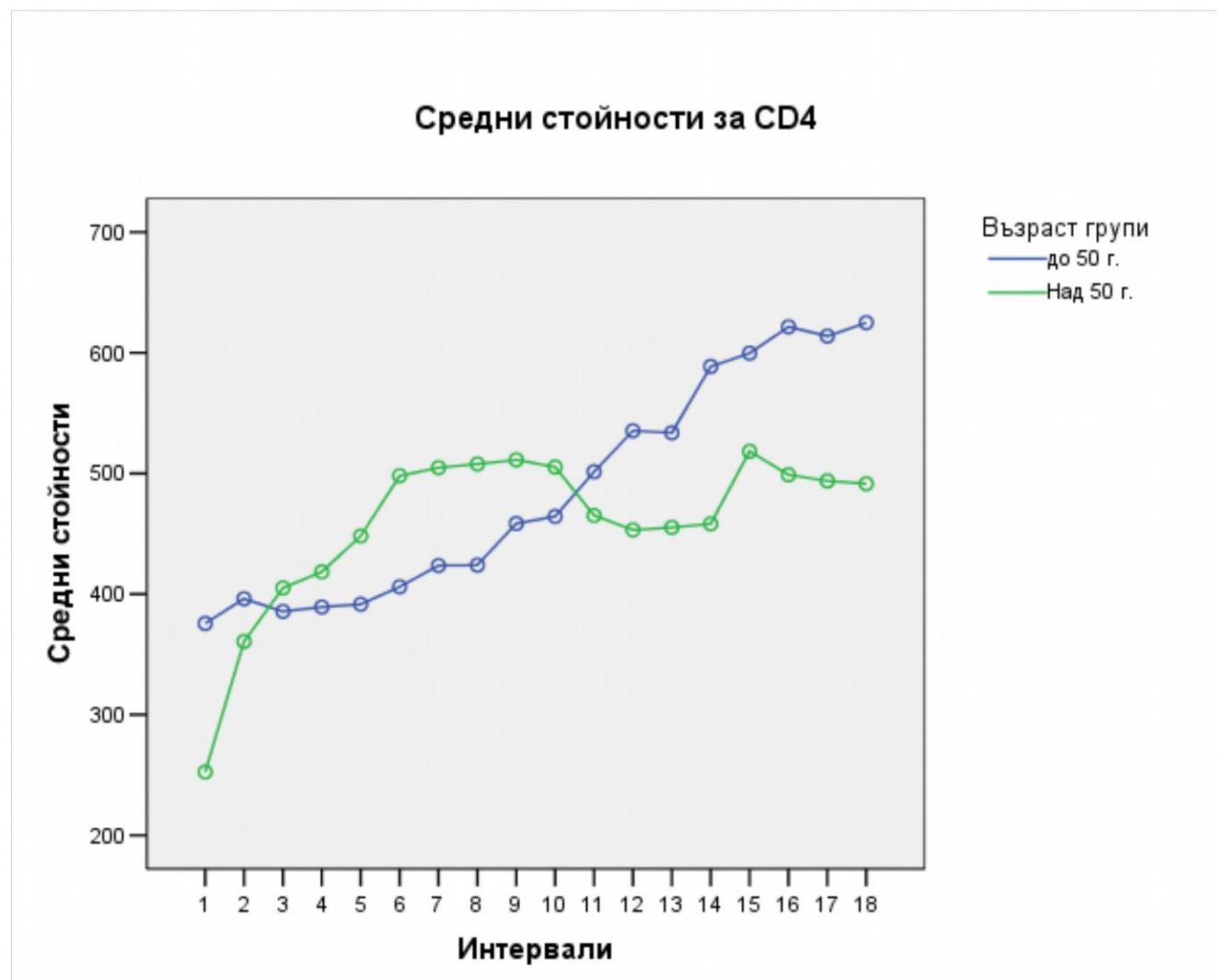
Възраст групи	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
До 50 г.	516.0032422	5.044699743	506.1137976	525.8926868
Над 50 г.	461.5570713	21.72574564	418.9667153	504.1474272

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.015$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.010$



4.5.2.Механизъм на заразяване

Фигура 9. (съдържа Таблица 16 и графика 4)

Таблица 16: Проучване на едномерен и двумерен ефект на значимост. Графика 4

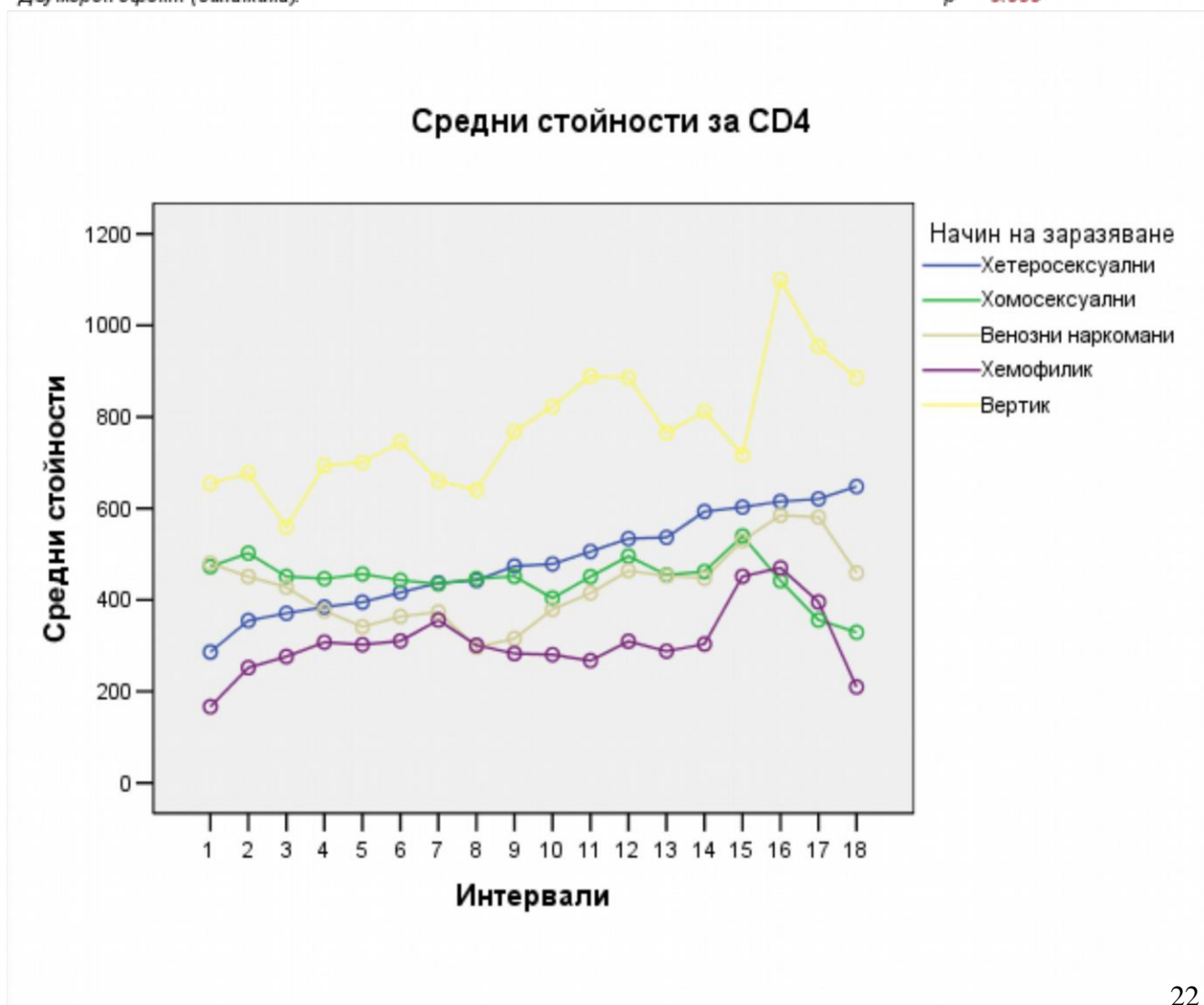
Начин на заразяване	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Хетеросексуални	517.71	5.20	507.52	527.90
Хомосексуални	429.67	34.33	362.37	496.96
Венозни наркомани	457.40	21.78	414.69	500.11
Хемофилик	299.47	24.87	250.72	348.23
Вертик	784.23	37.65	710.43	858.04

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.000$



4.5.3. Начални групи на CD4+

Приложеният сравнителен анализ на средните доказва, че изходния брой на CD4+T -лимфоцитите е без значение за вирусологичния отговор на фона на провежданата АРТ, $p > 0,05$ в нашето проучване (Табл.13, Глава IV).

Оценявайки динамиката на имунологичния отговор (CD4+T -лимфоцитите) в хода на терапията, обаче, откриваме коренна разлика:

Фигура 10: (съдържа Таблица 17, графика 5)

Таблица 17: Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

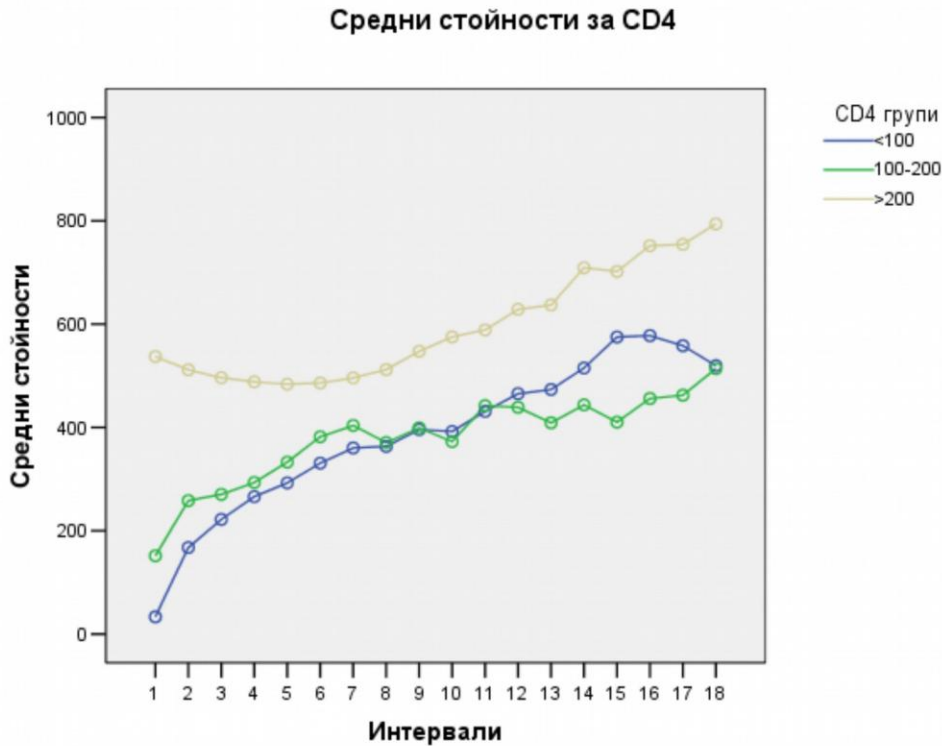
CD4 групи	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
1 <100	421.64	6.74	408.42	434.86
2 100-200	404.26	9.86	384.93	423.59
3 >200	634.21	7.06	620.37	648.05

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.000$



Установява се значим ефект за CD4+T -лимфоцитите, според сравнителният анализ, $p < 0,05$.

Таблица 18: Сравнителен анализ между групите, всяка една със другите две

(I) CD4 групи	(J) CD4 групи	Разлика в средните (I-J)	Стандартна грешка	p	95% Доверителен интервал	
					Долна граница	Горна граница
1 <100	2 100-200	17.38	11.95	0.146	-6.04	40.80
	3 >200	-212.57	9.76	0.000	-231.71	-193.43
2 100-200	1 <100	-17.38	11.95	0.146	-40.80	6.04
	3 >200	-229.95	12.13	0.000	-253.73	-206.17
3 >200	1 <100	212.57	9.76	0.000	193.43	231.71
	2 100-200	229.95	12.13	0.000	206.17	253.73

Сравнителният анализ по групи - на всяка подгрупа с другите две установява:

- Първите две групи (под 100 и 100 - 200) не са статистически различни по наблюдаваните нива на CD4 като цяло за целия период на изследване. Другите две двойки сравнения показват статистически значими резултати.
- Проявената динамика по групи е също така статистически значимо различна. За групата с най-високо CD4 при стартиране на терапията (>200), се наблюдава значително по-различно развитие по изследваните периоди спрямо другите 2 групи – Графика 5, по-горе.
- При пациентите от първата група, <100 клетки/μl , за първите 6 месеца се наблюдава средно нарастване с 33 клетки, а до края на годината – 167. Средният прираст до края на наблюдавания период достига 591 клетки.
- Във втората група, от 100 до 200 клетки μl, нарастването през първия период е средно със 151, през втория с 258, а в края на периода на наблюдение - 530 клетки/μl.
- Докато в третата група пациенти, започващи терапия с > 200 клетки/μl, се наблюдава следната динамика – изходно ниво 537, следва период на леко седловидно намаление от изходното начало, което се възстановява в края на 9 -ия период (4,5 години) и финализира с средно ниво 835 клетки/μl.

4.5.4.Предшестваща терапия

Тук коментираме вирусологичния и имунологичен успех и неуспех на АРТ при две под- групи пациенти – тези, лекувани с моно- и би-терапия преди началото на HAART и групата на „наивните“ на АРТ , започнали комбинираната терапия през 1999 г.

Сравнителният анализ в динамиката на VL между двете групи не открива статистически значима разлика – $p > 0,05$, т.е. наличието на предшестваща HAART, субоптимална терапия не се отразява върху динамиката на вирусологичния отговор през следващите години (Таблица 13, Глава IV).

Анализът в динамиката на покачването броя на CD4+T -лимфоцитите показва зачим ефект на този фактор върху имунологичния отговор.

Таблица 19: Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

Art_alternative	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	514.23	5.66	503.15	525.32
Да	481.49	11.73	458.48	504.49

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.012$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.089$

Сравнителният тест между двете подгрупи установява, че пациентите с предшестваща терапия имат по-ниски стойности за CD4. Динамиката на тези стойности обаче, не се различава статистически значимо от общата, т.е. следват представената на общо ниво.

4.5.5.Резистентност и успех на терапията

Резистентност към NNRTI's

Таблица 20: Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

Резистентност на NNRTI	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	519.65	5.13	509.59	529.70
Да	418.66	15.98	387.34	449.98

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.165$

Резистентните на NNRTI's пациенти имат статистически значимо по-ниски стойности за CD4, макар динамиката на тези стойности да не се различава статистически значимо от общата.

Резистентност към PI's (протеазни инхибитори), 21 пациенти

Отново, при анализирането на имунологичния отговор се установява статистически значим ефект ($p < 0.05$).

Таблица 21: Изпитване на едномерен и двумерен ефект

Резистентност на PI	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	530.84	5.44	520.18	541.50
Да	413.29	11.95	389.87	436.71
<i>Едномерен ефект (общо ниво, статика):</i>			<i>p = 0.000</i>	
<i>Двумерен ефект (динамика):</i>			<i>p = 0.978</i>	

Резис

тентните на PI's - пациенти имат статистически значимо по-ниски стойности за CD4+T -клетките. Динамиката на тези стойности не се различава статистически значимо от общата.

Резистентни към поне един клас медикаменти

Това е сборна група пациенти - 65 на брой, обединяваща пациенти от първите две групи, но включваща и такива, резистентни към класа NRTI- нуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза.

Значим ефект върху вирусологичния отговор се установява при влиянието на резистентността към поне един клас медикаменти. Сравнителният тест показва, че пациентите, резистентни на каква да е терапия са със статистически значимо по-високи средни на вирусния товар.

Таблица 22: Изпитване за едномерен и двумерен ефект на значимост

Резистентност на каква да е терапия	VL - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	2.34	0.12	2.10	2.58
Да	2.86	0.21	2.44	3.27
<i>Едномерен ефект (общо ниво, статика):</i>			<i>p = 0.035</i>	
<i>Двумерен ефект (динамика):</i>			<i>p = 1.000</i>	

Таблица 23: Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

Резистентност на каква да е терапия	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	555.35	5.80	543.98	566.72
Да	393.04	9.01	375.38	410.69

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.975$

Анализът на имунологичния отговор дава подобни резултати. Пациентите, резистентни на каква да е терапия са със статистически значимо по-ниски средни на CD4+T -лимфоцитите. Това е на общо ниво. Динамиката на тяхните средни нива не се различава статистически значимо от общата такава.

4.5.6. Придържане към терапията

Множество проучвания безспорно доказват степента на зависимост на вирусологичния успех от степента на придържането (adherence) към терапията. В нашето проучване, сравнително оценяваме влиянието на този фактор при две подгрупи пациенти:

- С добро придържане - 487 пациенти;
- С променливо и лошо придържане – 110 пациенти.

Влиянието на придържането се оценява като значим ефект върху динамиката на вирусологичния отговор ($p < 0.05$).

Таблица 24: Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

Придържане към терапията	VL - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Добро	2.22	0.03	2.17	2.28
Лошо/променливо	2.86	0.05	2.76	2.96

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.514$

Сравнителният тест по двойки установява, че пациентите с добро придържане към терапията имат по-ниски средни за вирусния товар.

По отношение на имунологичния отговор се установява значим ефект на влияние на степента на придържане, както на общо ниво, така и в динамика, както показват приложените във **Фигура 12** (съдържа Таблица 25 и Графика 6):

Таблица 25, Графика 6. Изпитване на едномерен и двумерен ефект на значимост

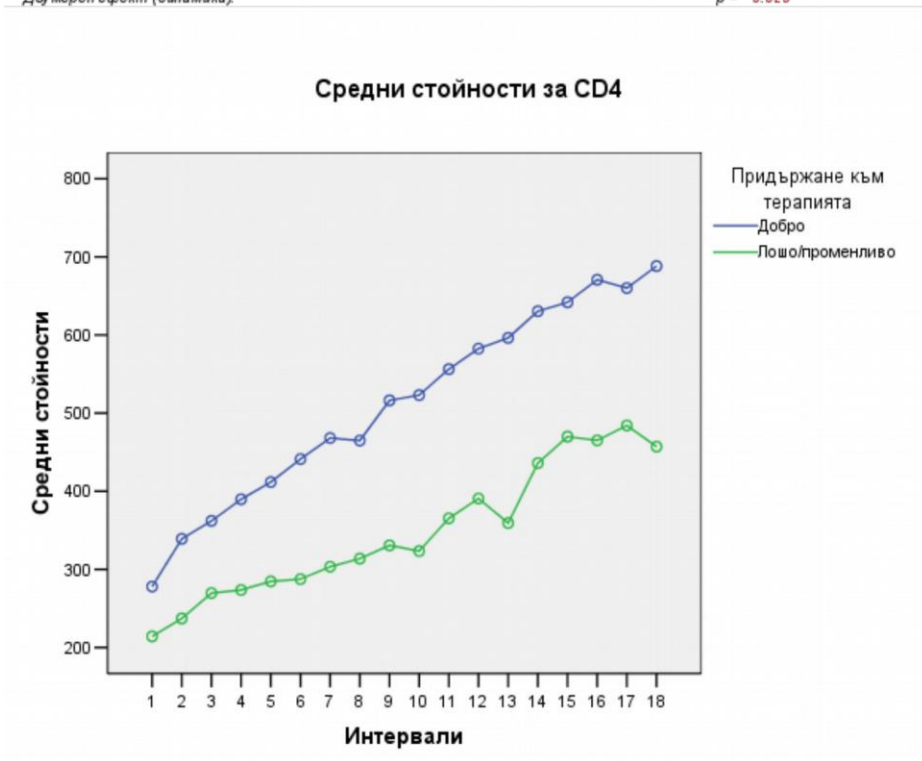
Придържане към терапията	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Добро	547.67	5.34	537.19	558.15
Лошо/променливо	375.30	8.54	358.57	392.03

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.029$



Пациентите с добро придържане към терапията имат по-високи средни за CD4. Динамиката на техните средни се различава статистически значимо между двете групи, пациентите с добро придържане към терапията имат по-силно нарастване на CD4.

4.5.7. Ко-Инфекция HIV/НСV/НВV

- При анализа на отклоненията на средните стойности на VL при ко-инфектираните пациенти – 75 на брой, от които 64 IVDUs и 11 хемофилици (включени са и двете ко-инфекции – НCVи НВV, заедно) не се установява статистически значима разлика с динамиката на кривата на контролната група – пациенти с HIV без ко-инфекции.
- Оценката на влиянието върху имунологичния отговор, както се очаква е – „значим ефект“, както е представено на Фигура 13; (съдържа Таблица 27 и Графика 7)

Таблица 27, Графика 7: Тестване на едномерен и двумерен ефект на значимост

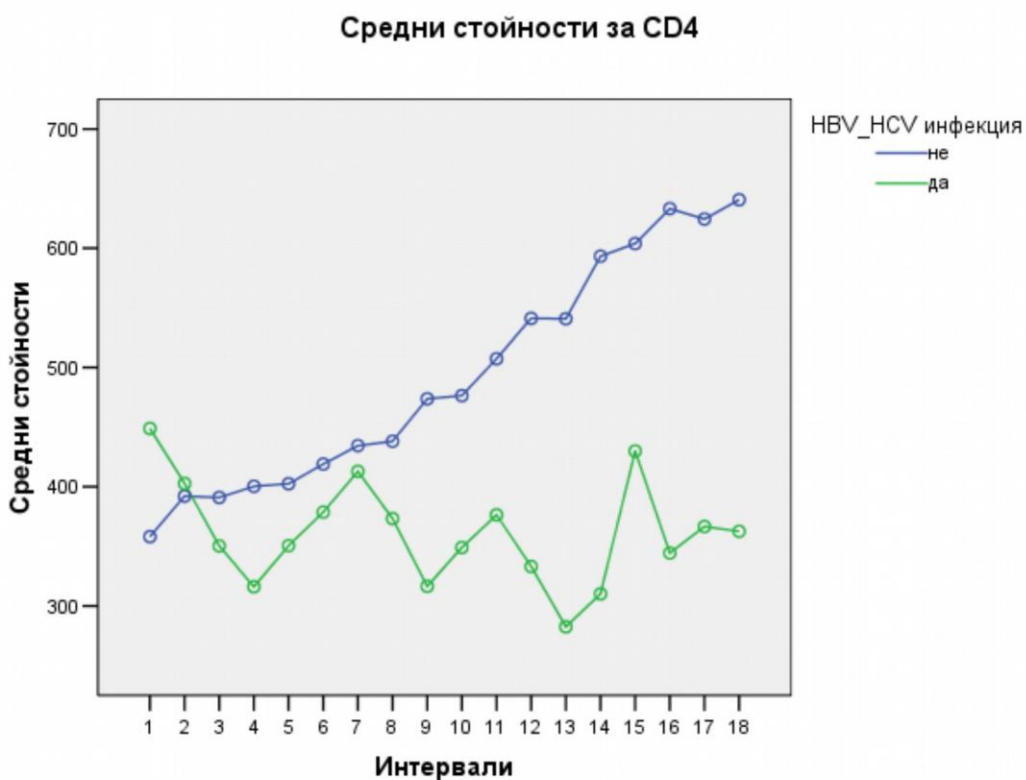
НВV/НСV инфекция	CD4 - Средна	Стандартна грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница
Не	523.75	5.05	513.85	533.64
Да	380.59	18.57	344.19	416.99

Едномерен ефект (общо ниво, статика):

$p = 0.000$

Двумерен ефект (динамика):

$p = 0.000$



Пациентите с ко- инфекция имат по-ниски средни за CD4. Динамиката на техните средни се различава статистически значимо между двете групи.

4.6. Сравнително проучване на ефекта от АРТ при приложението на различни терапевтични режими.

Сравнени са следните най-често използвани комбинации:

- **d4T+ddl+IDV/r** – обозначена за улеснение като К 1; 2 NRTI + PI, или PI– базиран режим ;
- **ZDV+3TC+SQV/r** обозначена за улеснение като К2; 2 NRTI + PI, или PI– базиран режим ;
- **3TC+ABC+LPV/r** - обозначена за улеснение като К 3; 2 NRTI + PI, или PI– базиран режим ;
- **EFV в съчетание с 2 NRTIs**- обозначена за улеснение като К 4 или NNRTI-базиран режим.

Проучването включва сравнение между „К1” и „К2”; между „К2” и „К3” и между „К3” и „К4”.

Таблица 30: Разлика в средните между К1 и К2 за вирусен товар

		VL			
K1K2	Средна	95% ДИ - долна граница	95% ДИ - горна граница	Брой	
1	2.44	2.26	2.61	161	
2	2.00	1.87	2.13	303	

p<0.05

Таблица 31:

Емпирични стойности на равнището на значимост (p)

	K1K2		K2K3		Едномерен ефект*	K3K4	
	Едномерен ефект*	Двумерен ефект**	Едномерен ефект*	Двумерен ефект**		Едномерен ефект*	Двумерен ефект**
VL	0.000	0.878	0.079	0.755	0.755	0.201	0.179
CD4	0.234	0.913	0.695	0.834	0.834	0.255	0.551

* Измерва различието на общо ниво (за всички периоди заедно)

** Измерва дали има значимо различие между изследваните лекарства период по период, което различие е различно от проявеното на общо ниво

Резултатите от проучените режими са съпоставими по ефикасност. Установеният при режима К1 по-слаб вирусологично супресиращ ефект се дължи най-вероятно на недобро придържане от страна на пациентите поради НСЕ. Броят на наблюдаваните резистентни мутации между сравняваните режими не се различава статистически. Други отклонения в рамките на това проучване не установяваме.

4.7. Клиничен успех и неуспех

Клиничният успех от HAART зависи от вирусологичния и имунологичния терапевтичен успех.

Таблица 5: за вирусологичен и имунологичен отговор

Отговор на АРТ	1999 – 2000 г.	2004 г.	2009 г.
Вирусологичен отговор	93,3% ; 64,4%	39,4%	40%
	n=1017 ; n=506	n=170	n=110
	P < 0,05(CI95%)		P < 0,05(CI95%)
Имунологичен отговор	69,4% ; 71,1%	57,2%	41,4%
	n=947 ; n=547	n=201	n=99
			P < 0,05(CI95%)

Статистически значима разлика в отклоненията за вирусния товар се отбелязва в рамките на двата начални интервала от стартирането на АРТ, т.е. през първата година. През следващите интервали тенденцията за трайно, продължаващо понижение се стабилизира. Статистически значима е и разликата между началото и края на периода. Постигнатият терапевтичен ефект по отношение на вирусологичния отговор за една година е устойчив за целия период на проучването.

Имунологичният отговор е парадоксален през първата година – отчита се леко завишаване на отклоненията от нормата(без статистическа значимост), но през следващите интервали в рамките на 4 години се синхронизира с тенденцията на понижение на вирусния товар. Статистически значима е разликата между началото и края на периода.

Да проследим как оценяваме развитието на AIDS и смъртността в нашето наблюдение.

Таблица 32: Брой и % починали пациенти през периода на наблюдение

Година	Брой починали лица	Извадка	%
1999	4	68	5.9 %
2000	2	78	2.6 %
2001	8	115	7.0 %
2002	4	132	3.0 %
2003	5	174	2.9 %
2004	11	208	5.3 %
2005	13	244	5.3 %
2006	11	295	3.7 %
2007	12	360	3.3 %
2008	12	404	3.0 %
2009	10	482	2.1 %
2010	13	581	2.2 %
2011	17	639	2.7 %
2012	16	555	2.9 %

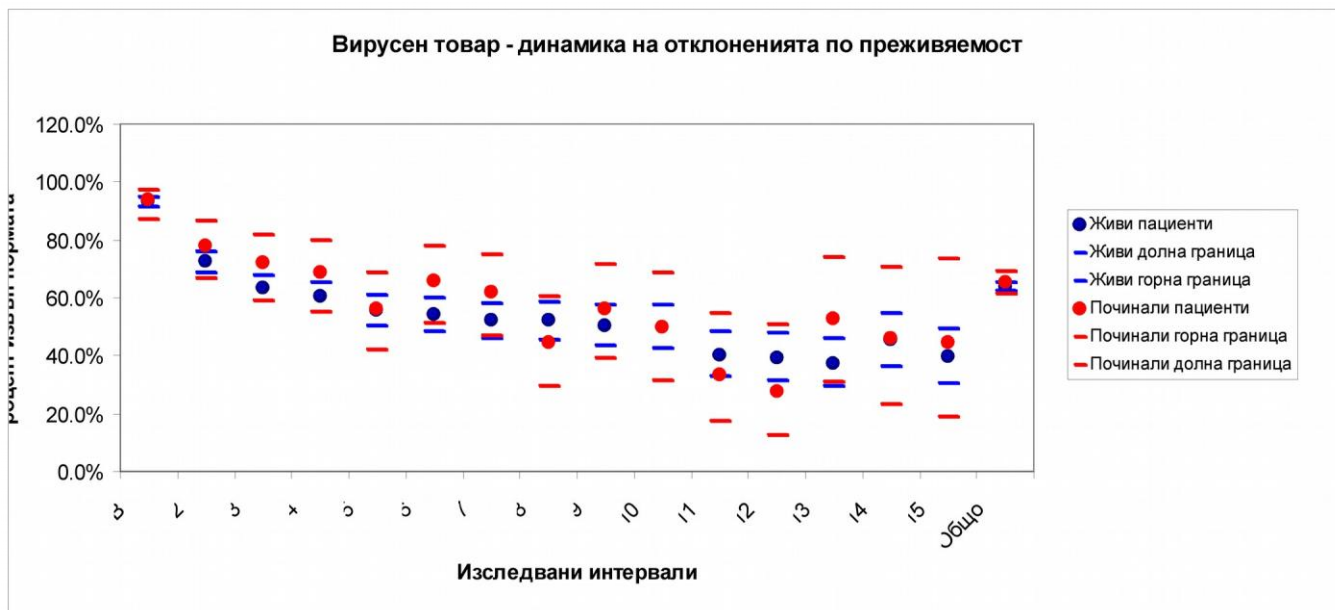
На таблица 32 е представено движението на смъртността от AIDS -определящи заболявания в абсолютен брой и в проценти, при пациентите на HAART, лекувани и починали в стационарни условия в нашата болница. Тези пациенти включват всички трансмисивни категории, включително венозни наркомани и пациенти с предшестващи епизоди на опортюнистични инфекции и други AIDS -свързани състояния.

4.8. Анализ на преживяемостта

4.8.1. Да проследим влиянието на двата основни фактора – ниво на VL и CD4+T -лимфоцити върху преживяемостта.

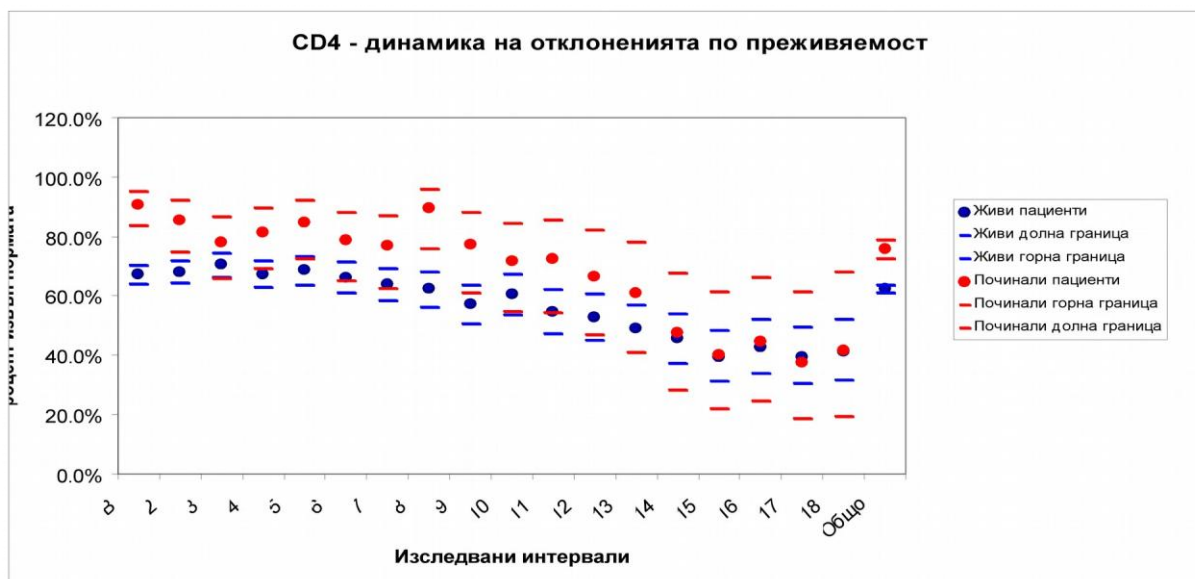
(Използва се анализ на динамиката на отклоненията от н»ормата» за съответните показатели)

Фигура 16: Динамика на отклоненията на VL с изградени интервали на доверителност



На Фигура 16 се установява, че на общо ниво отклоненията от нормата на VL при починалите е 65,5 %(61,5-69,3,CI95%) докато това при живите пациенти е 63,9%(62,5-65,4,CI95%). При проследяване интервал по интервал не се установява статистическа разлика. При сравнението между интервалите се установява статистически значима разлика между първия и втория и втория и третия интервали при живите пациенти, съответно 93,3%-72,4% и 72,4%-63,5%, $p > 0,05$, докато при починалите такава се наблюдава само между първия и втория интервали- 93,8%-78,1%, $p > 0,05$. Налага се заключението, че живите пациенти имат по-трайно изразена първоначална вирусна супресия и тя има значение за крайния изход на заболяването.

Фигура 17: Динамика на отклоненията на CD4 с изградени интервали на доверителност



Фигура 17 се установява, че разликата в отклоненията на стойностите на CD4+Т-лимфоцитите между починалите и живите пациенти е : 75,8 % с отклонения от нормата при починалите, срещу 62,4 % с отклонения от нормата за живите, т.е. при починалите преобладава процентът на пациентите с понисък брой CD4. Анализите период по период и между периодите установява статистически значима разлика (CI 95%, $p < 0,05$)

4.8.2. Анализ на преживяемостта чрез сравнение на средните отклонения на VL и CD4

Извършен е също така Proportionalhazard (Cox) regression - анализ, за оценка на влиянието на нивата на вирусния товар и CD4 върху преживяемостта. Тук вирусният товар и CD4 участват със средните си стойности.

Таблица 36: Сравнение на средните отклонения за VL и CD4

при починалите и живите.

Пациенти	Изследвани средни	
	VL	CD4
Починали	4.36	204.5
Живи	3.66	452.2

$p < 0.05$ и при двата изследвани показателя – VL и CD4.

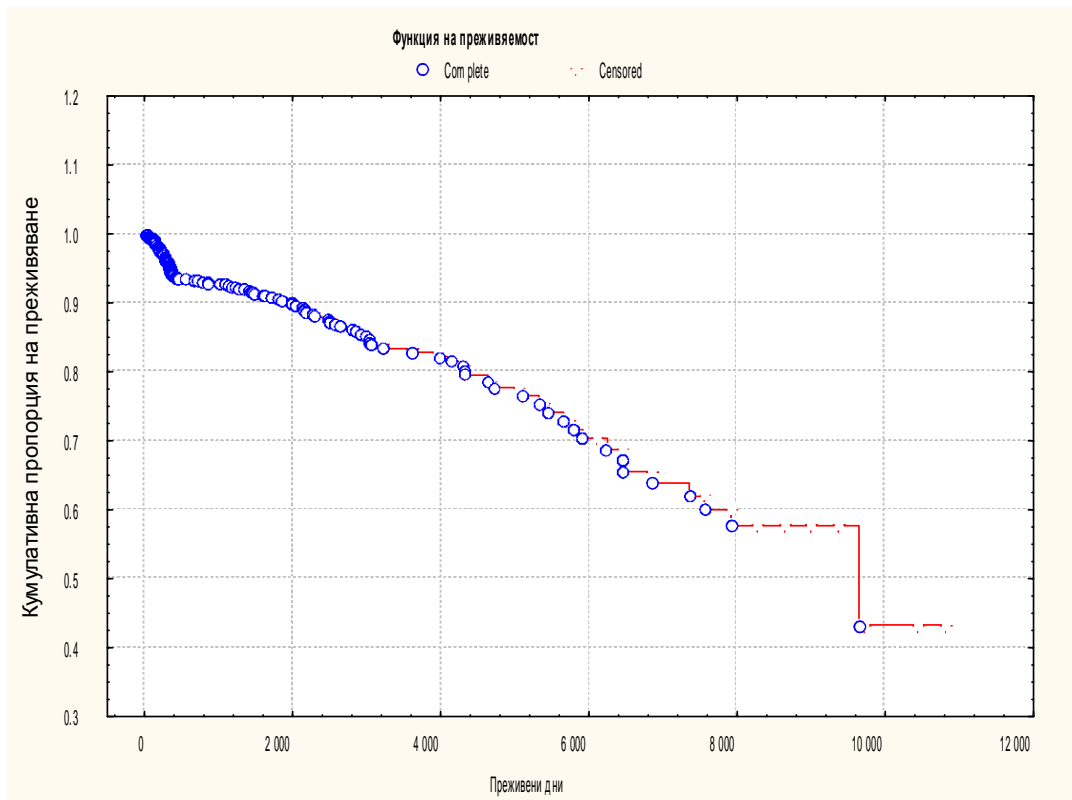
4.8.3. Анализ на преживяемостта с кумулативна пропорция на преживяване

За анализа са използвани две дати:

- Датата, отговаряща на HIV-регистрацията на пациента – базова дата;
- Края на 2012 за живите пациенти и датата на смъртта за починалите – крайна дата;
- Преживяемостта е дефинирана като крайна-базова дата и е мерена в дни.

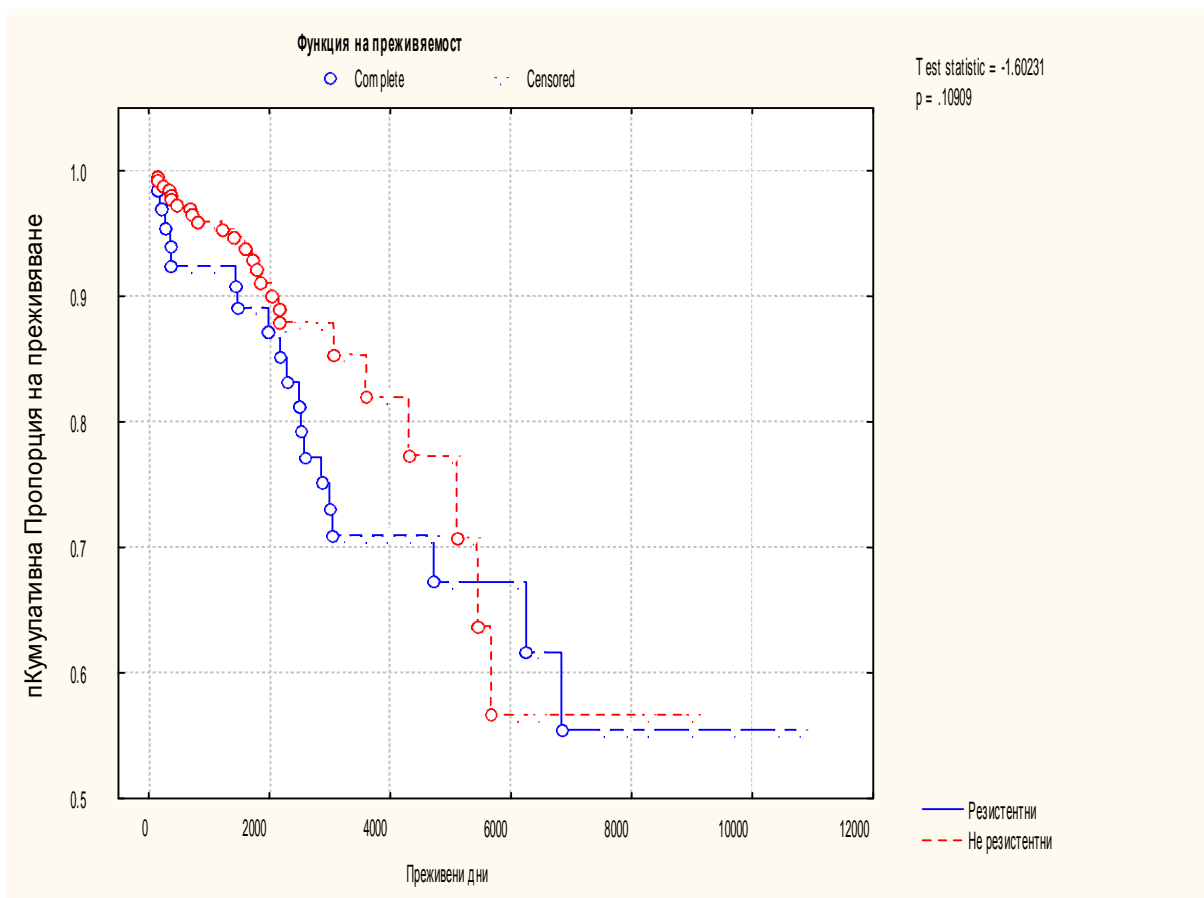
Графиката на кумулативните нива на преживяемост на общо ниво, резултат от приложен анализ на Kaplan-Meier, е представена по-долу (Графика 8). Censored са пациентите, които са още живи, Complete са маркирани починалите пациенти. Тази графика онагледява кумулативния процент на преживяване до определен ден. Например около 40 % от всички пациенти преживяват до около 8 000 пациенто-дни (> 21 г.).

Графика 8:



Карлан-Meier-анализ е приложен за да се оцени значимостта на връзката между преживяемостта и **резистентността** и преживяемостта и **придържането към терапията**. Представените по-долу две графики илюстрират резултатите.

Графика 9: Влияние на резистентността



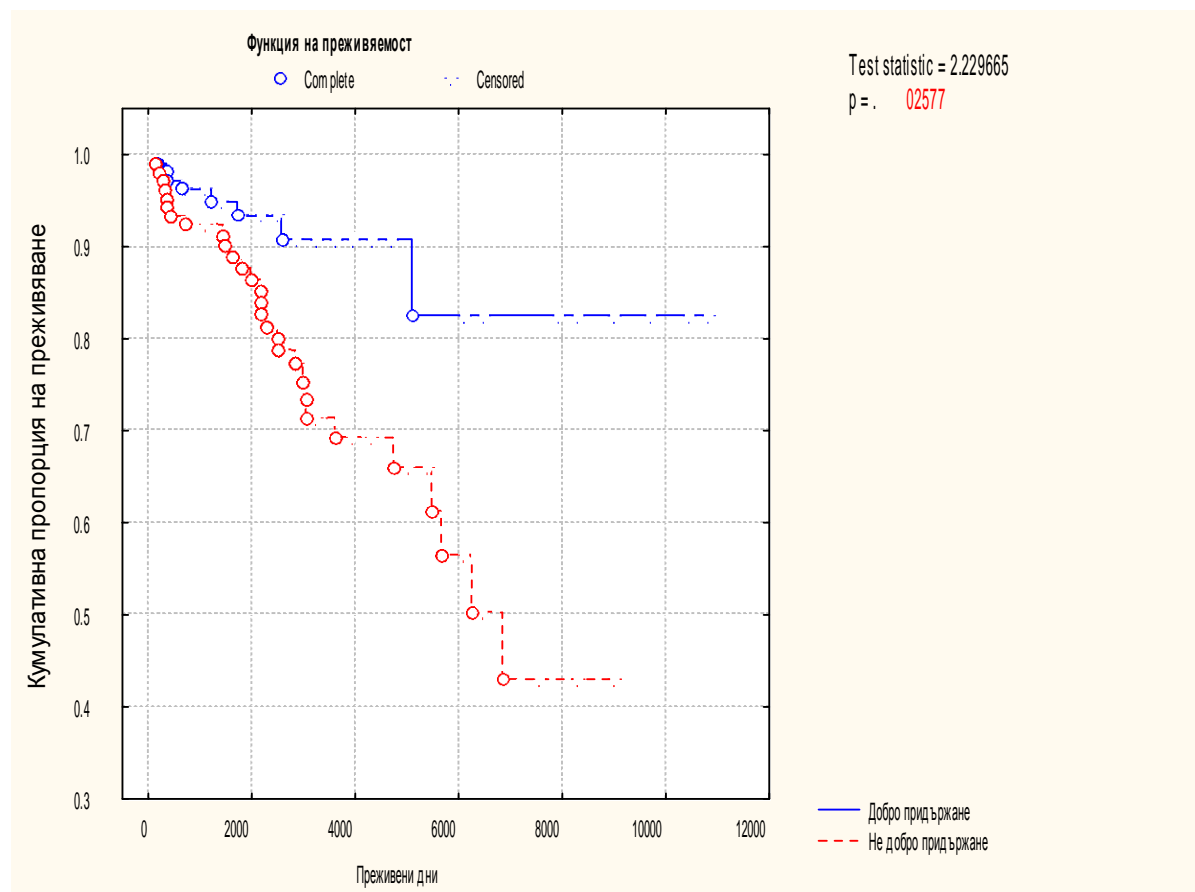
Тестът Gehan's Wilcoxon показва незначима разлика в преживяемостта за пациентите резистентни към терапията спрямо тези, които не са.

Gehan's Wilcoxon Test (Dead patients.sta)

WW = -883.0 Sum = 1864E3 Var = 3033E2

Test statistic = -1.60231 p = .10909

Графика 10: Влияние на придържането към терапията



Group 1 – добро, Group 2 – променливо/лошо

Gehan's Wilcoxon Test (Dead patients.sta)

WW = 964.00 Sum = 7434E2 Var = 1867E2

Test statistic = 2.229665 p = .02577

Налице е значим резултат. Пациентите с добро придържане към терапията имат значително по-високи степени на преживяемост спрямо тези с променливо/ лошо.

5. ОБСЪЖДАНЕ

5.1. Проследяване динамиката на отклоненията от нормата на CD4+T -лимфоцитите и нивото на вирусния товар на фона на провежданата АРТ

Първият критерий за успеха на АРТ- промяната на VL е следван, често малко по-късно, от имунологичния критерий – нарастването или намаляването броя на CD4-T- лимфоцитите. Клиничият успех обикновено настъпва по-късно – след подобрението на лабораторните показатели. Той не винаги се възприема от асимптоматичните пациенти, въпреки че рискът от развитие на AIDS намнява на половина само след тримесечно лечение (*Ledergerber 1999*). Пациентът не осъзнава какво избягва, започвайки лечението.

Много автори сега приемат, че нивото на VL е по-важният барометър за терапевтичния отговор, докато броят на CD4 по-добре предвижда клиничната прогресия на болестта. (*NEnglJMed1996;335:1091*)⁽¹²⁹⁾; (*AnnInternMed 1996;124:984*)⁽¹³⁷⁾. Установената от нас статистически значима разлика в динамиката на отклоненията на VL между 1-ия и 2-ия интервали от наблюдението потвърждава, че вирусологичният отговор е водещия критерий при оценка на ефективността на АРТ.

5.2. При определяне влиянието на различни фактори върху ефекта от АРТ, чрез динамиката на отклоненията от нормата на CD4 и вирусният товар се установява (таблица 8), че всички тествани фактори влияят върху вирусологичния и имунологичния отговор на терапията в различна степен. Факторът пол има статистически значим ефект върху вирусологичния отговор за целия период на наблюдение, докато върху имунологичния значимостта му се проявява само в определени етапи от наблюдението. Разликата е в по-ниския вирусен товар при жените, както установява и Napravnik 2002 г. във метааналитичното си изследване за разликата във вирусния товар при жени и мъже, наивни на АРТ.

Възрастта влияе върху вирусологичния отговор както в определени периоди, така и на общо ниво – за целия период на наблюдение – и то в полза на възрастните. Този феномен е наблюдаван и от други изследователи ([Silverberg 2007](#); [Hinkin 2004](#)). Обясняват го с по-доброто придържане към терапията от възрастните пациенти в сравнение с по-младите.

Докато по отношение на имунното възстановяване ролята на възрастта се различава само в определени негови етапи. Все пак трябва да се имат предвид данните от проучвания от времето преди ерата на HAART, че пациентите над 55 г. възраст са поставени при двойно по-голям риск от протресия на зябявяването, AIDS и смъртност в сравнение с по-младите, при едни и същи изходни стойности на VL (при 10 000 и при 100 000 копия/ml), (*From: Phillips A, CASCADE Collaboration. AIDS 2004, 18:51-8*). Всички останали фактори имат влияние както в определени интервали, така и по отношение на общото ниво и върху вирусологичния и върху имунологичния отговор, както ще се убедим по-нататък.

5.3. Проследяване динамиката на средните стойности в броя на CD4+T -лимфоцитите и нивото на вирусния товар на фона на провежданата АРТ на общо ниво.

Под вирусологичен успех, обичайно се подразбира редуцията на VL под прага на откриваемост (< 50 , респективно < 20 копия/ml). Това твърдение се базира на разбирането, че по-бързото и по-силно намаление на VL осигурява по-продължителен терапевтичен ефект (*Kempf 1998, Powderly 1999*).

Очакваният отговор на терапията би трябвало да е намаление на VL с $0,75 - 1 \text{ Log}_{10}$ копия/ml за една седмица (*Lancet 2001; 358:1760*)⁽²⁶⁸⁾; (*JAcquirImmuneDeficSyndr 2002; 30:167*)⁽¹¹²⁾, намаление с $1,5 - 2 \text{ Log}_{10}$ копия/ml до < 5000 копия/ml за 4 седмици (*JAcquirImmuneDeficSyndr 2000; 25:36*)⁽²¹⁴⁾; (*AIDS 1999;13:1873*)⁽²⁷³⁾, < 500 копия/ml за 2 до 4 месеца; (*JAcquirImmuneDeficSyndr 2000; 24:433*)⁽²⁷⁹⁾ и неоткриваемо ниво за 4 до 6 месеца.

За нашият първи период отчитаме намаление с $1,45 \text{ Log}_{10}$ (30копия/ml), т.е. значително по-бавно достигаме едномесечната „норма“ - в рамките на 6 месеца. За 12 месеца намалението е със $1,73 \text{ Log}_{10}$ (75копия/ml), като достигаме границата на прага на откриваемост след две години. Както беше споменато, една от най-честите причини за вирусологичен неуспех е високото изходно ниво на VL – в нашето изследване с горна граница $5,58 \text{ Log}_{10}$, или почти 1 000 000 копия/ml. Съществуват още много рискови фактори, за които малко или нищо не се знае.. Така например не изключваме възможността за влиянието и на не доброто придържане към терапията, поради нежелани странични ефекти, лекарствена непоносимост и токсичност (проучвания в областта на фармакогенетиката свързват индивидуалността на човския геном с вирусологичния отговор). HLA-B*27 и *57 са свързани с благоприятна прогноза, ^[Keet_1999;McNeil_1996;Migueles_2000] докато HLA-B*35 and HLA-B*53 са свързани с нарастнал риск от прогресия на болестта ^[Carrington_1999;Hendel_1999;Gao_2001]. Наличие на резистентни мутации, предизвикани от предшестваща субоптимална терапия, неефективна резорбция, междулекарствени взаимодействия и др.

В наблюдението ни след втората година е достигнато ниво от $2,7 \text{ Log}_{10}$ или 500 копия/ml – прага на неоткриваемост (според нашия стандарт) и тенденцията се запазва до края на наблюдението трайно. Малко се знае колко време лечението се задържа ефективно. Широко разпространено е мнението, че този период не е дълъг. То датира от ранните години на антиретровирусната терапия. Едно пространно изследване с дълъг период на проследяване на 336 АРТ -наивни пациенти установява достигане на VL < 50 копия/ml за 6 месеца (*Phillips 2001*). След 3,3 години се установило покачване на VL достигащо 25,3%. По-детайлното проучване разкрива, че реален вирусологичен неуспех има само при 5,2 %, докато при останалите пациенти се касаело за прекъсване на терапията.

В нашето проучване за 5 години от постигането на прага на неоткриваемост пропорцията на пациентите с VL < 500 копия/ml, (респективно < 50 копия/ml) нараства от 46,5 % на 54,9 % (CI95 %). Общата тенденция на очаквания вирусологичен отговор на терапията се потвърждава.

Данните доказват категоричен успех.

Имунологичен успех. Трудно може да се предвиди имунологичния успех по време на АРТ, тъй-като той се различава при всеки един пациент. Под имунологичен успех на терапията най-общо се подразбира увеличаване броя на CD4. Имунологичния успех не кореспондира непременно с максимална вирусна супресия, макар частично тя да се дължи и на нарастването броя на CD4 (*Kaufmann 1998, Ledergerber 2004*). След стартирането на АРТ, както при динамиката на

намаляването на VL в увеличението броя на CD4, също се наблюдават две фази. След първоначално бързо нарастване в рамките на 3 - 4 месеца следва период на по-бавно нарастване. Le Moing, 2002 г. при проследяване на 1000 пациенти, стартирали АРТ се наблюдава увеличение на CD4 средно с 21,2 клетки/ μl месечно, през първите 3 месеца. През следващите месеци нарастването било само със 5,5 клетки/ μl . Сигнификантно но по-ниско годишно нарастване с около 50 клетки / μl се наблюдава 5 години след стартиране на АРТ при пациенти, поддържащи CD4 <500 клетки/ μl (Mocroff 2007). Разбира се изходното начало също има значение. Нарастването на абсолютния брой на CD4 е по-високо ако изходният им брой при стартирането на АРТ е по-висок (Kaufmann2000).

Нашите резултати показват:

- Преди всичко не трябва да забравяме, че до 2004 г. у нас HAART стартираше при стойности на CD4 < 200 клетки/ μl ;
- Нарастването броя на CD4 -лимфоцитите между първият и втория период (6 месеца) е средно с 27,32 клетки/ μl . Следва период около 1 година, през който нивото на CD4 се задържа в рамките на същите средни стойности – плато, т.е. временно липса на растеж. Следва прогресивно нарастване на CD4 с максимален среден ръст 27 клетки/ μl (5 – 49, CI 95 %) за всеки следващ интервал – общо 7 години. Разликата между началото и крайния период е 252,44 клетки/ μl ;
- **Налице е устойчив имунологичен отговор и растеж в резултат на провежданата АРТ.**

5.4.Индивидуален анализ на факторите, показали значимост на влияние върху АРТ при оценката на отклоненията от нормата и отклоненията на средните стойности

5.4.1. Възраст

Според (Grabar 2004) възрастта е важен фактор. Морфологичното състояние и функцията на тимопоезата определят степента на нарастването на CD4 право пропорционално (Kolte 2002). Поради свързаната с възрастта дегенерация на тимуса, CD4 при по-възрастните пациенти не се увеличават толкова, колкото при по-младите (Viard 2001).

Резултатите от нашето наблюдение потвърждават преобладаващите в литературата данни. Възрастта е фактор, влияещ върху имунната реконституция и от там върху ефекта от терапията – по-слаб имунен отговор, по-голям риск от прогресиране на заболяването и развитие на AIDS, по-висока смъртност

5.4.2.Механизъм на заразяване.

Както вече се отбеляза сходна динамика на средните отклонения имат групите с хетеросексуален механизъм, MSM и IVDUs. Коренно се различават обаче, както на общо ниво така и в динамика, групите с вертикално заразяване и хемофилиците. Разлики между имунологичния отговор при децата, родени от HIV-позитивни майки се дължат на физиологичните особености на имунната система при новородените – високи нива на CD4+ лимфоцитите(2500 клетки / μl ,Shearer 2003). При хемофилиците се наблюдава ко-инфектираност с хепатитни вируси, които влияят върху

адекватната имунна реконституция(90% от пациентите). Така че механизмът на заразяване няма влияние върху ефективността на терапията.

5.4.3. Начални групи на CD4

Според установените норми повечето автори класифицират пациентите с CD4 < 200 клетки/μl, при стартиране на терапията като „късно диагностицирани“ (“latepresenters”), (С. *Hoffman*, HIV 2012/2013). Според класификацията на CDC, “AIDS surveillance case for Adolescents and Adults: 1993”, те принадлежат към стадий AIDS -индикаторни състояния. В нашето проучване те са 20,65%). На втората конференция “HIV in Europe” през Ноември 2009 г. дори, се прие границата <350 клетки/μl, за CD4, като праг за „късно диагностицирани“, макар да няма установено точно определение на това понятие, във всички случаи те са спешни пациенти-пациенти в „риск“. Пълното имунно възстановяване при тях е невъзможно. Дори вирусната супресия в продължение на години не може да промени това. Според Kelley 2009, при пациенти на АРТ с имунносупресия < 1000/клетки/μl в продължение на 4 г., тези които имат CD4 < 100 клетки/μl не успяват да достигнат до 500 клетки/μl дори за 7,5 г; пациентите с CD4 от 100 до 200 клетки/μl продължават да са във риск от не възстановяване на имунната система в 25%. За разлика от имунологичния отговор, вирусологичният в комбинация с лоши стартови условия (пациенти с CD4 < 100 и CD4 между 100 и 200 клетки/μl) показва не по-лоши дългосрочни резултати в сравнение с другата група (пациентите с CD4 > 200 / клетки μl). Така например 89 % от 760 пациенти, развили AIDS при диагностицирането, показват VL < 500 копия/ml след стартирането на АРТ (Mussini 2008). **Нашите изследвания показват сходни резултати – за 6 месеца нивото на VL при рисковите групи пада до 500 копия/ml.** При пациентите от рисковата група с CD4 < 100 клетки/μl сме постигнали възстановяване до 591 клетки μl, за същия период от време – 7 - 8 години. От същият порядък е и наблюдаваното имунно възстановяване при групата пациенти с CD4 от 100 до 200 клетки/μl. Чувствителната разлика между първата и втората групи спрямо третата се дължи на наличната такава още при самият старт. Особено се откроява размера и пропорциите на нарастване в първите два периода, макар че нарастване се отбелязва и в тези подгрупи. Това е важно както вече отбелязахме, по отношение на темповете и вероятността за развитие на HIV –прогресията и свързаните с нея усложнения.

Нивото на CD4+T -лимфоцитите в изходната позиция определено влияе върху ефекта от HAART.

5.4.4. Предшестваща субоптимална терапия

Наличието на предшестваща HAART субоптимална моно- и битерапия се сочи като честа причина за неуспеха на антиретровирусната терапия (С. *Hoffman*, HIV 2012/2013)⁽³⁹⁾, (J Mellors, 2004) поради факта, че тя довежда до изработване на вирусна резистентност. При нашите пациенти от групата „алтернативна терапия“ – 28 на брой, резистентност към поне 1 клас медикаменти се установява в около 30%. **В публикувано вече наше предварително проучване, (*Retrovirology* 2012, 9 Suppl 1 :P12)⁽¹⁵⁵⁾ сигнификантна разлика в имунната реконституция се установява, както след 6 месечно лечение, така и след 2 и след 5 годишен период на проследяване в полза на наивните**

пациенти (средни CD4 AC 252/µl/ vs. 177/µl след 6 м. с-ART, (p<0.05), 391/µl vs. 240/µl на 2-та г. от с-ART, (p < 0,05) и 501/µl срещу 306/µl, на 5-та година от с-ART, (p<0,05). Подобни заключения са публикувани в *Lancet* 2003; 362: 679-686; Chene G, Sterne JA, May M, et al⁽⁵³⁾ и Gras L, van Sighem A, Smit C, Stichting; *HIV Monitoring, Amsterdam, Annual Report, 2009*⁽¹²¹⁾.

Предшестващата субоптимална терапия оказва влияние върху бъдещата имунна реконституция.

5.4.5. Резистентност и успех на терапията

Преобладаването на поне една или повече от една резистентни мутации при пациенти, получаващи АРТ е около 50 % (*Lancet* 2002; 359:49)(309); *NatureMed* 2001; 7:1016)(24). Докато честотата на една или повече резистентни мутации при наивни пациенти е от порядъка на 10 – 25 %. . Развитието на резистентни вирусни щамове е една от главните причини за вирусологичен неуспех на терапията. Увеличението на VL със 100 до 300 с/ml по време на терапията е добър предиктор за последващ вирусологичен неуспех (Nettles 2005, Delaguerre 2009, Garcia-Gasco 2008). Нарастването на VL между 1000 и 10 000 копия/ml е доказателство с най-висока вероятност за лекарствена резистентност към всеки клас медикаменти (Prosperi 2011).

Резистентност към NNRTI

(ненуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза) – 18 пациенти

Резистентността се появява по-бързо при NNRTIs, отколкото при PIs, което вероятно дължи на ниската бариера към резистентност. Този феномен се наблюдава и в проучвания като FIRST, ARTEN and ACTG 5202 (Gardner 2008, Daar 2011, Soriano 2011). Нашите резултати откриват статистически значимо влияние на установената резистентност към NNRTIs само по отношение на имунологичния отговор.

Резистентност към PI (протеазни инхибитори), 21 пациенти

Групата на протеазните инхибитори е вторият (по ред на изложението) възможен вариант за терапия от първа линия на наивни пациенти и в съчетание с два нуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза се нарича **PI** -базиран режим. В тази група са събрани медикаменти, които по правило имат по-висока генетична бариера към резистентни мутации, макар тя да варира също между различните генерации. Тук сме проследили ефекта от протеазни инхибитори от различни поколения – IDV (indinavir), SQV (saquinavir) и LPV (lopinvir) и трите подсилени (бустирани) с RTV (ritonavir). Бустирането увеличава наличната плазмена концентрация и удължава полуживота на основния медикамент, намалява количеството на хапчетата и подобрява ефективността. В

допълнение, вирусологичният неуспех от бустирания протеазен инхибитор не е свързан със заплаха от резистентно-свързани мутации [[Eron 2006](#); [Molina 2008](#); [Ortiz 2008](#); [Walmsley 2008](#)]. При нашите пациенти откриваме статистически значимо влияние, отново, само по отношение на имунологичния отговор.

Резистентност към поне един клас медикаменти, 65 пациенти

При анализа на резултатите при тази обединяваща група, съдържаща установена резистентност към трите основни класа медикаменти, установяваме статистически значимо влияние както към вирусологичния, така и към имунологичния отговор. **Не случайно първият индикатор за възможна лекарствена резистентност на вирусния щам е повтарящото се високо ниво (>1000 копия/ml) на VL, въпреки провежданата терапия.**

Заключенията, които магат да се направят са, че вирусната лекарствена резистентност, независимо към кой или кои класове антиретровирусни медикаменти е изработена представлява сериозен проблем за ефикасността на АРТ. Своевременното им откриване, мониториране и адекватна корекция е от решаващо значение не само за вирусологичния успех, но и за устойчивата имунна реконституция.

5.4.6. Придържане към терапията

Очевидна е корелативната зависимост между вирусологичния отговор и придържането към терапията (*AnnInternMed 2000; 133:21*)⁽²⁶⁷⁾. Най-важна е установената необходимост от придържане над 95 % за да се постигне 80% вирусна супресия. На приложената таблица 26, се демонстрира пропорционалната зависимост:

Таблица 26: Зависимост на вирусната супресия от степента на придържане

Придържане към HAART	VL < 400 с/мл за 6 месеца
95 %	78%
90 - 95 %	45%
80 - 90 %	33 %
70 - 80 %	29 %
< 70 %	18 %

Подобни резултати показват множество други проучвания (*AIDS 2001; 15:2109*)⁽¹²⁴⁾; (*Clin Infect Dis 2001; 33:386*)⁽⁸²⁾; (*AIDS 2000; 14:357*)⁽¹⁴⁾; (*J Gen Int Med 2002; 17:377*)⁽¹⁶¹⁾.

Данните от проучването ни потвърждават установените в международния опит, тенденции и резултати. При нашите пациенти с добро придържане (съпоставимо с 80 - 90 % от цитираното по-горе проучване) се наблюдават 36 % пациенти с VL < 400 копия/ml и с брой CD4+T клетки под нормата 21,5 % (CI 95%), след първите 6 месеца терапия. При пациентите с лошо и променливо придържане (съпоставимо с под 70 – 80 % от цитираното по-горе проучване) се наблюдават 29 % пациенти с VL < 400 копия/ml и брой CD4+T клетки под нормата, също 29 % (CI 95 %).

Категорично се потвърждава значимото влияние на придържането към терапията върху вирусологичния и имунологичния успех. За пореден път се изтъква предиктивното значение на вирусологичния отговор за ефективността от терапията.

5.4.7. Ко-Инфекция HIV/HCV/HBV.

Тази група пациенти е особено уязвима по отношение на имунния статус и отговор, поради неблагоприятното съчетание между 2, понякога 3 сами по себе си животнозастрашаващи заболявания. Смъртността при HIV -пациенти, починали от чернодробни заболявания варира около 14, 5%. Деветдесет процента от тези случаи са били ко-инфектирани с HCV, HBV или с двата вида^[Weber_2006]. Смъртността от чернодробна недостатъчност е обратно пропорционална на броя на CD4+T -лимфоцитите. Честотата при нея е сигнификантно по-ниска при пациенти с CD4 > 500 клетки/μl в сравнение с тази при пациенти с CD4 от 350 да 499 клетки μl (0.06 vs 0.12 починали на 100 пациенто-години проследяване; $P < .001$).

Хроничната HBV -ко инфекция е често срещана при HIV-пациентите. Предпочитаните за инициална терапия на HIV NRTI медикаменти - [emtricitabine](#) (или [lamivudine](#)) и [tenofovir](#), са активни и срещу HBV -инфекцията. При ко-инфектираните пациенти, които се нуждаят от лечение на HBV -инфекцията, но не и от стартиране на АРТ все още, се препоръчва започването на терапия, включваща 2 NRTI -препарата, активни срещу HBV ([Management Guidelines](#))^[DHH5_ART], ([Management Guidelines](#))^[BHIVA_ART], EACS Guidelines, November 2012.

HCV е другата честа ко-инфекция при HIV. Съществуват множество доказателства за ускоряване на чернодробната фиброза под въздействие на HIV в сравнение с пациентите, които имат само HCV-инфекция.^[Shafraan 2007]. АРТ е свързана със забавяне на прогресията на чернодробната инфекция и с намаляване честотата на смъртността^[Shafraan 2007]. Съществуват данни, че честотата на отговора от HCV -терапията е по-висока при по-висок брой CD4, специално при генотип 1 на HCV ([Opravil 2008](#)). Всички ръководства предлагат по-ранно започване на HAART при HCV ко-инфекция ([Gazzard 2008](#)).

Очевиден е ефектът на персистиращите ко-инфекции върху успеха от АРТ при нашите наблюдавани пациенти. Нарастването на CD4 при тях, както в първоначалния 6 месечен период, така и в динамика е коренно различно. Това предопределя повишения риск от HIV -прогресията при тях и потвърждава възможността HCV -коинфекцията да се използва като предиктор за развитие на AIDS и повишена смъртност.

5.4.8.Сранително проучване на ефекта от АРТ при приложението на различни терапевтични режими

Систематичното проследяване на 20 изследвания, включващи 7949 пациенти, лекувани с NNRTIs -базиран режим или с бустирани PI-базиран режим, към които са прибавени 2 NRTIs, показва следните резултати: вирусологичният неуспех между двата режима не се различава статистически (4.9 % срещу 5.3 % пациенти, $p=0.50$). При NNRTIs-режима, обаче се наблюдават по голям брой мутации – 35,5 % срещу 21,0 % за PI-режима, $p< 0,001$ ([Gupta 2008](#)).

В нашето изследване, включващо 639 пациенти, разликата във вирусологичният неуспех между PI- режима (K3) и NNRTIs -режима (K4) е статистически незначима (20,2 % срещу 29,1 %, CI95 %, $p > 0,05$). Резистентни мутации при NNRTIs -режима се наблюдават в 2,81 %, а при PI- режима – в 3,28 %, статистически незначима разлика, ($p> 0,05$). **Проучените в нашето наблюдение режими са съпоставими по ефикасност. Установеният при режима K1 по-слаб имunosупресиращ ефект се дължи най-вероятно на недобро придържане от страна на пациентите поради НСЕ. Броят на наблюдаваните резистентни мутации между сравняваните режими не се различава статистически. Други отклонения в рамките на това проучване не установяваме.**

5.5. Клиничен успех и неуспех

Клиничният успех от HAART зависи от вирусологичния и имунологичния терапевтичен успех. Вече оценихме вирусологичния и имунологичен успех на терапията. Да се опитаме да определим размерите на клиничния неуспех чрез анализиране на смъртността.

Ако проследим динамиката на процентното отклонение от нормата на CD4+T -лимфоцитите при различните категории пациенти ще си припомним следното: над 99 % от пациентите в началния период на наблюдение са “късно регистрирани”, т.е. при започване на HAART те са с ниво на CD4 под 200 клетки/ μ l, починалите 5,9 % са починали от AIDS-свързани заболявания; в средата на наблюдавания период това съотношение е 74,2 % “късно регистрирани” с починали от AIDS-свързани заболявания 5,3 % и в края на периода - “късно регистрирани” 50,0 %, починали от AIDS-свързани заболявания 2,1%,

Таблица 33: Дял на починалите пациенти по години от процента на пациентите с CD 4 < 200 клетки/ μ l

Година;	Брой и % пациенти със CD4+T –лимфоцити < 200 клетки/ μ l	% починали пациенти
1999	68 (99,05%)	5,9
2004	208 (74,2%)	5,3
2009	482 (50,0%)	2,1

В проучването ни тенденцията за намаляване на смъртността от AIDS – определящи заболявания с увеличението броя на пациентите на терапия е явна. От друга страна, резултатите ни също потвърждават данните от световните проучвания за все още високото ниво на късно започващи HAART пациенти, като причина за стационарирането на смъртността, както се вижда на Таблица 32(Глава резултати), процентът на починалите започва отново да нараства след 2009 г.

5.6. Анализ на преживяемостта.

Проследяване влиянието на двата основни фактора – ниво на VL и CD4+T -лимфоцити върху преживяемостта.

При изследване на динамиката в „отклоненията от нормата” се установява, че влиянието на нивото на VL не е значимо за крайния изход на заболяването, което се вижда от изчисленията в **Табл.34** и **фигура 16**, докато нивото на CD4+T -лимфоцитите е фактор влияещ върху преживяемостта, **Табл.35** и **фигура 17**.(Глава резултати от дисертацията).

При анализа на динамиката на **средните стойности** на вирусния товар и CD4- клетките обаче, установяваме че и двата фактора определено влияят върху преживяемостта, **Табл.36** (Глава резултати от дисертацията).

При анализа по Kaplan-Meier, **Графика 9**, се установява, че факторът резистентност няма непосредствено влияние върху преживяемостта на пациентите. Обясняваме си го със съвременното извършване на тестването за резистентност и добре контролираната терапия в последствие. Докато факторът „придържане към терапията”, **Графика 10**, има решаващо значение за преживяемостта, така както броят на CD4+T -лимфоцитите и вирусният товар.

Продължителността на живота на пациентите с HIV -инфекция в много индустриализирани страни се приближава до тази на общото население, благодарение на своевременно започнатата HAART (CD4 > 350клетки/ μ l). (*Porter 2008, Lodwick2010, vanSighe 2010, Obel 2011, Nakagawa 2012, Hogg 2012*). У нас тя може да бъде обобщена чрез **Графика 8** за кумулативните нива на преживяемост на общо ниво, резултат от приложен анализ на Kaplan-Meier. **Установяваме че около 40 % от всички пациенти преживяват до около 8 000 пациенто-дни (> 21 г.)**.

Същевременно, анализите показват съществуваща пропаст между някои групи пациенти и общото население, отнасяща се не само до ко-инфектираните с хепатит, злоупотребяващите с алкохол и наркозависимите пациенти, но и до ниските социално-икономически слоеве на населението и „късно регистрираните” се пациенти (*Lohse 2007, ART-CC 2008, Harrison2010*). По-често, границите между тези категории се припокриват. У нас до 2012 г. броят на регистрираните пациенти е около 1600 лица. Броят на новорегистрираните през последните 3 години варира между 100 и 170. През 2009 г. 32 % от новорегистрираните са IVDUs, 14 % са диагностицирани с AIDS-определящи заболявания. По данни на НПО, работещи по Програмата за превенция и контрол на ХИВ/ СПИН към 2010 г. те са установили 5364 IVDUs, 15 563, принадлежащи към ромската общност, 4633 проституиращи жени и мъже, 30364 деца и младежи в риск. Процентът на HIV-инфектираните сред тях далеч не ни е известен, но той ежегодно нараства. Това са хората, които ще представляват особено голям проблем по отношение на своевременното стартиране на HAART, регулярното проследяване и доброто придържане към терапията. Така че реално очертаващата се пропаст между различните категории пациенти е налице и у нас. Още повече, че 60 % от наблюдаваните от нас пациенти, според данните от проучването ни, се намират в риск по отношение на преживяемостта, през следващите 5 - 10 години.

ИЗВОДИ:

1. Високоактивната антиретровирусна терапия, провеждана у нас е съпоставима с общоприетите практики. Потвърждават се нейната ефективност и устойчивост. В края на изследвания период 60% от лекуваните пациентите достигат трайна вирусна супресия, като 28,9% от тях достигат прага на неоткриваемост на вирусния товар още през първата година. Делът на пациентите с устойчиво имунно възстановяване нараства с 12,2% за първите 4 години, а в края на периода достига 58,6%, при изходни 30,6%. Смъртността от СПИН-свързани заболявания намалява от 5,9% на 2,1% за десетгодишен период.
2. Изработеният модел за преживяемост определя продължителност на живота на пациентите над 21 години при 40% от тях.
3. Пациентите, започнали терапия с CD4+T клетки >200/μl имат по-висока преживяемост и по-ниска заболяемост и смъртност.
4. Тези, които започват терапия с CD4+T клетки <200/μl достигат нормалното им ниво едва в края на периода. Те са основната причина за персистиращата все още висока заболяемост и смъртност.
5. Приложението на медикаменти с доказана токсичност понижава придържането към терапията и влошава нейната ефективност.
6. Статистически значимо влияние върху ефективността на терапията имат следните фактори: начален брой на CD4+T клетките и нивото на вирусния товар, придържането към терапията, вирусната резистентност, възрастта на пациентите и ко-инфекциите с хепатитни вируси.
7. Нивото на вирусния товар има прогностично значение за ефективността от терапията, а броят на CD4+T клетките – за прогресията на HIV-инфекцията.

6. ПРИНОСИ

I Приноси с оригинален научен характер

1. За първи път в страната ни се провежда пространно клинично-епидемиологично проучване върху значителен брой пациенти, инфектирани с HIV за десет годишен период от време.
2. Установена е тяхната възрастова характеристика и полова принадлежност, както и трансмисивната им категория.
3. Изследва се ефекта от антиретровирусната терапия на базата на динамичните промени, наблюдавани в имунологичната и вирусологична реакция, чрез стойностите на CD4+T лимфоцитите и RNA-вирусните копия на HIV I в периферната кръв.
4. Прави се лонгитудинален анализ на имунологичното и вирусологичното възстановяване на пациентите под въздействието на тази терапия, при сравнение между различни лекарствени комбинации.
5. Прави се анализ на влиянието на фактори като възраст, пол, изходни нива на CD4+T лимфоцитите и RNA-вирусните копия, наличие на предшестваща субоптимална терапия, степен на придържане към терапевтичните режими, наличие на вирусна резистентност и съпътстващи инфекции с хепатитни вируси и резултатите от провежданата терапия.
6. Прави се оценка на влиянието на тези фактори върху заболяемостта и смъртността при HIV-инфектираните.
7. Изготвен е модел за преживяемост на пациентите и влиянието на някои от факторите върху нея.

II Приноси с научно-приложен и потвърдителен характер

1. Предикторно значение за ефективността на АРТ имат следните фактори:
 - Възраст на пациентите;
 - Изходно ниво на CD4+T лимфоцитите и вирусния товар;
 - Вирусна резистентност;
 - Придържане към терапията;
 - Ко-инфектираност с хепатитни вируси;
 - Наличие на субоптимална предхождаща терапия.

ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Y.Todorova, V.Terzieva, R.Drenska, **I.Elenkov**, M.Yankova, K.Kostov, H.Taskov, R.Markova, Assessment of cell-mediated immunity in HIV-1 infected patients before the onset of specific antiretroviral therapy, *Probl. Inf. Parasit. Dis.*, 2004, Vol. 32, 1:16-19.
2. Correlation between the degree of immune activation, production of IL-2 and FOXP3 mRNA levels in CD4+CD25+ T regulatory cells in HIV-1 infected subjects under HAART.
V. Terzieva, D. Popova, M. Kitcheva, Y. Todorova, R. Markova, F. Martinova, **I. Elenkov**, M. Yankova. *Int. Immunopharm*, 2009, 9, 831-836, (IF- 2.157).
3. **И. Еленков**, Н. Янчева, Т. Червенякова и Т. Томов. Антиретровирусна терапия- историческо развитие и групи антиретровирусни медикаменти. *Български Медицински журнал*, 4, 2010, № 2.
4. **Ivaylo Elenkov**^{1†}, Maria Nikolova^{2††}, Ivanka Radeva¹, Margarita Yankova¹ and Nina Yancheva, Immunological effect of ten-year c-ART in treatment-naive and pre-treated HIV-1 patients in Bulgaria. *Retrovirology* 2012, 9(Suppl 1):P12 (IF-5,6).

СПИСЪК НА УЧАСТИЯ В КОНГРЕСИ И КОНФЕРЕНЦИИ

1. **Определяне на антиген-специфичната CD8+T клетъчна функция при HIV-1 инфектирани пациенти, получаващи високоактивна антиретровирусна терапия.** В.Терзиева, Р. Маркова, Р. Дренска, К. Костов, **И. Еленков**, М. Янкова, Втори Национален конгреспо имунология с международно участие, София 2003
2. **[MoPeA3068] Enhanced antigen-specific lymphocyte proliferation in vitro in HIV-1 - infected individuals under HAART** R. Markova¹, V. Terzieva, Y. Todorova, R. Drenska, **I. Elenkov**, M. Yankova, K. Kostov. ¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria; ²Hospital of Infectious Diseases, Sofia, Bulgaria,XV International AIDS conference Bangkok, Thailand 11-16 july 2004
3. **[MoPeA3069] Improvement of CD4+ T cell function positively influences HIV-1-specific CD8+ T cell responses during HAART, Bulgaria** V. Terzieva¹, R. Markova, R. Drenska, Y. Todorova, **I. Elenkov**, M. Yankova, K. Kostov. ¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria; ²Hospital of Infectious Diseases, Sofia, Bulgaria Bulgaria,XV International AIDS conference Bangkok, Thailand 11-16 july 2004
4. **[MoPeA3018] MHC-I specific costimulatory receptor enhances the anti-viral CD8 T cell cytotoxicity in treatment-naïve HIV-1+ patients** H. Taskov¹,M. Nikolova, M. Muhtarova, A. Mihova, **I. Elenkov**, K. Kostov, L. Boumsell, A. Bensussan. ¹National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria; ²Hospital of Infectious Diseases, Sofia, Bulgaria; ³INSERM U448, Creteil, France, Bulgaria,XV International AIDS conference Bangkok, Thailand 11-16 july 2004
5. **3rd IAS CONFERENCE on HIV Pathogenesis and Treatment 24 – 27 July 2005, Rio De Janeiro, Brazil MoPe15.1CO1 – The Co- stimulatory receptor CD160 in HIV-1 + patients with detectable and suppressed CD8 T-cell function.** *Authors* :Muhtarova M., Mihova A., Magaev S. Kostov K., **Elenkov I.**,Bensussan A., Taskov H., Nikolova M.
6. **3rd IAS CONFERENCE on HIV Pathogenesis and Treatment 24 – 27 July 2005, Rio De Janeiro, Brazil TuPe7.1CO2-Evulation of ESAT-6-CFP-10-specific T-lymphocytes in co-infected with HIV-1 and tuberculosis Bulgarian patients during specific anti-tuberculosis therapy,** Markova R., Drenska R., Terzieva V., Tododrova Y., Elenkiov I., Yankova M., Kostov K., Stefanova D.
7. **PE2.4/1 - Influence of CD4+CD25+ regulatory T cells on HIV-1 specific CD4+ T cell responses in HIV-1 infected bulgarian patients** Terzieva V.1, Martinova F.2, Markova R.1, Todorova Y.1, Drenska R.1, **Elenkov I.3**, Yankova M.3, Kostov K.3,10th EUROPEAN AIDS CONFERENCE/EACS, November 17-20, 2005, Dublin, Ireland

8. **MOPEA094 - Use of two commercial interferon-gamma assays for detection of tuberculosis infection among HIV/AIDS patients in Bulgaria** R. Markova¹, Y. Todorova¹, R. Drenska¹, V. Terzieva¹, **I. Elenkov²**, M. Yankova², 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention incorporating the 19th ASHM Conference 22-25 July 2007, Sydney, Australia

9. **P6.9/02 - IL-2 Strongly Influences the Ability of Tregs to Reduce Immune Activation and to Specifically Produce IL-10 in HIV-1 Infected Subjects under HAART**, Terzieva V.1, Todorova Y.1, Markova R.1, Drenska R.1, Popova D.2, Abadjieva D.2, Martinova F.2, **Elenkov I.3**, Kostov K.3, Yankova M.3, 11th European AIDS Conference, October 24-27, 2007 Madrid, Spain

10. **P11.1/01 - Low Absolute CD4+ T Cell Counts do not Affect the Results of IGRAs in HIV/AIDS Patients**, Markova R.1, Todorova Y.1, Drenska R.1, **Elenkov I.2**, Yankova M.2, 11th European AIDS Conference, October 24-27, 2007 Madrid, Spain

11. **MOPE0021 - IFN-gamma cytokine receptor expression in PBMCs of HIV-1 infected patients** Y. Todorova¹, R. Markova¹, R. Drenska¹, **I. Elenkov²**, M. Yankova², I. Radeva², The XVII International AIDS Conference in Mexico City from 3-8 August 2008

12. **WEPE0148 - IFN-gamma release assays in the diagnosis of tuberculosis infection in HIV-infected subjects** R. Markova¹, Y. Todorova¹, R. Drenska¹, **I. Elenkov²**, M. Yankova², I. Radeva², The XVII International AIDS Conference in Mexico City from 3-8 August 2008

13. **Имунологичен мониторинг на пациенти с HIV и други хронични вирусни инфекции**, Тасков Х., Николова М., Мухтарова М., Михова А., Бешков Д., **Еленков И.**, Върлева Т., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София

14. **Антиретровирусна лекарствена резистентност при HIV-1 наивни и лекувани пациенти в България**, Бешков Д., Алексиев И., Георгиева В., **Еленков И.** VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София

15. **Ефект от антиретровирусната терапия при HIV-1 инфектирани възрастни пациенти от 1998 до 2007 година в България**, **Еленков И.**, Върлева Т., Тасков Х., Николова М., Бешков Д., Алексиев И., Радева И. Янкова М., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София

16. **Латентни JS и BK Полиома вирусни инфекции при HIV инфектирани българи**, Цеков И., Борисов К., Славов С., **Еленков И.**, Кълвачев З., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София

17. **Проект за консенсус относно диагнозата, проследяването и лечението при ХИВ/СПИН болни.** Еленков И., Радева И., Янкова М., Янчева Н., Вълкова И., Червенякова Т., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София
18. **Възможна връзка между генетичния полиморфизъм на хемокинови ко-рецептори и интеграция на човешки полиомни вируси у българи, живеещи с HIV,** Борисов К., Цеков И., Славов С., Еленков И., Аргирова Р., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София
19. **Генетично разнообразие на HIV-1 в България,** Алексиев И., Бешков Д., Георгиева В., Еленков И., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София
20. **Случаи на прогресивна мултифокална левкоенцефалопатия (PML) при пациенти, инфектирани с вируса на HIV в България,** Червенякова Т., Янчева Н., Еленков И., Радева И., VIII НАЦИОНАЛЕН КОНГРЕС ПО ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ, 16-18 Октомври 2008, хотел Принцес, София
21. **THPE0050 - Regulatory T cells control immune activation and HIV-1 specific IFN-g responses and depend on IL-2 production from conventional T cells,** V. Terzieva¹, Y. Todorova¹, D. Popova², R. Vladimirova², M. Kitcheva³, I. Elenkov⁴, M. Yankova⁴, XVIII International AIDS Conference, July 18-23 2010, Viena, Austria
22. **THPE0086 - Antiretroviral therapy for HIV-1 infected adults in Bulgaria during the period 1999 – 2008,** M. Nikolova¹, T. Varleva², I. Elenkov³, M. Yankova³, N. Yancheva³, A. Mihova¹, D. Beshkov⁴, H. Taskov¹, XVIII International AIDS Conference, July 18-23 2010, Viena, Austria
23. **CDB159 - Utility of interferon gamma release assay (IGRA) testing for tuberculosis in HIVinfected persons,** R. Markova¹, Y. Todorova¹, R. Drenska¹, I. Elenkov², 6th IAS COFNERENCE on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, 17-20 July 2011 – Rome, Italy
24. **Сравнително проучване на ефективността на медикаментите Saquinavir и Efavirenz в рамките на PIs и NNRTIs базирани режими за лечение на HIV инфекция,** Д. Страшимиров, И. Еленков, Н. Янчева, Т.В.Томов, IX-ти Национален Конгрес по Инфекциозни Болести, Октомври 11-13, 2012, хотел Фиеста София.
25. **Raltegravir – нова насока в антиретровирусното лечение на HIV-позитивни пациенти в България,** Янчева Н., И.Еленков., М. Стойчева., А.Динева., Д. Николова., М. Янкова, Т.В.Томов., Д. Страшимиров, Т. Червенякова, IX-ти Национален Конгрес по Инфекциозни Болести, Октомври 11-13, 2012, хотел Фиеста София

26. **Детайлно молекулярно-епидемиологично характеризиране на HIV-1 инфекцията в България разкрива голямо генетично разнообразие и филогенетична динамика**, И. Алексиев., Д. Бешков, В. Георгиева, Л. Карамачева, **И. Еленков**, М. Стойчева, Д. Николова, 11НАЦИОНЕЛЕН КОНГРЕС по Клинична микробиология и Инфекции, София. 9-11 Май 2013 г., Парк-хотел „Москва”
27. **Антиретровирусна терапия днес – достатъчни ли са 10 години ?**, И. Еленков, Н. Янчева., М. Янкова, Т.В.Томов, Д. Страшимиров, М.Николова, Д. Бешков, И. Алексиев, Х. Тасков,11НАЦИОНЕЛЕН КОНГРЕС по Клинична микробиология и Инфекции, София. 9-11 Май 2013 г., Парк-хотел „Москва”
28. **Случаи на криптококов менингоенцефалит при HIV- инфектирани пациенти**, Н. Янчева, **И.Еленков**, М. Янкова, Д. Снтрашимиров, Т.В.Томов, Т. Червенякова, 11НАЦИОНЕЛЕН КОНГРЕС по Клинична микробиология и Инфекции, София. 9-11 Май 2013 г., Парк-хотел „Москва”
29. **PE9/13 - Transmitted Drug Resistance (TDR) in Newly Diagnosed HIV-1 Patients in Bulgaria is Low and Occurs in Various Subtypes Likely Imported from Aabroad**
Alexiev¹, W.M. Switzer², D. Beshkov¹, **I. Elenkov³**, M. Stoicheva⁴, D. Nikolova⁵, A.M. Wensing⁶,
14th EUROPEAN AIDS CONFERENCE, October 16-19, 2013 Brussels-Belgium
30. **Rapid Increase in HIV-1 Cases Among IDUs in Bulgaria is Associated with Outbreaks of Subtypes CRF 01_AE and CRF 02_AG and Co-infection with Hepatitis (Preliminary analysis)**
Ivailo Alexiev Ivanov¹, Anupama Shankar², Danail Beshkov¹, Pavel Teoharov³, Viara Georgieva¹, **Ivaylo Elenkov⁴**, Mariana Stoicheva⁵, Daniela Nikolova⁶ Tonka Varleva⁷, and William M. Switzer², 12th EUROPEAN MEETING ON HIV&HEPATITIS, Treatment Strategis&Antiviral drug resistans, Barcelona-Spain, 26-28 Marh, 2014

