

Nízka vírusová nálož u HIV infikovaných pacientov, ktorí sú liečení antiretrovirotikami – virologická perspektíva

Patrick Braun, Eva Wolf

Konečným cieľom akejkoľvek antivírusovej liečby je eradikácia. Pri infekcii HIV to však nie je možné pri aktuálne dostupných liekoch a liečebných stratégiách. Preto primárnym cieľom zostáva maximálna vírusová supresia s najdlhšou možnou dĺžkou, aby sa umožnila stabilizácia imunitného systému.

Kedže vo väčšine prípadov zostáva HIV-vírus detekovateľný aspoň s niekoľkými kópiami HIV-1 RNA/ml napriek vysoko aktívnej antiretrovírusovej kombinovanej terapii, národné a medzinárodné odborné asociácie definovali klinické hodnoty pre určenie úspešnosti liečby. (Tabuľka 1)

Definícia nízkej hladiny virémie

Rozpätie medzi virologickým úspechom a zlyhaním je v súčasnosti definované ako 50 kópií HIV-1/ml. Táto hodnota je špecificky odvodená z klinických štúdií. Nemecké a rakúske antiretrovírusové liečebné postupy definujú úspech ako trvalý pokles vírusovej záťaže na menej ako 50 kópií HIV-1 RNA/ml. Hodnota <50 kópií/ml by sa mala získať v priebehu troch až štyroch a v prípade veľmi

vysokej počiatočnej virémie počas šiestich mesiacov od začiatku liečby.

Klinická medzná hodnota by sa nemala zamieňať so špecifickou nižšou úrovňou detekcie použitého testovacieho systému, ktorý má tendenciu byť nižší ako klinicky relevantné rozhranie. K dnešnému dňu neexistujú dôkazy, ktoré by naznačovali zvýšené riziko zlyhania liečby alebo vývoj rezistencie pri vírusovej záťaži pod 50 kópií HIV-1 RNA/ml.

Vyhodnotenie vírusovej záťaže medzi 50 a 200 alebo 500 kópiami HIV-1 RNA/ml u pacientov s antiretrovírusovou liečbou je problematické. Zo štúdie zverejnenej v roku 2014 vyplýva, že u 4 až 8% úspešne liečených pacientov (HIV-1 RNA <50 kópií/ml) sa vyvinie dlhodobá nízka virémia v rozmedzí 50 – 200 kópií/ml. ^[1] Virémie s nízkou hladinou býva častejšie pozorovaná v prípade použitia boostrovaných liečebných režimoch, ktoré sú založené na inhibítoroch proteázy ako s NNRTI, avšak vo väčšine prípadov liečby založenej na PI nie je táto liečba spojená so zlyhaním kvôli rezistencii. ^[1] Zdá sa, že riziko vzniku rezistencie sa tiež líši medzi inhibítormi integrázy (RAL alebo EVG / cobi častejšie ako DTG). Hodnoty vírusovej záťaže

v rámci tohto nízkeho rozsahu môžu mať mnoho príčin a nie sú nevyhnutne dôsledkom zlyhania terapie.

Príčiny nízkej virémie a ich objasnenie

Mnoho faktorov môže byť spojených s krátkodobým zvýšením vírusovej záťaže, napr. očkovanie proti chrípke alebo infekcia treponema pallidum. Súbežne podávané lieky, ktoré majú interakcie s ART alebo biologické látky, ako je ľubovník bodkovaný, môžu znížiť plazmatické hladiny a účinnosť antiretrovírusovej terapie, čo vedie k zvýšeniu vírusovej záťaže. Aj suboptimálna adherencia môže mať tento účinok. ^[2]

Je dôležité po štyroch týždňoch znova skontrolovať hladinu HIV-1 RNA vyššiu ako 50 kópií/ml u pacienta s predtým nedetekovateľnou vírusovou záťažou. Často sa detekovateľná vírusová nálož zistí len raz a viac sa neopakuje. Toto sa nazýva "blip".

Vysvetlenie detekovateľnej prechodnej virémie môže spočívať v kolísaní merania použitého testu. Zistilo sa, že merania na dolnom konci lineárneho spektra kvantitatívneho testu vírusovej záťaže sa stávajú menej presnými vzhľadom

na zvyšovanie rozptylu. V porovnaní so systémom RealTime firmy Abbott alebo Versant-kPCR spoločnosťou Siemens merania vírusovej záťaže vykonávané spoločnosťou Roche v systéme TaqMan majú mierne vyššie hodnoty, ako aj širší stupeň odchýlok.^[3,4] (tabuľka 2) Tieto a ďalšie štúdie však neumožňujú presvedčivé vyhlásenia o tom, ktorý systém môže byť lepší. Je dôležité poznamenať, že zmena použitého testu môže mať za následok merania, ktoré nie sú nevyhnutne porovnateľné. V súčasnosti sa s novšími testovacími systémami vykonávajú testy na porovnanie testovacích vzoriek medzi sebou.

Iné vysvetlenie nízkej virémie môže spočívať v príprave vzorky. Kvantifikácia vírusov detekuje RNA z HIV-viriónov v plazme s EDTA. Ak vzorka krvi s EDTA nie je centrifugovaná, aby sa získala plazma s EDTA v priebehu niekoľkých hodín alebo najneskôr v deň odberu vzoriek, bunkové frakcie s provirálnou DNA môžu byť detekované v plazme. Pretože niektoré kvantifikačné systémy izolujú nielen RNA, ale aj DNA, takáto provirálna DNA môže slúžiť ako matrica pre PCR reakcie, a preto môže poskytnúť výsledky falošne pozitívneho vírusového zataženia. Falošne pozitívnym vírusovým meraniam sa dá vyhnúť spracovaním krvi ideálne do štyroch hodín a aspoň v ten istý deň odberu vzoriek a vykonaním odberu vzoriek podľa pokynov.^[5]

Často sa nedá vysvetliť nízka hladina virémie u liečených osôb s potenciálnymi

rizikami vrátane súbežnej infekcie, očkovania, suboptimálnej adherencie alebo testovania variácií uvedených v tabuľke 3. V takýchto prípadoch je dôležité vedieť viac o priebehu liečby.

Je rozdiel, ak vírusová záťaž nikdy nedosiahne nedetekovateľnosť a zostane v rozmedzí niekoľko stoviek kópií/ml po začatí nového antiretrovirového režimu alebo ak sa vírusová záťaž po dlhodobej vírusovej supresii stane detekovateľnou.

Prvý scenár môže naznačovať použitie liečebného režimu s nedostatočnou potenciou alebo dĺžkou trvania, aby použitý režim mohol dosiahnuť maximálnu vírusovú supresiu. Zníženie vírusovej záťaže na menej ako 50 kópií HIV-1 RNA/ml sa potom môže dosiahnuť zmenou alebo posilnením režimu. Okrem toho riešenie adherencie a monitorovanie liečiv sú cenné informácie na vylúčenie ďalších potenciálnych faktorov ovplyvňujúcich účinnosť, ako je nedostatočné dodržiavanie užívania liekov, liekové interakcie, ako aj farmakogenomické aspekty vrátane rýchleho metabolizmu.

V druhom scenári, keď vírusová záťaž vzrastie na viac ako 50 kópií HIV-1 RNA/ml po fáze nedetekovateľnosti, je potrebné vyšetriť prípadné zlyhanie terapie.

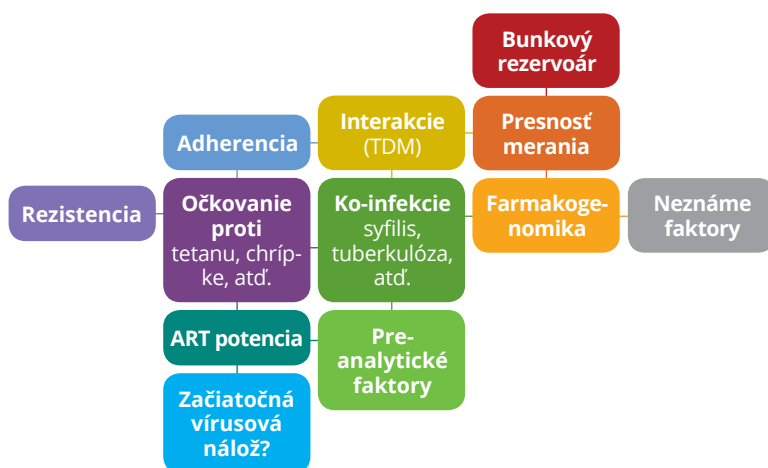
V oboch prípadoch je indikované testovanie genotypovej rezistencie. Zlyhanie spojené s rezistenciou u pacien-

tov s pretrvávajúcou viremiou s nízkou hladinou nie je nezvyčajné. Pretrvávajúca replikácia vírusu pod selektívnym tlakom antiretrovirovej terapie zvyčajne vedie k vývoju rezistentnejšieho vírusu HIV. Riziko sa zvyšuje so zvyšujúcim sa vírusovým zatažením, a preto je vyššie v prípadoch 500 HIV-1 RNA kópií/ml ako v prípade 100 kópií/ml. Ďalej je riziko rezistencie vyššie v režimoch s nízkou bariérou rezistencie, ako je to napríklad pri kombinovanej terapii na báze NNRTI.

Pokyny výrobcov uvádzajú, že je potrebných niekoľko stoviek vírusov na ml plazmy, aby sa umožnilo platné testovanie rezistencie. Z tohto dôvodu je potrebné odobrať väčší objem vzorky pre adekvátny výsledok u pacientov s nízkou viremiou. Porovnanie nukleotidových sekvencií s analýzou rezistencie vykonanou v rôznych časových bodoch môže poskytnúť prehľad vývoja vírusu. Ak sú nukleotidové sekvencie identické, možno predpokladať, že detekovaný vírus sa výrazne nezmenil s terapiou. Ak sa nukleotidové sekvencie líšia odrážajúc rozdielne vírusové populácie, nemožno určiť, či je to spôsobené vyvíjajúcimi sa zmenami alebo či tieto vírusové populácie pochádzajú z bunkových rezervoárov.^[6] Detekcia nízkej hladiny virémie v plazme neznamená nevyhnutne aktívnu replikáciu vírusu. Častice HIV-1 sa môžu aktivovať z latentných rezervoárov, napríklad prostredníctvom (náhodnej) stimulácie antigénov a nemusia byť schopné replikácie (len približne 12% infikovaných buniek má nedotknutý vírusový genóm).^[7]

Reziduálna viremia pri antiretrovirovou terapiou sa zdá byť spojená s väčšou imunitnou aktiváciou, najmä väčšou aktiváciou CD8 + lymfocytov. Bolo zistené, že pacienti s vírusovou náložou v rozmedzí od 50 do 200 kópií/ml alebo vírusovými blipsmi mali vyšší podiel aktivovaných CD8 + lymfocytov (CD8 + CD38 + HLA-DR) ako pacienti s vírusovou supresiou pod 50 kópií/ml.^[8,9] Je samozrejme potrebné zvážiť, že u mnohých pacientov s multirezistentnými vírusmi už nie je možné dosiahnuť vírusovú supresiu napriek novým možnostiam terapie. V týchto prípadoch je cieľom znížiť vírusovú záťaž na najnižšiu možnú úroveň, berúc do úvahy zistené rezistencie pri voľbe liečby.

Figure 1: Potenciálne faktory nízkej hodnoty virémie



Tabuľka 1: Definície úspechu a zlyhania terapie, ktoré používajú národné a medzinárodné odborné asociácie

Odborná asociácia (rok usmernenia)	Úspech liečby	Nízka hodnota virémie	Virologické zlyhanie
DAIG, Deutsche AIDS-Gesellschaft (2015)	< 50 kópii/ml	50 – 200 kópii/ml (napr. blip)	< 2 log ↓ po 4 týždňoch alebo > 50 kópii/ml po 6 mesiacoch; 2 x > 50 kópii/ml po supresii
DHHS, Department of Health and Human Services (2016)	VL < LLOD (< 20-75 kópii/ml)	LLOD do 200 kópii/ml	2x > 200 kópii/ml
IAS-USA, International AIDS Society (2016)	< 50 kópii/ml (24. týždeň)	50 – 200 kópii/ml	2x > 200 kópii/ml po supresii
EACS, European AIDS Clinical Society (2015)	THC ↑ RTV, Cobi	halucinácie, paranoja, úzkosť, panika	zväčša klinicky irelevantné
LLOD= lower limit of detection			

Tabuľka 2: Vírusová záťaž v dvoch klinických vzorkách meraná v 10 nezávislých testoch buď s HIV-1 RNA (m2000) RealTime (Abbott) alebo Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 v.2.0 (Roche)

Opakovanie	Klinická vzorka < 40 kópii/ml (predchádzajúca hodnota meraná pomocou RealTime)		Klinická vzorka 80 kópii/ml (predchádzajúca hodnota meraná pomocou RealTime)	
	RealTime kópie/ml	TaqMan v.2 kópie/ml	RealTime kópie/ml	TaqMan v.2 kópie/ml
1	<40 (detekované)	33	<40 (detekované)	58
2	<40 (detekované)	50	66	110
3	<40 (detekované)	57	75	112
4	<40 (detekované)	59	78	125
5	<40 (detekované)	63	80	127
6	<40 (detekované)	70	85	177
7	50	101	91	209
8	57	103	102	214
9	62	110	113	241
10	83	155	137	295
Mean ± SD	-	80.1	85.6 ± 28.8	166.8 ± 72.61

Tabuľka 3: Kontrolný zoznam a postup u pacientov s nízkou hladinou virémie

číslo	A) Charakteristika a potenciálne faktory nízkej hodnoty virémie	Postup
1	Blip	• zopakujte meranie vírusovej náložky s novou vzorkou krvi od pacienta
2	možná zámena vzoriek	• zopakujte meranie vírusovej náložky s novou vzorkou krvi od pacienta
3	pre-analytické faktory, presnosť merania	• zopakujte meranie vírusovej náložky podľa špecifikácií pre predbežnú analýzu (napr. oddelenie plazmy s EDTA) počas 4 hodín
4	nedostatočná adherencia	• skontrolujte koncentrácie antiretrovirov v plazme
5	rezistencia	• vykonajte testovanie genotypovej rezistencie, ak je potvrdená nízka vírusová náložka • ak sa zistí rezistencia, okamžite optimalizujte liečbu
6	súčasná infekcia	• zopakujte meranie vírusovej náložky po infekcii
7	očkovanie	• zopakujte meranie vírusovej náložky 4 až 8 týždňov po očkovaní
8	liekové interakcie	• skontrolujte koncentrácie liečiva v plazme (minimálne koncentrácie)
9	pharmacogenomika (napr. rýchly metabolizmus)	• skontrolujte koncentrácie liečiva v plazme • ak je vylúčená nízka a suboptimálna adherencia a liekové interakcie, skontrolujte farmakogenomiku (napr. gén MDR-1)
10	zníženie počtu CD4 + lymfocytov	• nedostatočná kvantifikácia vírusovej záťažky? možno opakovať použitím iného testu • pravdepodobné vylúčenie HIV-2
11	zvýšená bunková aktivácia (CD8 + CD38 +)	• vylúčte iné infekcie • starostlivo sledujte vírusovú záťaž
12	vírusy odvodené z bunkového rezervoáru	• skontrolujte evolúciu vírusu porovnaním nukleotidových sekvencií s testami rezistencie vykonanými v rôznych časových bodoch

	B) Nízke vírusové zaťaženie v rôznych scenároch liečby	Postup
I	Žiadna terapia	• v prípade predtým vysokej vírusovej záťaže, pozri č. 2 a č. 10 vyššie
II	Počiatočná liečba bez vírusovej supresie	• ak trvá liečba > 6 mesiacov, zmeňte alebo zintenzívňte liečebný režim • riziko vzniku rezistencie je vyššie v režimoch s nízkou bariérou voči rezistencii • pozri č. 4, č. 5, č. 6, č. 8 – č. 11
III	Po vírusovej supresii sa zvyšuje vírusová záťaž	• riziko vzniku rezistencie je vyššie v režime s nízkou bariérou voči rezistencii • pozri č. 1 – č. 13
IV	Záchranná terapia	• vyhodnotí nízke vírusové zaťaženie prihliadajúc na imunitný stav • pozri č. 1 – č. 13

Referencie

- 1 Ryscavage P, Kelly S, Li JZ, Harrigan PR, Taiwo B. Significance and clinical management of persistent low-level viremia and very-low-level viremia in HIV-1-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Jul;58(7):3585-98.
- 2 Konstantopoulos C, Ribaud H, Ragland K, Bangsberg DR, Li JZ. Antiretroviral regimen and suboptimal medication adherence are associated with low-level human immunodeficiency virus viremia. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(1):ofu119.
- 3 Naeth G, Ehret R, Wiesmann F, Braun P, Knechten H, Berger A. Comparison of HIV-1 viral load assay performance in immunological stable patients with low or undetectable viremia. *Med Microbiol Immunol.* 2013;202(1):67-75.
- 4 Ruelle J, Debaisieux L, Vancutsem E, De Bel A, Delforge ML, Piérard D, Goubau P. HIV-1 low-level viraemia assessed with 3 commercial real-time PCR assays show high variability. *BMC Infect Dis.* 2012;12:100.
- 5 Portman MD1, Lacey CJ. Apparent low-level HIV RNA viraemia related to sample processing time. *HIV Med.* 2012;13(9):578-9.
- 6 Anderson JA1, Archin NM, Ince W, Parker D, Wiegand A, Coffin JM, Kuruc J, Eron J, Swanstrom R, Margolis DM. Clonal sequences recovered from plasma from patients with residual HIV-1 viremia and on intensified antiretroviral therapy are identical to replicating viral RNAs recovered from circulating resting CD4+ T cells. *J Virol.* 2011;85(10):5220-3.
- 7 Ho YC, Shan L, Hosmane NN, Wang J, Laskey SB, Rosenbloom DI, Lai J, Blankson JN, Siliciano JD, Siliciano RF. Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. *Cell* 2013;155(3):540-51.
- 8 Zheng L, Taiwo B, Gandhi RT, Hunt PW, Collier AC, Flexner C, Bosch RJ. Factors associated with CD8+ T-cell activation in HIV-1-infected patients on long-term antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014;67(2):153-60.
- 9 Zoufaly A, Kiepe JG, Hertling S, Hüfner A, Degen O, Feldt T, Schmiedel S, Kurowski M, van Lunzen J. Immune activation despite suppressive highly active antiretroviral therapy is associated with higher risk of viral blips in HIV-1-infected individuals. *HIV Med.* 2014;15(8):449-57.

Naši experti

Dermatológia: Dr. med. Robert Jablonka **Endokrinológia:** PD Dr. med. Frank Ackermann
Gynekológia: PD Dr. med. Andrea Gingelmaier **Hepatológia:** Dr. med. Patrick Ingiliz, PD Dr. med. Jan-Christian Wasmuth
Immunológia: Dr. med. Hans Heiken
Infektológia: Dr. med. Tim Kümmerle, Dr. med. Anja Meurer, Prof. Dr. med. Jürgen Rockstroh, Dr. med. Christoph Wyen
Interná medicína: Dr. med. Christoph Spinner **Kardiológia:** Dr. med. Jost Stalke **Klinický výskum:** Dr. phil. Eva Wolf, MPH
Lipidológia: Prof. Dr. med. Werner O. Richter **Nefrológia:** Dr. med. Ansgar Rieke
Neurológia: Dr. med. Gabriele Arendt, Dr. med. Thorsten Rosenkranz **Onkológia:** PD Dr. med. Christian Hoffmann, Dr. med. Jan Siehl
Pediatrica: Dr. med. Cornelia Feiterna-Sperling
Farmácia: Dipl. pharm. Nico Kraft, Pharmazeutin Nikola Hanhoff, Pharmazeutin Leonie Meemken
Pneumológia: Dr. med. Meike Probst **Psychiatria:** Dr. med. Christian Perro **Substitúcia:** Dr. med. Markus Müller
Virologia: Dipl. biol. Patrick Braun, PD Dr. med. Jens Verheyen **Lekárske a medicínske právo:** Rechtsanwalt Christoph Klein

Vydané s podporou



GSK Slovakia s.r.o, Galvaniho 7/A, 82104 Bratislava
Tento materiál je pripravený pre GSK s právom na distribúciu

Dátum prípravy: August 2017
SK/HIVP/0022/17

Data uvedené v materiály boli zozbierané starostlivo, s najnovšími vedomosťami. Vďaka rýchlej progresii dát v oblasti výskumu HIV/Hepatitíd nemôžeme prebrať zodpovednosť za aktuálnosť a komplexnosť údajov.

Publikované: InXfo GbR, Hirzstrasse 17, 50937 Kolín
Tím logistiky: Patrick Braun, Leonie Meemken, Eva Wolf
Technická podpora: Stefan Preis, Clinovate
Foto: Gunther Willinger

