

ПОБЕГАЛОВА
Ольга Евгеньевна

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 И ИММУННОГО ОТВЕТА
НА SARS-CoV-2 У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

3.1.22. Инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Лиознов Дмитрий Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Гусев Денис Александрович - доктор медицинских наук, профессор, главный врач Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клиническая инфекционная больница имени С.П. Боткина»

Козлов Константин Вадимович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 21 ноября 2023 г. в 13:15 часов на заседании диссертационного совета 21.2.050.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, зал заседаний Ученого совета, ауд.12, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П.Павлова Минздрава России по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8 и на официальном сайте www.1spbgmu.ru

Автореферат разослан «____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Александров Альберт Леонидович

Актуальность темы исследования

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и возбудитель COVID-19 обладают способностью к пандемическому распространению. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на конец 2022 г. число людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), в мире насчитывает 39 млн человек, среди них 1,3 млн составили новые случаи заражения, зарегистрированные в 2022 г. (Информационный бюллетень ВОЗ, 2023). Пораженность ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации (РФ) на 31.12.2022 г. составила 794,7 на 100 тыс. населения (О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в РФ в 2022 году: Государственный доклад, 2023).

Распространение возбудителя COVID-19 с декабря 2019 г. по август 2023 г. привело к 769 млн случаев заболевания, число летальных исходов составило более 6,9 млн (ВОЗ, 2023). В РФ зарегистрировано практически 23 млн случаев, число умерших составило почти 400 тыс. человек (ВОЗ, 2023).

Развитие COVID-19 у ВИЧ-инфицированных лиц обуславливает сочетанную инфекцию, в связи с чем изучение влияния ВИЧ-позитивного статуса на течение и исходы COVID-19 представляет научный и практический интерес.

Предположительно, у лиц с компрометированной иммунной системой может наблюдаться отличное от общей популяции течение новой коронавирусной инфекции. В июле 2021 г. ВОЗ опубликовала результаты анализа крупного массива данных больных COVID-19 из 24 стран, в котором показано, что ВИЧ-инфекция является независимым фактором риска тяжелого и очень тяжелого течения COVID-19 и внутрибольничной летальности (Отчет ВОЗ, 2021). Однако большая часть данных для этой работы была получена из стран Африканского региона ВОЗ (Bertagnolio S., et al., 2022), где имеются ограничения в доступе к медицинской помощи, что предполагает дальнейшее исследование проблемы с учетом региональных (национальных) аспектов. Вместе с тем, в публикациях 2020-2021 гг. (Cooper T.J., et al., 2020; Baek M.S., et al., 2021; Euybroosh S., et al., 2021; Hariyanto T.I., et al., 2021) приводятся противоречивые данные о характере течения COVID-19 у пациентов с сопутствующей ВИЧ-инфекцией, что может быть обусловлено малыми группами наблюдения, неравномерным включением в исследования пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции.

У иммунокомпрометированных больных COVID-19 (на фоне ВИЧ-инфекции и онкологических заболеваний) отмечаются случаи длительной персистенции SARS-CoV-2 (Avanzato V.A., et al., 2020, Rogado J., et al., 2021, Leung W.F., et al., 2022, Stanevich O.V., et al., 2023), что может требовать особого подхода к данному контингенту пациентов с точки зрения эпидемиологических мер.

С начала пандемии многочисленные исследования гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 демонстрируют различную интенсивность образования антител, что связывали с тяжестью перенесенного заболевания, возрастом и полом (Платонова Т.А. и др., 2021; Колосова Е.А. и др., 2022; Jiang H.W., et al., 2020; Klein S.L., et al., 2020; Boonyaratankornkit J., et al., 2021). Поражение иммунной системы при ВИЧ-инфекции может сказываться на напряженности и длительности специфического иммунного ответа на SARS-CoV-2.

Таким образом, формирование постинфекционного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией является актуальной научной задачей.

Степень разработанности темы

В настоящее время продолжается изучение особенностей течения COVID-19 и постинфекционного иммунного ответа у различных групп пациентов. Известно, что факторами риска тяжелого течения и неблагоприятного исхода инфекции является хроническая соматическая патология: заболевания сердечно-сосудистой системы, эндокринной системы и др. (Gao Y.D., et al., 2021). Однако за три года борьбы с COVID-19 не выработалось единого мнения в отношении рисков, которые представляет SARS-CoV-2 для людей, живущих с ВИЧ (Abbasi S.A.A., et al., 2023, Mousavi T., et al., 2023).

Обращает на себя внимание проблема длительного вирусовыделения, ранее описанная при других респираторных инфекциях у пациентов с иммунодефицитом (van der Vries E., et al.,

2013; Nakajima Y., et al., 2021). В литературе имеются отдельные сообщения о накоплении мутаций в вирусном геноме у больных с длительной репликацией респираторных вирусов (Chen L., et al., 2021; Goes L.R., et al., 2022), что требует разработки дифференцированного подхода к пациентам в зависимости от сопутствующих заболеваний и их иммунного статуса. Нуждаются в изучении частота и значение длительного вирусывыделения SARS-CoV-2 у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Неоднозначными остаются и данные о специфическом иммунном ответе на возбудитель COVID-19 у ВИЧ-инфицированных. В исследованиях выявлена связь количества CD4-лимфоцитов с интенсивностью образования вируснейтрализующих антител и числом сенсibilизированных к антигенам SARS-CoV-2 Т-лимфоцитов (Nkosi T., et al., 2022, Ngalamika O., et al., 2023).

Цель исследования: оптимизация подходов к ведению больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией на основе оценки течения COVID-19, длительности вирусывыделения и формирования специфического иммунного ответа на SARS-CoV-2.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать течение COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией с учетом клинико-лабораторных показателей ВИЧ-инфекции и геновариантов SARS-CoV-2.
2. Исследовать напряженность и длительность гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией.
3. Оценить связь характеристик течения COVID-19 и ВИЧ-инфекции с частотой формирования клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2 у реконвалесцентов.
4. Установить длительность вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией и факторы, на нее влияющие.

Научная новизна

Получены новые данные о значимом влиянии иммунодефицита (количество CD4-лимфоцитов <200 кл/мкл) у больных ВИЧ-инфекцией на тяжесть течения COVID-19 и частоту летальных исходов. В большинстве случаев причиной смерти было тяжелое течение COVID-19 или его комбинация с ВИЧ-ассоциированной патологией.

Впервые получены данные об особенностях циркуляции геновариантов SARS-CoV-2 у ВИЧ-инфицированных пациентов: на фоне доминирования в общей популяции геноварианта Delta, у 58,1% пациентов выявлены геноварианты, циркулировавшие в более ранние периоды эпидемии.

Выявлено редкое (15,4%) формирование высоких титров вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 ($\geq 1:160$) у больных ВИЧ-инфекцией после перенесенного COVID-19.

Установлена связь между формированием гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2 и количеством CD4-лимфоцитов в крови у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией.

Показано, что течение COVID-19 у 35,9% ВИЧ-инфицированных больных сопровождается длительным вирусывыделением SARS-CoV-2 в условиях выраженного иммунодефицита (CD4<200 кл/мкл).

Получены данные о мутационной активности SARS-CoV-2 у пациентов с длительным вирусывыделением.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Основные клинические проявления COVID-19 у госпитализированных больных ВИЧ-инфекцией сходны с общей популяцией. При этом у больных с выраженным иммунодефицитом COVID-19 характеризуется более тяжелым течением и высокой летальностью, прежде всего, за счет коморбидных состояний.

Показано значение выраженности иммунодефицита (CD4<200 кл/мкл) для формирования специфического гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2 и длительности вирусывыделения.

Обоснована целесообразность лабораторного контроля вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией после курса терапии для подтверждения санации организма от возбудителя COVID-19.

Больные ВИЧ-инфекцией в связи с низкой частотой формирования гуморального иммунного ответа и длительным вирусывыделением SARS-CoV-2 должны рассматриваться как приоритетная группа для иммунопрофилактики COVID-19.

Установленные риски тяжелого течения COVID-19 у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией, связанные с выраженным иммунодефицитом, являются показанием к незамедлительному назначению или восстановлению прерванного курса АРТ, раннему началу противовирусной терапии COVID-19 независимо от формы тяжести, активному выявлению сопутствующего поражения легких.

Методология и методы исследования

Методологическая база исследования включает общенаучные методы (анализ, синтез и индукция), частные научные методы (описание, измерение, сравнение) и диалектический метод.

Объект исследования – больные COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией.

Предмет исследования: течение COVID-19 и иммунный ответ на SARS-CoV-2 при разной степени иммуносупрессии, обусловленной ВИЧ-инфекцией.

Методы исследования: клинические, лабораторные, инструментальные, параметрические и непараметрические методы статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Основные клиничко-лабораторные характеристики COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией совпадают с популяционными. Тяжелые и крайне тяжелые формы COVID-19, летальные исходы у больных ВИЧ-инфекцией обусловлены выраженностью специфического иммунодефицита. В структуру летальности внесли вклад тяжелое течение COVID-19 или его комбинация с ВИЧ-ассоциированной патологией и прогрессирование ВИЧ-инфекции.

2. Низкая частота формирования гуморального и клеточного постинфекционного иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19 связана с характеристиками течения ВИЧ-инфекции. Не установлена связь между формированием специфического гуморального иммунного ответа, тяжестью течения COVID-19 и геновариантами SARS-CoV-2.

3. Частота длительного (более 21 дня) вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией составила 35,9%. На длительность вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией оказывает влияние выраженность иммуносупрессии.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов обеспечивается использованием адекватных поставленным задачам методик исследования; репрезентативным объемом выборки обследованных лиц (287 пациентов); обработкой полученных результатов с применением параметрических и непараметрических методов статистики.

Результаты исследования представлены на VI Санкт-Петербургском форуме по ВИЧ-инфекции с международным участием (СПб, 2021), XIV и XV Ежегодных Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского, (М., 2022, 2023), доложены на конференции молодых ученых и специалистов «Новости инфектологии, микробиологии и биотехнологии-2022», (СПб, 2022).

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертаций.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», ГКУЗ ЛО «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»; используются в учебной работе кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертация изложена на 98 страницах печатного текста, содержит 21 таблицу и 13 рисунков. Библиографический указатель включает 153 источника, из них 24 отечественной и 129 зарубежной литературы.

Личный вклад автора в проведение исследования

Автором лично осуществлен сбор информации по теме диссертации, постановка цели и задач, подбор и клиническое обследование пациентов, сбор и систематизация результатов лабораторных исследований, включая анализ результатов полногеномного секвенирования генетических вариантов SARS-CoV-2; составлена электронная база данных и проведена статистическая обработка, анализ и оформление результатов исследования; автором подготовлены публикации и доклады по результатам проведенного исследования.

Основное содержание работы

Материалы и методы исследования

В исследование включены 287 больных ВИЧ-инфекцией, перенесших COVID-19, подтвержденный методом ПЦР. Набор пациентов осуществляли на базе СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», СПб ГБУЗ «Городская больница Святого Великомученика Георгия», СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями».

Для характеристики течения ВИЧ-инфекции оценивали длительность заболевания, клиническую стадию в соответствии с Российской клинической классификацией, иммунный статус (абсолютное количество CD4-лимфоцитов в сыворотке крови), вирусную нагрузку ВИЧ (ВН ВИЧ) в сыворотке крови (количество копий РНК). Количество CD4-лимфоцитов и ВН ВИЧ определяли при поступлении в стационар по поводу COVID-19 или использовали результаты последнего обследования в Центре СПИД.

Степень тяжести COVID-19 оценивали на основании действующей на момент проведения исследования версии Временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Для оценки тяжести течения COVID-19 у 136 больных проведен анализ клинико-anamnestических данных, инструментальных и лабораторных исследований. Выполнена оценка длительности вирусывыделения SARS-CoV-2.

Лабораторные исследования для характеристики геновариантов SARS-CoV-2 и оценки постинфекционного иммунного ответа выполнены на базе ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. В образцах отделяемого из носоглотки от 43 пациентов подтверждали наличие РНК SARS-CoV-2 с использованием тест-системы Интифика SARS-CoV-2 (ООО «Компания Алкор Био») методом ПЦР с обратной транскрипцией и флуоресцентно-гибридизационной детекцией в режиме реального времени. Отбирали образцы с пороговым числом циклов (Ct) менее 30 для полногеномного секвенирования в соответствии с протоколом ARTIC V3 на секвенаторе Illumina NextSeq 2000. Геномные последовательности, полученные в результате секвенирования, загружены на платформу GSIAD.

Для оценки гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 у 127 реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией определяли титр вируснейтрализующих антител класса G к вирусу SARS-CoV-2 (далее – антитела) в сыворотке крови в реакции микронейтрализации стандартным методом в динамике через 1, 3 и 6 месяцев после перенесенного заболевания. Нейтрализующим титром считали наибольшее разведение сыворотки, при котором цитопатическое действие на клетки отсутствовало, высоким считали титр антител $\geq 1:160$.

Оценку Т-клеточно-опосредованного иммунного ответа против SARS-CoV-2 выполняли методом ELISPOT с использованием тест-системы ImmunoSpot Hu-IFN-g (CTL) и антигенов тест-системы «ТиграТест® SARS-CoV-2» (Generium), включающих пептиды S-белка (антиген

1) и пептиды белков N, M, ORF3a, ORF7a (антиген 2). Результат считали положительным при значении >12 точек (спотов) в исследуемых образцах с каждым антигеном. Исследование выполнено 21 больному через месяц после COVID-19.

Протокол исследования и информированное согласие были одобрены Этическим комитетом ПСПБГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Анализ полученных данных выполнен с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 22. При сравнении количественных показателей применяли t-критерий для данных с нормальным распределением, в случае отклонения распределения от нормального – U-критерий Манна-Уитни и Критерий Краскела-Уоллиса с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Для анализа номинальных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера для малых выборок. Для выявления взаимосвязи между переменными применяли корреляционный анализ по Спирмену, анализ Каплана-Мейера с лог-ранговым тестом. При проверке статистических гипотез критическим считали уровень значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Характеристика течения COVID-19 у госпитализированных больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией

Для характеристики течения COVID-19 была сформирована группа наблюдения из 136 больных ВИЧ-инфекцией, госпитализированных с марта по ноябрь 2020 года, в период преимущественной циркуляции на территории Санкт-Петербурга сходных геновариантов SARS-CoV-2. Средний возраст больных составил $42,4 \pm 8,6$ лет, преобладали пациенты мужского пола (98 человек, 72,1%). В большинстве случаев (90,4%) у больных выявлены поздние стадии ВИЧ-инфекции (4А-4В), причем в 52% – 4В стадия.

На момент заболевания COVID-19 лишь 49 пациентов (36%) получали АРТ, не получали ранее 44,9% и прервали прием АРТ 19,1%. Длительность АРТ составила 3,0 (0,5; 7,5) лет. Из числа получавших АРТ супрессия ВИЧ в сыворотке крови была достигнута у 18 человек (36,7%). Количество CD4-лимфоцитов в крови определено у 117 человек, Me 93,2 (22,9; 241,1) кл/мкл. У 79 (67,5%) пациентов были признаки глубокого иммунодефицита: количество CD4-лимфоцитов <200 кл/мкл.

Распределение больных по степени тяжести COVID-19 проведено в соответствии с действующей клинической классификацией. В легкой форме заболевание перенес 51 (37,5%) больной, в среднетяжелой – 60 (44,1%) больных, в тяжелой – 16 (11,8%), крайне тяжелой – 9 (6,6%) больных.

Основные жалобы и клинические проявления COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией были сходными с данными популяционных исследований (Щелканов М.Ю. и др., 2020, Фазылов В.Х. и др., 2022), преобладали симптомы интоксикации и поражения дыхательной системы. КТ или рентгенографию органов грудной клетки выполнили 126 пациентам. У 55 больных (43,7%) подтверждено COVID-19-ассоциированное поражение легких, у 34 пациентов (27%) не получено данных о патологических изменениях. У 29,4% обследованных наблюдались изменения органов грудной клетки, не характерные для COVID-19.

Острая дыхательная недостаточность (ОДН) за время госпитализации развилась у 41 больного (30,1%), из них у 33 пациентов было установлено специфическое для COVID-19 поражение легких (объем поражения соответствовал КТ-2 у 5 пациентов, КТ-3 у 5 пациентов, КТ-4 у 2 пациентов). У 20 больных выявлена двусторонняя пневмония, у одного пациента – односторонние инфильтративные изменения. У остальных 8 пациентов ОДН развилась вследствие прогрессирования пневмоцистной пневмонии, туберкулеза и микобактериоза легких, цитомегаловирусного пневмонита, на фоне выраженного иммунодефицита. Оксигенотерапию с помощью неинвазивных методик получал 31 больной, 10 пациентам проводили ИВЛ.

При анализе лабораторных показателей, характеризующих острое воспаление и гиперкоагуляцию (таблица 1), наблюдалась тенденция к более высоким концентрациям СРБ и ферритина у пациентов с более тяжелым течением COVID-19, тогда как для D-димера и

фибриногена такой закономерности не отмечено. Анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса продемонстрировал достоверное различие уровней СРБ и ферритина между выделенными группами. Парные сравнения групп по критерию Манна-Уитни показали статистически значимо более высокие уровни СРБ у больных тяжелой и крайне тяжелой формами по сравнению с легкой и среднетяжелой ($p=0,001$) и достоверно более высокие уровни ферритина у больных со среднетяжелой формой в сравнении с пациентами, перенесшими заболевание в легкой форме ($p=0,006$).

Таблица 1 – Маркеры острого воспаления и гиперкоагуляции у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией (Me (Q25;Q75))

Лабораторный показатель	Степень тяжести COVID-19				p*
	Легкая	Средняя	Тяжелая	Крайне тяжелая	
СРБ, мг/л	17,1 (3,5; 36,5) n=39	26,7 (8,0; 67,6) n=46	86,4 (64,3; 191,6) n=16	237,0 (130,2; 316,4) n=9	0,001
Ферритин, мкг/л	183,3 (74,6; 610,9) n=18	466,4 (262,7; 654,3) n=21	1059,5 (554,2; 1575,8) n=6	1600,0 (1200,0; 2000,0) n=2	0,004
D-димер, нг/мл	517,0 (292,0; 2865,0) n=15	1027,0 (645,0; 1794,0) n=19	1525,0 (1129,1; 2309,3) n=6	766,0 (441,1; 1107,5) n=5	0,130
Фибриноген, г/л	5,3 (4,4; 7,8) n=12	5,1 (4,5; 7,1) n=23	4,9 (4,1; 7,2) n=9	6,0 (5,4; 6,8) n=5	0,650

*анализ по критерию Краскела-Уоллиса

Этиотропную и патогенетическую терапию COVID-19 проводили в соответствии с актуальной на момент исследования версией Временных методических рекомендаций Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Препараты с предполагаемым противовирусным действием получали 37 пациентов (27,2%). Кроме того, 14 пациентов получали ингибиторы протеазы ВИЧ в схеме АРТ. Антикоагулянты были назначены 31 (22,8%) пациенту, глюкокортикостероиды – 54 (39,7%) пациентам.

Таким образом, основные клинические, лабораторные и инструментальные проявления COVID-19 и проводимая терапия больных ВИЧ-инфекцией практически не отличались от общей популяции. Однако у ряда пациентов зарегистрированы выраженный специфический иммунодефицит и сопутствующая патология, что может влиять на течение COVID-19.

Влияние степени иммунодефицита на течение COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией

Поскольку даже на фоне приема АРТ у большинства пациентов отмечались низкие уровни CD4-лимфоцитов в крови, для дальнейшего анализа были выделены две группы с учетом выраженности иммунодефицита независимо от получения АРТ. В первую группу ($n=79$) вошли пациенты с количеством CD4 < 200 кл/мкл, во вторую ($n=38$) – с CD4 \geq 200 кл/мкл (Me 35,1 (12,4; 96,6) кл/мкл и 336,2 (244,0; 541,6) кл/мкл соответственно). Анализ с применением точного критерия Фишера (таблица 2) показал, что у пациентов с CD4 < 200 кл/мкл значимо чаще встречалось тяжелое течение COVID-19, развивалась ОДН, чаще требовались оксигенотерапия и лечение в ОРИТ. Следует отметить, что 62 больных (45,6%) с иммунодефицитом имели уровень CD4-лимфоцитов < 100 кл/мкл и 48 больных – CD4 < 50 кл/мкл.

Таблица 2 – Характеристика течения COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией в сопоставлении с выраженностью иммунодефицита

Характеристики COVID-19	Больные COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией		р точный критерий Фишера
	CD4 \geq 200 кл/мкл, n = 38	CD4<200 кл/мкл, n=79	
Тяжелое и крайне тяжелое течение	1 / 2,6%	17 / 21,5%	0,006
ОДН	3 / 7,9%	28 / 35,4%	0,001
Оксигенотерапия	2 / 5,3%	25 / 31,6%	0,001
Перевод в ОРИТ	1 / 2,6%	15 / 19,0%	0,008
Летальный исход	0 / 0,0%	26 / 32,9%	0,001

После исключения из анализа пациентов со СПИД-ассоциированным поражением легких сохранялось статистически значимое влияние степени иммунодефицита (CD4<200 кл/мкл) на тяжесть течения и исход COVID-19 ($p<0,05$).

Таким образом, у больных ВИЧ-инфекцией выраженный иммунодефицит являлся объективным фактором, отягощающим течение COVID-19.

Летальный исход наступил у 34 пациентов (25%), все умершие характеризовались продвинутыми стадиями ВИЧ-инфекции (у 31 пациента – стадия 4В) и выраженным иммунодефицитом (Me CD4-лимфоцитов 18,9 (6,1; 46,1) кл/мкл).

Причинами летальных исходов были состояния, связанные с COVID-19 и ВИЧ-инфекцией. Выделены три группы причин: непосредственно тяжелое течение COVID-19 (26,5%), сочетание COVID-19 и ВИЧ-ассоциированных коморбидных состояний (41,2%), в том числе с поражением легких (26,5%); и прогрессирование вторичных заболеваний на фоне глубокого иммунодефицита при неосложненном течении COVID-19, не сыгравшем значимой роли в танатогенезе (32,4%).

Титры вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 через один месяц после COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией

Через месяц после перенесенного COVID-19 у 117 пациентов определены титры вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2. Высокие титры (>1:160) были обнаружены лишь у 18 пациентов (15,4%). В результате сопоставления больных с высокими титрами антител (n=18) и пациентов, у которых эффективный гуморальный иммунный ответ через месяц после COVID-19 не сформировался (n=99), не установлено различий по полу ($\chi^2=0,103$, $p=0,749$), возрасту и длительности ВИЧ-инфекции (U-критерий Манна-Уитни, $p=0,198$ и $p=0,371$ соответственно).

Таблица 3 – Факторы, ассоциированные с величиной титра антител к SARS-CoV-2 через месяц, у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией (по Спирмену)

Характеристики больных ВИЧ-инфекцией	Титр вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2		
	Коэффициент корреляции	Значимость (2-сторонняя)	n
Пол	-0,095	0,307	117
Возраст (лет)	0,092	0,322	117
Количество CD4-лимфоцитов в крови, (кл/мкл)	0,379	0,000	115
Уровень ВН ВИЧ в сыворотке крови (коп./мл)	-0,304	0,001	114
Супрессия ВИЧ в сыворотке крови (да/нет)	0,312	0,001	114
Форма тяжести COVID-19	-0,026	0,782	117
Вирусовыделение SARS-CoV-2 (дней)	-0,244	0,021	89

Для оценки взаимосвязи между характеристиками течения ВИЧ-инфекции и титром вируснейтрализующих антител против SARS-CoV-2 проведен корреляционный анализ по Спирмену (таблица 3). Выявлена положительная связь величины титра антител к SARS-CoV-2 с количеством CD4-лимфоцитов, супрессией ВИЧ, а также отрицательная связь с уровнем ВН ВИЧ в сыворотке крови. Пол и возраст больных, форма тяжести COVID-19 значимого влияния не оказывали.

Оценка титров вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 в динамике

Через 3 месяца после перенесенного COVID-19 обследованы 62 больных, из них высокий титр антител обнаружен у 8 (12,8%) пациентов.

Через 6 месяцев у 9 из 53 обследованных (17%) обнаружены высокие титры антител. Методом Спирмена установлена ассоциация величины титра антител с основными характеристиками ВИЧ-инфекции на момент заболевания COVID-19. Так же, как и через месяц после перенесенной инфекции, отмечалась положительная корреляция титра антител с количеством CD4-лимфоцитов, супрессией ВИЧ и отрицательная корреляция с уровнем ВН ВИЧ в сыворотке крови.

Таким образом, оценка напряженности гуморального иммунитета после перенесенной COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией выявила низкую частоту развития эффективного постинфекционного иммунного ответа через месяц после перенесенного заболевания и единичные случаи сохранения высоких титров антител в течение последующих 6 месяцев.

Показатели клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2 у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией

Для оценки формирования клеточно-опосредованного ответа на SARS-CoV-2 через месяц после перенесенного заболевания обследован 21 пациент (14 мужчин и 7 женщин). Средний возраст больных составил $42,0 \pm 6,5$ лет. У большинства больных выявлена 4 стадия ВИЧ-инфекции (4А, 4Б, 4В соответственно у 3, 5 и 11 пациентов). При оценке клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2 методом ELISPOT сенсibilизированные Т-лимфоциты (положительный результат) обнаружены у 11 пациентов (52,4%), 9 из них получали АРТ. У больных с положительным результатом ELISPOT достоверно чаще наблюдали супрессию ВИЧ и большее количество CD4-лимфоцитов в крови. Не установлено значимых различий по тяжести течения COVID-19, длительности вирусыведения SARS-CoV-2 (таблица 4).

Таблица 4 – Сравнительная характеристика течения COVID-19 и ВИЧ-инфекции у больных, с наличием и отсутствием клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2

Показатель	Пациенты, обследованные методом ELISPOT, результат		p
	Положительный n=11	Отрицательный n=10	
Медиана (Q25;Q75) количества CD4+ лимфоцитов в крови, кл/мкл	388 (109; 977)	38 (18; 147)	0,011
Число пациентов с неопределяемой ВН ВИЧ в сыворотке крови	9	2	0,006
Легкая форма COVID-19, (n)	7	3	0,133
Среднетяжелая форма COVID-19, (n)	4	7	0,133
Me (Q25;Q75) длительности вирусыведения SARS-CoV-2, дней	12 (11; 32)	27 (17; 49)	0,323

*для качественных переменных использован точный критерий Фишера, для количественных данных – U-критерий Манна-Уитни

Результаты корреляционного анализа по Спирмену также продемонстрировали связь положительного результата ELISPOT с более высоким уровнем CD4-лимфоцитов ($r=0,567$;

$p=0,001$), снижением уровня ВН ВИЧ ($r = -0,448$; $p=0,047$) и достижением супрессии ВИЧ ($r=0,618$; $p=0,003$) в сыворотке крови.

Таким образом, у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией обнаружена связь формирования клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2 с репликативной активностью ВИЧ и выраженностью иммунодефицита; отсутствие связи с тяжестью и продолжительностью COVID-19.

Результаты определения генетических вариантов SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией

У 43 больных ВИЧ-инфекцией (средний возраст $41,4 \pm 6,5$ лет), перенесших COVID-19 с декабря 2020 г. по январь 2022 г., методом полногеномного секвенирования установлены генетические варианты SARS-CoV-2. У всех пациентов ВИЧ-инфекция была в стадии вторичных заболеваний, преимущественно 4В (37 человек, 86%). АРТ получали 10 пациентов (23,3%), при этом супрессия ВИЧ в сыворотке крови наблюдалась лишь у трех больных. Медиана количества CD4-лимфоцитов ($n=25$) составила 12,7 (4,8; 42,8) кл/мкл. Большинство пациентов перенесли COVID-19 средней степени тяжести; тяжелая и крайне тяжелая формы диагностированы в 10 (23,3%) случаях.

Установленные генетические варианты SARS-CoV-2 представлены на рисунке 1. У 18 (41,9%) пациентов был обнаружен вариант Delta (B.1.617.2), при этом преобладала сублиния AY.122, что согласуется с данными молекулярно-генетического мониторинга SARS-CoV-2 на территории РФ в рассматриваемый период (Акимкин В.Г. и др., 2022). Кроме того, у ВИЧ-инфицированных были обнаружены другие генетические варианты SARS-CoV-2, циркулировавшие в более ранние периоды эпидемии (в течение 2020 г. и в начале 2021 г.), которые практически не встречались в общей популяции по данным мониторинга после мая 2021 г.

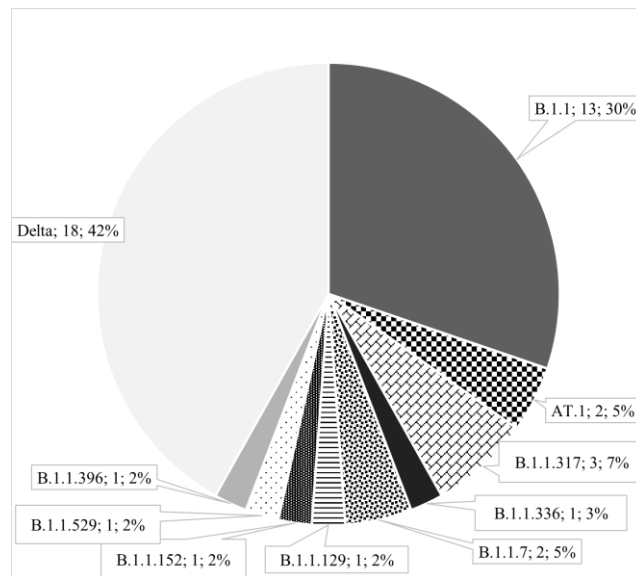


Рисунок 1. Геноварианты SARS-CoV-2, обнаруженные у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией в период с декабря 2020 г. по январь 2022 г.

При сравнении тяжести течения COVID-19, в том числе по частоте развития ОДН, у пациентов с вариантом Delta по сравнению с остальными штаммами SARS-CoV-2 достоверных различий получено не было. Различий в длительности вирусывыделения SARS-CoV-2 в зависимости от генетической разновидности вируса при анализе с помощью U-критерия Манна-Уитни также не наблюдалось ($p=0,068$).

Повторное секвенирование SARS-CoV-2 проведено 4 пациентам с длительным вирусывыделением, из которых у трех установлен вариант B.1.1 и у одного больного – Delta. Показано, что за время персистенции вируса у больных с геновариантом B.1.1 происходило накопление мутаций относительно референсного образца и по сравнению с первоначальным

образцом, полученным у пациента, причем с большей интенсивностью в гене Spike-белка (до 7 мутаций).

У 16 больных через месяц после COVID-19 исследованы титры антител к SARS-CoV-2. Высокие титры $\geq 1:160$ обнаружены у 3 пациентов, у двух из них секвенирован геновариант Delta. Связи между величиной титра антител и разновидностью SARS-CoV-2 по результатам анализа с применением точного критерия Фишера не выявлено ($p=0,214$).

Таким образом, не установлена связь между выявленными геновариантами SARS-CoV-2, тяжестью течения COVID-19, длительностью вирусывыделения, формированием специфического гуморального иммунного ответа. Получены данные о накоплении мутаций в вирусном геноме у больных с длительным вирусывыделением SARS-CoV-2.

Длительность вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией

Длительность вирусывыделения SARS-CoV-2 определяли как временной интервал между первым положительным и первым отрицательным результатами ПЦР в материале из верхних или нижних дыхательных путей. Данный показатель проанализировали у 170 больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией. Длительность вирусывыделения (рисунок 2) у больных с легким течением COVID-19 составила 13 (9; 36) дней; со среднетяжелым течением – 13 (10; 36) дней, с тяжелым и крайне тяжелым – 18 (9; 51) дней, при этом достоверных различий обнаружено не было (критерий Краскела-Уоллиса, $p=0,850$).

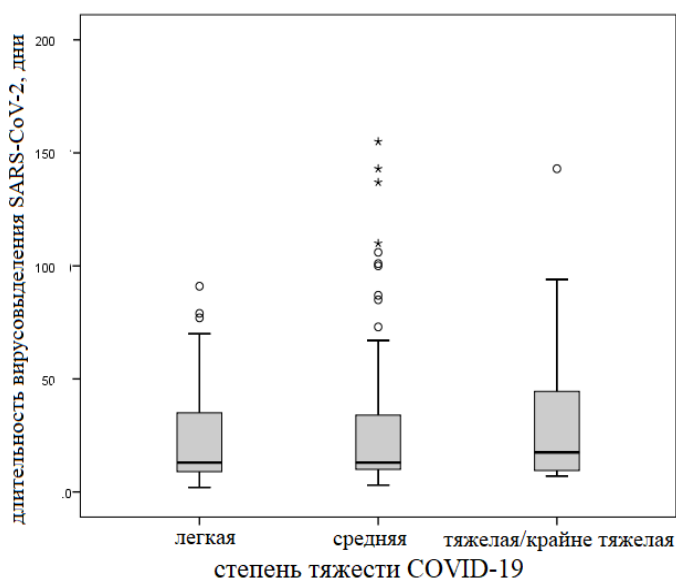


Рисунок 2. Длительность вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных с разной степенью тяжести COVID-19

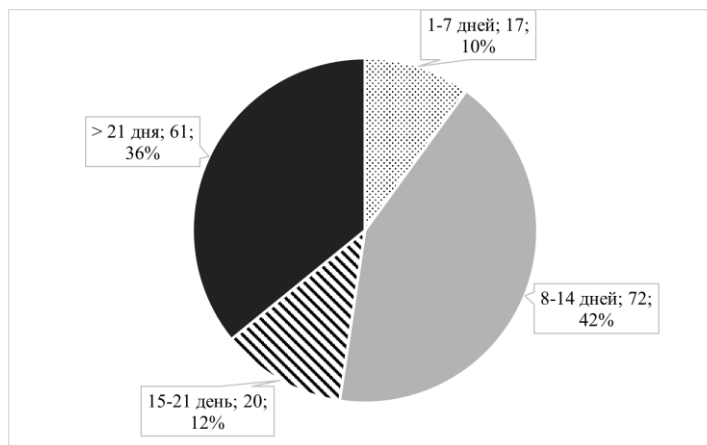


Рисунок 3. Продолжительность периодов вирусывыделения SARS-CoV-2 у больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией

Из данных рисунка 3 видно, что почти у половины больных (72 человека; 42,4%) положительный результат ПЦР на SARS-CoV-2 сохранялся от 8 до 14 дней. У 10% пациентов длительность вирусыведения не превышала 7 дней (17 человек), у 11,8% больных (20 человек) результат ПЦР на SARS-CoV-2 оставался положительным до 21 дня.

У 35,9% пациентов (61 человек) вирусыведение продолжалось более 21 дня (у 20 из них РНК SARS-CoV-2 выявляли на сроках от 60 до 155 дней от начала заболевания).

У пациентов с высокими и низкими титрами антител средняя продолжительность вирусыведения составила соответственно 16 ± 6 дней и 24 ± 13 дней ($p=0,002$). Скорость элиминации SARS-CoV-2 коррелировала с титрами специфических вируснейтрализующих антител (таблица 3).

Обращает на себя внимание низкий уровень CD4-лимфоцитов в группе больных с длительным вирусыведением более 21 дня (Me 42,3 (13,6; 111,9) кл/мкл). Методом Краскела-Уоллиса показано, что группы с различной длительностью вирусыведения SARS-CoV-2 значимо различались по количеству CD4-лимфоцитов ($p=0,001$). Последующие попарные сравнения с поправкой Бонферрони и использованием U-критерия Манна-Уитни выявили достоверно более низкие значения в группе пациентов с длительно сохраняющейся репликацией SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами в группах с вирусыведением 8-14 дней ($p=0,001$) и 15-21 день ($p=0,001$).

При сопоставлении пациентов с различными характеристиками течения ВИЧ инфекции (U-критерий Манна-Уитни) было установлено, что клиренс SARS-CoV-2 наступал достоверно позже у больных, не достигших супрессии ВИЧ ($p=0,05$), имевших низкие уровни CD4-лимфоцитов <200 кл/мкл ($p=0,001$). Дополнительный анализ по Каплану-Мейеру с лог-ранговым тестом (рисунок 4) подтвердил достоверно более поздние сроки клиренса SARS-CoV-2 у пациентов с глубоким иммунодефицитом.

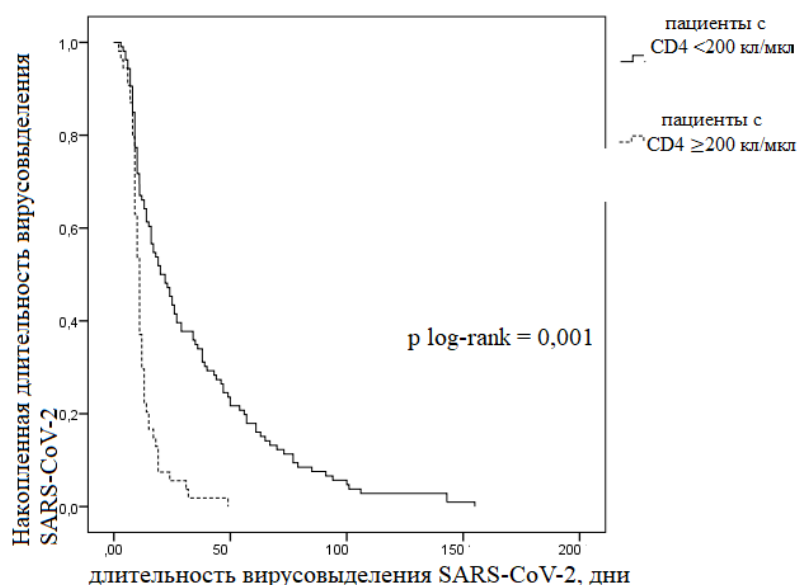


Рисунок 4. Длительность вирусыведения SARS-CoV-2 у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией в зависимости от выраженности иммунодефицита

Корреляционный анализ по Спирмену подтвердил ассоциацию длительности вирусыведения SARS-CoV-2 с супрессией ВИЧ в сыворотке крови ($p=0,49$), снижением числа CD4-лимфоцитов ($p=0,001$).

ВЫВОДЫ

1. У больных COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией преобладают среднетяжелая (44,9%) и легкая (39%) формы заболевания. Выраженный иммунодефицит ($CD4 < 200$ кл/мкл) и отсутствие АРТ связаны с развитием тяжелого течения COVID-19, осложненного ОДН, и необходимостью интенсивной терапии.

Лишь у четверти (26,5%) умерших непосредственной причиной смерти была тяжелая форма COVID-19, осложненная ОРДС и прогрессирующей ОДН. С наибольшей частотой (41,2%) летальность обусловлена сочетанием COVID-19 и тяжелых ВИЧ-ассоциированных состояний, в том числе с поражением легких. В 32,3% случаев летальный исход связан с прогрессированием ВИЧ-инфекции. У всех умерших выявлен выраженный иммунодефицит (медиана количества CD4-лимфоцитов 18,9 (6,1; 46,1) кл/мкл).

2. Установлена низкая частота формирования гуморального постинфекционного иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией. Не установлена связь между образованием вируснейтрализующих антител и тяжестью течения COVID-19 и длительностью вирусывыделения SARS-CoV-2. Титр вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 $\geq 1:160$ сформировался лишь у 15,4% больных, и коррелировал с неопределяемой вирусной нагрузкой ВИЧ и количеством CD4-лимфоцитов в периферической крови.

3. Методом ELISPOT не установлено связи между тяжестью течения COVID-19 и длительностью вирусывыделения SARS-CoV-2. Обнаружение у реконвалесцентов COVID-19 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией сенсibilизированных Т-лимфоцитов к SARS-CoV-2 ассоциировано с неопределяемой ВН ВИЧ и большим количеством CD4-лимфоцитов.

4. Длительное вирусывыделение SARS-CoV-2 (более 21 дня) выявлено у 35,9% пациентов с ВИЧ-инфекцией. Персистенция вируса сохранялась достоверно дольше у пациентов с $CD4 < 200$ кл/мкл, чем у больных с уровнем $CD4 \geq 200$ кл/мкл ($p=0,014$). Скорость элиминации SARS-CoV-2 положительно коррелировала с показателем титра специфических вируснейтрализующих антител ($p=0,021$). Не установлена связь длительности вирусывыделения с различными геновариантами SARS-CoV-2 и тяжестью течения COVID-19.

Практические рекомендации

У больных ВИЧ-инфекцией для предупреждения тяжелых форм COVID-19 и длительного вирусывыделения SARS-CoV-2 необходимо раннее назначение этиотропной терапии новой коронавирусной инфекции независимо от формы тяжести.

У больных COVID-19 с выявленной ВИЧ-инфекцией необходима оценка иммунного статуса и диагностика вторичных ВИЧ-ассоциированных поражений легких.

Больные ВИЧ-инфекцией, не получающие АРТ, нуждаются в скорейшем назначении антиретровирусных препаратов для предупреждения прогрессирования ВИЧ-инфекции и развития тяжелых форм COVID-19.

У больных ВИЧ-инфекцией рекомендуется проводить лабораторный контроль вирусывыделения SARS-CoV-2 методом ПЦР для подтверждения санации организма от возбудителя COVID-19 после курса терапии.

Больных ВИЧ-инфекцией следует рассматривать как приоритетную группу для вакцинации против новой коронавирусной инфекции в связи с низкой частотой формирования гуморального иммунного ответа после перенесенного COVID-19.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Нами показано влияние выраженности иммунодефицита у больных ВИЧ-инфекцией на течение и исходы новой коронавирусной инфекции, однако взаимодействие двух вирусов и их взаимное влияние, а также влияние SARS-CoV-2 на течение ВИЧ-инфекции остается объектом научного интереса.

Установлено, что течение COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией с выраженным иммунодефицитом сопровождается длительным вирусывыделением, что создает условия для мутационной активности возбудителя. Вследствие мутации вирус может приобретать новые свойства, направленные на избегание иммунного ответа организма, формирование резистентности к противовирусным препаратам, что нуждается в дальнейшем изучении. Полученные результаты могут быть распространены на другие респираторные вирусы и пациентов с иммунодефицитами разной этиологии.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Побегалова О.Е., Холодная А.Н., Лиознов Д.А., Даниленко Д.М., Сергеева М.В. Характеристика гуморального иммунного ответа на инфекцию COVID-19 у лиц, живущих с ВИЧ // VI Санкт-Петербургский форум по ВИЧ-инфекции с международным участием, СПб, 2021 г. // Журнал инфектологии. Приложение 1. – 2021. – Т.13, №3.– С. 158.
2. Побегалова О.Е., Лиознов Д.А., Холодная А.Н., Даниленко Д.М. Уровень вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 после перенесенной COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией // Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания: Материалы VIII Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием. г.Сочи 2021 г. - С. 156-157.
3. Побегалова О. Е., Николаенко С. Л., Холодная А. Н., Лиознов Д. А. Тяжесть течения COVID-19 у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от приема антиретровирусной терапии // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: Сб. трудов XIV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И.Покровского М. - 2022. – С. 134.
4. Илиева К., Карнаухова Е.Ю., Побегалова О.Е., Лиознов Д.А. Клинические случаи пневмоцистной пневмонии у больных ВИЧ-инфекцией на фоне COVID-19 // Журнал инфектологии. – 2022. – Т.14, №4. – С. 126-131.
5. Побегалова О.Е., Козьмовская Н.В., Монахов Н.Э., Холодная А.Н., Даниленко Д.М., Антонова Т.В., Лиознов Д.А. Динамика титра вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 после перенесенной новой коронавирусной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией //ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2022. – Т.14, №4. – С. 59-66.
6. Побегалова О. Е. Характеристика уровня вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией после COVID-19 //Материалы конференции молодых ученых и специалистов «Новости инфектологии, микробиологии и биотехнологии-2022», посвященной памяти и 90-летию со дня рождения профессора Азы Гасановны Рахмановой, декабрь 2022 г. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2023. – Т.15, №1. – С.73-74.
7. Побегалова О. Е., Николаенко С. Л., Шуклина М. А., Шурыгина А.-П.С., Лиознов Д.А. Характеристика Т-клеточно-опосредованного иммунного ответа на SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией //Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: Сб. трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского М. - 2023. – С. 176.
8. Побегалова О.Е., Лиознов Д.А., Антонова Т.В., Шуклина М.А., Шурыгина А.-П.С. Т-клеточный иммунный ответ на SARS-CoV-2 у больных ВИЧ-инфекцией // Инфекционные болезни. – 2023. – Т.21, №1. – С. 5–9.

Список сокращений

- АРТ – антиретровирусная терапия
- ВН ВИЧ – вирусная нагрузка ВИЧ
- КТ – компьютерная томография
- ЛЖВ – люди, живущие с ВИЧ
- ОДН – острая дыхательная недостаточность
- ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром
- ПЦР – полимеразно-цепная реакция
- СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
- СРБ – С-реактивный белок
- CD4 – CD4-лимфоциты
- COVID-19 – Coronavirus disease 2019 (коронавирусная инфекция 2019 года)
- SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома-2)