

**Ziņojums par
10-4/ VPP-5/4 apakšprojekta 9.1**

**“Imūnsupresējošo vīrusu (HIV, hepatīta, gripas vīrusu)
un saimniekorganisma mijiedarbības mehānismi,
likumsakarības un klīniskās konsekvences”**

4.posma izpildi

**Akcenti: jaunākais ieskats HIV infekcijas patoģenēzes
un norises mehānismu izpētē**

10.10.2013.L.Vīksna, V.Sondore, I.Ekšteina
Rīgas Stradiņa universitāte

Apakšprojekta 9.1. «Imūnsupresējošo vīrusu (HIV, hepatīta, gripas vīrusu) un saimniekorganisma mijiedarbības mehānismi, likumsakarības un klīniskās konsekvences» mērķis

Izpētīt izplatītāko un Latvijai aktuālāko imūnsupresējošo vīrusu (**HIV, hepatīta**, gripas vīrusu) un saimniekorganisma mijiedarbības bioķīmiskos, imunoloģiskos un virusoloģiskos mehānismus, identificēt mijiedarbības galvenās **likumsakarības** un iezīmēt ar tām saistītās klīniskās konsekvences

Uzdevumi

Apakšprojekts 9.1.

Darbības nosaukums	Izpildes laiks	Atšifrējums	Izpilde
Apoptozes marķieru, reducētā glutaciona, hialuronskābes noteikšana (turpinājums no 2012.g.)	Līdz 30.11.2013.	20 pacientiem	Notiek rezultātu analīze , likumsakarību konstatēšana kontekstā ar imūnsupresējošo vīrusu klātbūtnes ietekmi
Cirkulējošo antivielu pret endotoksīnu serdes daļu noteikšana (turpinājums no 2012.g.)	Līdz 30.11.2013.	20 pacientiem	HIV infekcijas patogēnēzes pētījums
Endotoksīna līmeņa noteikšana asinīs	Līdz 30.11.2013.	15 pacienti	HIV infekcijas patogēnēzes pētījums
Pētījumā pielietoto informatīvāko metožu identifikācija, balstoties uz iepriekšējos projekta posmos iegūtajiem rezultātiem	30.06.2013.	Analītiskais darbs	Informācija par katras metodes pielietošanas lietderību klīniskajā praksē
Projekta izpildes gaitā iegūto rezultātu multifaktoriāla analīze	30.11.2013.	Analītiskais darbs	Informācija par imūnsupresējošo vīrusu un makroorganisma mijiedarbības likumsakarībām un klīniskajām konsekvencēm
Publikāciju gatavošana	30.11.2013.		Sagatavoti un nopublicēti 2 manuskripti
Gala rezultātu patentekspertīze	30.11.2013.	Analītiskais darbs	Informācija par gala rezultātu patentspēju un papildus patentēšanas iespējām

Rezultāti (A)

Pierādīta apoptozes procesu līdzdalība HIV infekcijas patoģenēzē un evolūcijā – statistiski pārliecinoši **pieaug citokeratīna-18 neoepitopa** (CK-18) un **citohroma C līmenis asinīs**, kam seko CD4+ T-šūnu zudums un oportūnistisko infekciju pievienošanās.

Citohroma C līmeņa paaugstināšanās asinīs ir **šūnu mitohondriju bojājuma** un efektīva šūnu enerģētiskā metabolisma izmaiņu indikators.

Jaunākais ieskats HIV infekcijas patoģenēzes un norises mehānismu izpētē

Rīgas Stradiņa universitātes
doktorante Ilze Ekšteina

Analizētas 99 pacientu slimības vēstures vecumā no 24 līdz 62 gadiem.

Pacienti analizēti sekojoši rādītāji:

- ✓ CD4 T limfocītu absolūtais skaits
- ✓ HIV RNS kvantitatīvi
- ✓ apoptozes rādītāji – citokeratīna 18 neoepitops (CK-18), citohroms C (CC)
- ✓ fibrozes marķieris – hialuronskābe (HA)

No 99 pacientiem

- 37 (37,4%) tika konstatēti paaugstināti citokeratīna 18 neoepitopa rādītāji
- 7 (7,1%) pacientiem paaugstināti citohroma C rādītāji
- 49 (49,4%) pacientiem abi šie rādītāji bija paaugstināti

Hialuronskābes paaugstināšanās konstatēta 15 pacientiem (15,2%).

Analizēta HA, CK18, CC līmeņa korelācija ar CD4 šūnu skaitu, HIV-RNS slodzi.

Analizējot HA, CK18, CC līmeni un HIV-RNS slodzi tika konstatēta vāja korelācija starp HA un HIV-RNS slodzi (p-0,064).

Spearman's rho		HIV RNS	Hialuronskābe	Citokeratīns 18 neoepitops	Citohroms C
HIV RNS	Correlation Coefficient	1,000			
	Sig. (2-tailed)	.			
	N	101			
Hialuronskābe	Correlation Coefficient	0,209	1,000		
	Sig. (2-tailed)	0,064	.		
	N	79	81		
Citokeratīns 18 neoepitops	Correlation Coefficient	0,017	,269(*)	1,000	
	Sig. (2-tailed)	0,875	,015	.	
	N	88	81	91	
Citohroms C	Correlation Coefficient	-0,074	,054	,073	1,000
	Sig. (2-tailed)	0,499	,632	,054	.
	N	85	81	87	87

Netika konstatēta korelācija starp HA, CK18, CC līmeni
un CD4 šūnu skaitu.

Spearman's rho		CD4 skaits	Hialuronskābe	Citokeratīns 18 neoepitops	Citohroms C
CD4 skaits	Correlation Coefficient	1,000			
	Sig. (2-tailed)	.			
	N	99			
Hialuronskābe	Correlation Coefficient	-0,095	1,000		
	Sig. (2-tailed)	0,404	.		
	N	79	81		
Citokeratīns 18 neoepitops	Correlation Coefficient	-0,035	0,269(*)	1,000	
	Sig. (2-tailed)	0,745	0,015	.	
	N	87	81	91	
Citohroms C	Correlation Coefficient	-0,158	0,054	0,073	1,000
	Sig. (2-tailed)	0,150	0,632	0,504	.
	N	84	81	87	87

Tika analizēti HA, CK18, CC līmeņi atkarībā no HIV infekcijas stadijas. Ticamas atšķirības tika konstatētas HA dažādās HIV infekcijas stadijās.

Stadija (2)		Percentiles						
		5	10	25	50	75	90	95
Hialuronskābe	A1+A2	4,19400	8,51940	12,64750	20,00000	28,39050	103,37600	.
	A3	2,45000	2,67154	4,63270	14,35000	30,00000	266,27880	.
	B1+B2+C1+C2	15,24000	15,24000	20,62650	45,04800	72,38000	.	.
	B3+C3	11,52440	13,56520	20,00000	28,49900	35,00000	55,00000	112,92340
Citokeratīns 18 neoepitops	A1+A2	84,81300	88,82250	118,07250	170,68000	258,65250	358,82400	.
	A3	82,93100	86,82280	107,37000	140,30000	154,90000	750,01800	.
	B1+B2+C1+C2	125,00000	125,00000	158,24000	180,60000	257,59500	.	.
	B3+C3	75,25740	89,50200	115,00000	160,00000	255,00000	381,17200	666,26000
Citohroms C	A1+A2	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,028350	2,587200	.
	A3	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,480000	1,368000	.
	B1+B2+C1+C2	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,035676	.	.
	B3+C3	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,390000	2,249600	3,376000

Iespējamais skaidrojums – nozīme ir tam, ka 3. (B1+B2+C1+C2) un 4.grupā (B3+C3) VHC sastopams salīdzinoši biežāk nekā 1. (A1+A2) un 2. (A3) grupā.

Tā ir 1.grupā 10 no 24 (41,7%), 2.grupā 8 no 17 (47,1%), 3.grupā 8 no 11 (72,7%), 4.grupā 32 no 54 (59,3%).

Lai precizētu VHC ietekmi, veikta HA, CK18, CC analīze atkarībā no VHC esamības

VHC		Percentiles						
		5	10	25	50	75	90	95
Hialuronskābe	Ir	7.73577	13.04040	16.27325	29.77500	52.29550	109.93100	266.71250
	Nav	3.33616	6.04560	13.50000	22.65100	28.49900	35.00000	43.58640
	Total	4.89743	9.27060	15.00000	25.14000	35.00000	79.80800	118.07300
Citokeratīns 18 neoepitops	Ir	85.14895	106.62000	123.54500	189.15500	291.25000	423.15800	646.28000
	Nav	75.40240	86.81520	110.00000	140.30000	175.36000	289.48400	559.43200
	Total	83.40000	93.40800	115.37000	160.00000	248.54500	360.92800	524.61000
Citohroms C	Ir	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.408000	2.383000	3.230500
	Nav	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.070000	1.524000	2.197992
	Total	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.247298	1.945248	2.579000

	VHC	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hialuronskābe	Ir	46	47,80	2199,00
	Nav	35	32,06	1122,00
	Total	81		
Citokeratīns 18 neoepitops	Ir	51	52,66	2685,50
	Nav	40	37,51	1500,50
	Total	91		
Citohroms C	Ir	50	46,93	2346,50
	Nav	37	40,04	1481,50
	Total	87		

	Hialuronskābe	Citokeratīna 18 neoepitops	Citohroms C
Mann-Whitney U	492,000	680,500	778,500
Wilcoxon W	1122,000	1500,500	1481,500
Z	-2,985	-2,715	-1,388
Asymp.Sig. (2-tailed)	0,003	0,007	0,165

CD4 šūnu skaita un oportūnistisko infekciju esamības dati tika analizēti 69 pacientiem. Datu apstrādei tika izmantota parametriskā datu apstrādes metode – T tests.

Šo aprēķinu rezultātā tika atrastas statistiski nozīmīgas atšķirības CK18 līmenī starp

- grupu bez OI un $CD4 < 200$ š/mkl un grupu bez OI un $CD4 > 200$ š/mkl
- Starp grupu ar $CD4 < 200$ š/mkl bez OI un grupu ar $CD4 < 200$ š/mkl ar OI

Šī atrade liek domāt, ka CK18 līmeņa pieaugums notiek pirms CD4 šūnu krišanas.

Rezumē

1. Konstatēta korelācija starp HIV-RNS vīruslodzi un HA
2. Konstatēta korelācija starp slimības stadijām un HA
3. Ir konstatēts ka VHC ir kā nozīmīgs faktors kas ietekmē fibrozes procesus HIV inficētiem pacientiem, ko apliecina atšķirības HA rādītājos
4. Nav konstatēta korelācija starp CK18, CC un HIV-RNS

Rezultāti (B)

legūtie dati par glikozes un triglicerīdu vielmaiņu HIV infekcijas gadījumā liecina, ka **glikozes vielmaiņas traucējumi un dislipidēmija korelē** HIV infekcijas sākumposmā, kad pacients terapiju vēl nesaņem.

Konstatēts **augsts cirkulējošā endotoksīna līmenis HIV inficēto asinīs**. Zarnu flora, mikrobu translokācija un sekojošā endotoksēmija varētu būt ļoti svarīgs HIV infekcijas patogēnēzes un progresijas komponents.

Veikti HLA ģenētisko polimorfismu pētījumi un **identificētas HIV predispozīcijas** un rezistences pret HIV allēles.

Izvērtēta ar **HIV rezistenci asociēto mutāciju izplatība un profils** pacientiem ar neefektīvu pirmās līnijas terapiju: vērojams HIV rezistences pieaugums līdz 57% 2009.-2011.gadā, salīdzinot ar 41% gadījumu 2006.-2008.gadā.

Rezultāti (C)

Izanalizēta autoantivielu klātbūtne un spektrs hroniska C vīrushepatīta slimniekiem pirms antivirālās terapijas uzsākšanas. **Autoimūnais komponents** konstatēts 60% pacientu, pārsvarā HCV 1.genotipa, retāk – HCV 2., 3., 4.genotipa infekcijas gadījumā; prevalē autoantivielas pret gludo muskulatūru.

Veikta endo- un ksenobiotiķu metabolismā iesaistīto **enzīmu kodējošo gēnu polimorfismu nozīme** hroniska C vīrushepatīta slimniekiem: šiem slimniekiem biežāk kā veseliem cilvēkiem sastopams GSTM1 nulles genotips, GSTT-1 nulles genotips un CCR5 gēna 32 bp delēcija, pie tam GSTM1 nulles genotips ir saistīts ar paaugstinātu citokeratīna neoepitopa-18 līmeni, bet mazāku histoloģiskās aktivitātes indeksu. Pacientiem, kuriem antivirālās terapijas rezultāts ir pozitīvs, biežāk sastopams GSTM1 nulles genotips un CCR-5 gēna 32 bp delēcija.

Saimniekorganisma (slimnieka) un hepatīta vīrusu ģenētisko u.c. parametru pētījumi to savstarpējās **mijiedarbības** procesā liek domāt par jaunu priekšstatu veidošanās iespēju un jaunas koncepcijas izstrādi vīrusu mutaģenēzes mehānismu sakarā.

Rezultāti (D)

Pandēmiskās gripas **A/H1N1 vīruss** tika atrasts ne tikai augšējos elpceļos, bet arī **plaušās** (autopsijas materiālā). Tas lika revidēt līdzšinējās gripas un gripas komplikāciju ārstēšanas shēmas un taktiku 2012./2013.gada gripas epidēmijas laikā.

Novērotie citu orgānu – nieru, aizkuņģa dziedzera, kuņģa-zarnu trakta – bojājumi mirušajiem gripas slimniekiem ir objektīvs pamatojums šo bojājumu rakstura tālākai padziļinātai izpētei un to novēršanas metožu izstrādei.

Sasniegtie izmērāmie raksturlielumi (1)

Patenti 2013.gadā

Latvijas patents uz izgudrojumu **Nr.LV 14618B «Imūndeficīta sindroma (AIDS) sākuma prognozēšanas paņēmiens»**. Pieteikuma datums: 25.09.2012. Patenta publikācijas datums: 20.07.2013. Autori: V.Sondore, I.Ekšteina, N.Sevastjanova, B.Rozentāle, L.Vīksna.

Sasniegtie izmērāmie raksturlielumi (2)

Publikācijas 2013.gadā

1. Publikācijas, kas iekļautas starptautiski pieejamās zinātniskajās datu bāzēs:

- ✓ L.Vīksna, A.Jēruma, G.Stūre, B.Rozentāle, A.Ivanovs, J.Keišs, V.Sondore. Baltic postmarketing study of pegilated interferon α -2a 40 kD efficacy and safety in patients with HB_eAg-negative chronic hepatitis B. – Virology&Mycology, 2013, v.2, Nr.1, doi: 10.417/2161-0517.1000108, 8 pages.
- ✓ L.Piekuse, B.Lāce, M.Kreile, L.Sadovska, I.Kempa, Z.Daneberga, I.Mičule, V.Sondore, J.Keišs, A.Krumina. Impact of the genes UGT1A1, GSTT1, GSTM1, GSTA1, GSTP1 and NAT2 on alcohol-tohic hepatitis. – Central European Journal of Biology, DOI: 102478B/s 11535-013-0249-y; 6 pages.
- ✓ L.Piekuse, M.Kreile, A.Zarina, Z.Shteinberga, V.Sondore, J.Keišs, B.Lāce, A.Krumina. Association of inherited liver disorders with chronic hepatitis C. – Hepatitis Monthly (iesniegts publicēšanai).

Sasniegtie izmērāmie raksturlielumi (3)

Publikācijas 2013.gadā

2. Publikācijas Latvijas profesionālajos izdevumos:

- ✓ L.Vīksna. Akūts retrovīrusa sindroms: teorija un prakse. Akūta HIV ierosināta slimība. – Latvijas Ārsts, 2013, jūnijs, lp.2.-4.

3. Tēzes:

- ✓ L.Piekuse, M.Kreile, A.Zariņa, V.Sondore, J.Keišs, A.Krūmiņa. Inherited monogenic liver pathology association with chronic viral hepatitis C infection. – Latvijas Universitātes 71.zinātniskās konferences Medicīnas sekcijas tēžu apkopojums, Rīga, 2013.gada 15.februāris, p.59.
- ✓ L.Vīksna, E.Seļicka. Blood-borne infections and pregnancy. – 2nd International Medical Meeting, 17th LDVA Congress, 14-15 June, 2013, Riga, Latvia. Final Program and Abstract Book, p.21-22.
- ✓ V.Jasinskis, D.Kasjko, L.Kovalchuka, G.Sture, L.Vīksna, J.Eglīte, A.Sochnevs, B.Rozentale. The effectiveness of antiretroviral therapy for HIV – infected patients with different HLA class II haplotypes. – Idem, p.46.

Sasniegtie izmērāmie raksturlielumi (4)

Publikācijas 2013.gadā

- ✓ V.Sitkare, I.Januškeviča, B.Rozentāle. Latenta TB infekcija un smaga garīga atpalcība HIV inficētiem bērniem. – Turpat, lp.59.
- ✓ A.Mangia, V.de Ledinghen, J.Keiss, J.Valantinas, J.Brahm, N.Rasmann, D.Messinger, F.Tatsch on behalf of the Gen-C study group. Correlation of IL28B polymorphism with degree of fibrosis: analysis of treatment-naive and treatment-experienced Caucasian patients infected with HCV genotype 1 in the Gen-C study. – EASL Meeting, Berlin, 26 April, 2013, P-863.
- ✓ D.Kasjko, V.Jasinskis, J.Eglīte, E.Dobele, L.Kovaļčuka, G.Stūre, B.Rozentāle. DRB1*01:01 gēna mutācijas izpēte 2.eksonā HIV/AIDS pacientiem. – RSU 2013.gada Zinātniskā konference. Tēzes, lp.166.
- ✓ V.Jasinskis, D.Kasjko, J.Eglīte, E.Dobele, L.Kovalchuka, L.Viksna, G.Stūre. Genetic polymorphisms interitance associated with rapid progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. – Idem, p.167.
- ✓ I.Januskevica, K.Abeltina, A.Sangirejeva, N.Sevastjanova, V.Sondore, L.Viksna, B.Rozentale. Endotoxin in serum of HIV infected patients. – Idem, p.183.

Sasniegtie izmērāmie raksturlielumi (5)

Publikācijas 2013.gadā

- ✓ A.Šangirejeva, G.Stūre, I.Zeltiņa, I.Januškeviča, B.Rozentāle. HIV un grūtniecība. Pieredze Latvijā (2008.-2011.g.) – Turpat, lp.184.
- ✓ A.Šangirejeva, I.Zeltiņa, G.Stūre, I.Januškeviča, G.Saulīte, B.Rozentāle. HIV inficētu pacientu mirstības tendences Latvijā 2011.-2012.adā. – Turpat, lp.185.
- ✓ D.Dušacka, L.Guseva, T.Kolupajeva, A.Šangirejeva, I.Januškeviča, V.Sitkare, J.Storoženko, L.Vīksna, B.Rozentāle. HIV-1 zāļu rezistence pacientiem ar pirmās izvēles antiretrovirālās terapijas neveiksmi Latvijā 2009.-2011.gadā. – Turpat, lp.190.
- ✓ E.Hagina, F.Arsh, V.Kuse, J.Eglite, Asochnevs, L.Viksna. Autoantibody prevalence in chronic hepatitis C patients in Latvia. – Idem, p.196.
- ✓ G.Stūre, I.Zeltiņa, A.Šangirejeva, I.Januškeviča, B.Rozentāle. Akūts retrovīrusa sindroms – aktualitāte un problēmas Latvijā. – Turpat, lp.202.
- ✓ I.Ekšteina, N.Sevastjanova, A.Ivanovs, S.Laivacuma, K.Āboltiņa, I.Januškeviča, B.Rozentāle, V.Sondore, L.Vīksna. Glikozes un triglicerīdu vielmaiņas traucējumi HIV inficētiem pacientiem. – Turpat, lp.207.

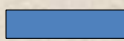
Kopā: 18 publikācijas

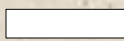
Apakšprojekta 9.1. izpildi veicinošie un kavējošie faktori

Veicinošie	Kavējošie
✓ Iepriekšējo gadu pieredze, veiksmīga sadarbība ar VPP un 9.projekta vadību ✓ Jauno zinātnieku, kas strādā pie saviem promocijas darbiem, piesaiste apakšprojektam	✓ Darbs pie atskaitēm pirms atskaitē ietveramā termiņa beigām ✓ Problēmas dokumentu, tai skaitā finanšu, apritē ✓ Birokrātiskie šķēršļi reaģentu iegādē

Apakšprojekta 9.1. izpildītāji

Nr.p. k.	Vārds, uzvārds	Nodarbinātības ilgums (mēn.) attiecīgajā projektā	Projektā veiktie uzdevumi
1.	Ludmila Vīksna	10	Apakšprojekta vadība, klīniskā interpretācija
2.	Valentīna sondore	10	Pētījumu dizains, interpretācija
3.	Baiba Rozentāle	3	Pētījumu rezultātu klīniskā interpretācija
4.	Jāzeps Keišs	8	Vīrushepatītu pētījumi
5.	Tatjana Kolupajeva	10	HIV marķieru pētījumi
6.	Frīda Arša	10	Hepatītu seroloģiskā diagnostika
7.	Natalija Sevastjanova	10	Bioķīmiskie pētījumi
8.	Jeļena Storoženko	3	Laboratorijas diagn.nodrošinājums
9.	Diāna Dušacka	10	HIV rezistences pētījumi
10.	Ilze Ekšteina	5	HIV/AIDS pētījumi
11.	Vizma Ivanova	2	Tehniskais atbalsts

 vadītāji vai analītiķi

 doktoranti

Paldies par uzmanību!