

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Санкт-Петербургский научно – исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

На правах рукописи

Щемелев Александр Николаевич

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1
НА ТЕРРИТОРИЯХ С РАЗЛИЧАЮЩЕЙСЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
СТРУКТУРОЙ ВИРУСНОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

1.5.10 Вирусология

3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:

к.б.н. Останкова Ю.В.

д.б.н. Семенов А.В.

Санкт-Петербург

2023

Оглавление

Актуальность темы исследования	5
Цель исследования	7
Задачи исследования.....	7
Научная новизна.....	8
Теоретическая и практическая значимость	9
Положения, выносимые на защиту	9
Методология исследования	10
Соответствие диссертации паспортам научных специальностей	11
Степень достоверности и апробация результатов исследования	11
Личный вклад автора	12
Реализация результатов работы	13
Публикации результатов исследования.....	13
Объем и структура диссертации	14
Глава 1. Характеристика вируса иммунодефицита человека (обзор литературы). 15	
1.1. Эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции	15
1.2. Молекулярно-биологическая характеристика ВИЧ-1	16
1.2.1 Организация генома и строение вириона ВИЧ-1	16
1.2.2 Жизненный цикл ВИЧ	20
1.2.3 Генетическое разнообразие ВИЧ	23
1.3. Методы лечения ВИЧ-инфекции.....	26
1.3.1 Применяемые схемы АРТ в России	29
1.3.2 Применяемые схемы АРТ в Гвинейской Республике	30
1.4 Диагностика лекарственной устойчивости ВИЧ.....	30
1.5 Лекарственная устойчивость ВИЧ в мире	34
1.6 Распространенность и структура лекарственной устойчивости ВИЧ на территории РФ и сопредельных государств	38
1.7 Встречаемость вариантов ВИЧ, обладающих ЛУ, на территории Гвинейской Республики.	40

Глава 2. Материалы и методы	43
2.1 Материалы исследования	43
2.2 Методы исследования	44
2.2.1 Транспортировка и хранение образцов	44
2.2.2 Молекулярно-биологические методы	44
2.2.3 Биоинформатические методы	45
2.2.4 Принципы формирования базы данных	49
2.2.5 Статистические методы	49
Глава 3. Молекулярно-генетический анализ ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в СЗФО	50
3.1 Описание обследованной популяции	50
3.2 Разнообразие схем АРТ у пациентов с вирусологической неэффективностью лечения в СЗФО	51
3.3 Генетическое разнообразие и встречаемость мутаций ЛУ в СЗФО	52
3.4 Встречаемость ЛУ ВИЧ у пациентов с разным уровнем приверженности к терапии	59
3.5 Встречаемость МЛУ у пациентов с неэффективностью 1 линии АРТ	60
3.6 Встречаемость МЛУ в регионах СЗФО с различной пораженностью ВИЧ-инфекцией	62
3.6.1 Ленинградская область	62
3.6.2 Архангельская область	64
3.6.3 Калининградская область	68
Глава 4. Сравнительный анализ первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 разных субтипов	76
4.1 Анализ распространенности фармакорезистентности ВИЧ у пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией из СЗФО	76
4.2. Сравнительный анализ распространенности мутаций ЛУ ВИЧ-1 среди пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией из Гвинейской Республики	79
Глава 5. Разработка базы для хранения и обработки данных мониторинга распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ-1	82

Глава 6. Обсуждение.....	89
6.1 Молекулярно-генетическое разнообразие ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из СЗФО.....	89
6.1.1 Молекулярно-генетическая характеристика изолятов ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Ленинградской области.....	93
6.1.2 Молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Архангельской области.....	94
6.1.3 Молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Калининградской области	97
6.2 Корреляция между приверженностью пациентов к АРТ и формированием устойчивых вариантов вируса.....	99
6.3 Особенности формирования лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью первой линии АРТ	101
6.4 Распространенность и молекулярно-генетические особенности устойчивых вариантов вируса среди пациентов без опыта АРТ	103
6.5 Молекулярно-генетические особенности ВИЧ-1 нетипичных для СЗФО субтипов на примере Гвинейской Республики.....	104
6.6 Применение разработанной базы данных в лабораторной практике	107
Заключение.....	108
Выводы	111
Практические рекомендации.....	113
Перспективы дальнейшей разработки темы исследования	114
Список используемых сокращений.....	115
Список литературы	117

Введение

Актуальность темы исследования

На сегодняшний день, согласно данным The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), в мире зарегистрированы 31,6 – 44,5 миллиона человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), при этом число новых заражений за 2019 год составило 1,2 – 2,2 млн. случаев [181]. На конец 2020 г. в мире насчитывалось около 40 миллионов лиц, живущих с ВИЧ [181]. Российская Федерация (РФ) на сегодняшний день является одним из регионов с максимальными темпами развития эпидемии. По данным Министерства Здравоохранения РФ количество случаев ВИЧ-инфекции в стране превышает 408 тыс. чел. Однако Минздрав учитывает только тех пациентов, которые состоят на диспансерном наблюдении. Реальное число лиц с ВИЧ в стране оценивается UNAIDS в пределах 0,8 – 1,2 млн. чел. Эпидемия носит концентрированный характер, что означает распространенность ВИЧ преимущественно в группах риска [19]. ВИЧ-инфекция в России относится к так называемым социально значимым заболеваниям, опасным для окружающих, а также признана угрозой национальной безопасности [48, 59]. В первом полугодии 2020 года в Российской Федерации было выявлено 38 126 лиц, имеющих антитела к ВИЧ-1, а к концу I полугодия 2020 г. Роспотребнадзором было зарегистрировано 1 094 050 россиян с лабораторно подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекция [19].

Активное использование антиретровирусной терапии (АРТ) в настоящее время является главным способом контроля над эпидемическим процессом, позволяет снизить пораженность, заболеваемость и смертность от ВИЧ-инфекции и заболеваний, ассоциированных с синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД). За двадцать лет XXI века число новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией в мире уменьшилось на 37 %, а смертность от причин, связанных с ВИЧ, снизилась на 45 %. Благодаря терапии в мире за аналогичный период было спасено 13,6 миллиона лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ) [181]. На сегодняшний день применение антиретровирусных препаратов (АРП) позволяет значительно улучшить качество жизни пациентов с ВИЧ-инфекцией, а также является профилактическим

фактором, так как в результате лечения снижается вирусная нагрузка (ВН) и вероятность передачи вируса половым путем. Однако повсеместное использование АРТ связано с развитием лекарственной устойчивости (ЛУ) вируса к препаратам, что приводит к неэффективности терапии. В связи с тем, что ЛУ непосредственно влияет на стратегию выбора лечения, она является объектом эпидемиологического и молекулярно-генетического надзора. Главным маркером лекарственной устойчивости является вирусологическая неэффективность, которая оценивается по показателю вирусной нагрузки (количество копий РНК ВИЧ в мл плазмы крови человека), терапия считается успешной при неопределяемом уровне вирусной нагрузки [27]. Лекарственная устойчивость ВИЧ к АРТ возникает из-за накопления в организме человека вариантов вируса, имеющих в геноме мутации, ассоциированные с лекарственной устойчивостью (МЛУ), которые влияют на способность АРП или схем терапии в целом подавлять размножение вируса. В результате появления фармакорезистентных квазивидов вируса происходит вирусологический прорыв – отсутствие подавления ВН на фоне приема АРП и последующие проявления неэффективности терапии: иммунологические и клинические. Все существующие АРП, в том числе и новые, могут оказаться неэффективными из-за вновь образующихся генетических вариантов вируса, обладающих ЛУ. В рекомендациях Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) обозначены две основных категории ЛУ ВИЧ [189], важных для эпидемиологического надзора: приобретенная (вторичная) лекарственная устойчивость ВИЧ (acquired HIV drug resistance, ADR) возникает у пациентов на фоне приема АРП; передающаяся (первичная) лекарственная устойчивость ВИЧ (transmitted HIV drug resistance, TDR) выявляется у ЛЖВ, не имеющих опыта применения АРТ («наивные» пациенты), то есть получившие устойчивые варианты вируса при инфицировании.

Для исключения ошибок в мониторинге передающейся лекарственной устойчивости необходим особый контроль за пациентами, имевшими опыт терапии, в том числе начинавших лечение АРП, но имевших предшествующий опыт АРТ, по тем или иным причинам прерывавшим и возобновляющим лечение,

а также женщин, получавших АРТ в порядке профилактики вертикальной передачи ВИЧ.

Надзор за фармакорезистентностью ВИЧ необходим для минимизации риска возникновения и распространения вариантов вируса, обладающих МЛУ, ограничения последствий их распространения для здоровья населения. С целью осуществления и унификации надзора за ЛУ ВИЧ разработан список «надзорных мутаций», наиболее часто ассоциирующихся с ЛУ вируса [73].

Кроме мониторинга МЛУ, надзор за ЛУ включает в себя также наблюдение за распространением геновариантов ВИЧ в разных регионах. Такие исследования являются важным инструментом эпидемиологического надзора и проводятся, в том числе, и в России с момента начала регистрации первых случаев ВИЧ-инфекции. Подобный мониторинг позволяет отслеживать тенденции в эволюции вируса, пути развития эпидемии, а также наиболее достоверно регистрировать случаи появления МЛУ [21].

Цель исследования

Изучить разнообразие мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам на территориях с разной генетической структурой вирусной популяции при низком охвате АРТ.

Задачи исследования

1. Изучить структуру мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью ВИЧ, у пациентов из СЗФО с вирусологической неэффективностью АРТ за период с 2014 по 2019 гг.

2. Изучить структуру и разнообразие мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ у пациентов без опыта терапии из СЗФО и Гвинейской Республики и провести сравнительный анализ вариантов ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью, на территориях с различающейся генетической структурой вирусной популяции.

3. Установить основные закономерности появления мутаций лекарственной устойчивости вируса для разных субтипов ВИЧ-1.

4. Определить изменение распределения преобладающих мутаций лекарственной устойчивости по времени и выявить основные тенденции развития резистентности ВИЧ к АРП для использования в прогностических моделях развития инфекционного процесса.

5. Оценить валидность используемой тест-системы для диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ, зарегистрированной для применения на территории Российской Федерации, в регионах с высокой генетической гетерогенностью вируса, в том числе для субтипов, редко встречающихся на территории России.

6. Разработать инструмент, способствующий повышению эффективности мониторинга распространенности мутаций лекарственной устойчивости и изменения во времени структуры генотипического и фенотипического профиля ВИЧ.

Научная новизна

Получены новые данные о распространенности мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в Северо-Западном федеральном округе России.

Получены новые данные о генетическом разнообразии ВИЧ-1 в СЗФО.

Получены новые данные о распространенности первичной ЛУ в СЗФО.

Впервые изучена распространенность первичной лекарственной устойчивости в Гвинейской Республике.

Определены первичные нуклеотидные последовательности фрагментов гена *pol*, ответственных за синтез протеазы и обратной транскриптазы, 535 изолятов, циркулирующих на территориях СЗФО РФ и Гвинейской Республики, все нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных GenBank.

Разработаны базы данных для хранения и обработки данных по надзору за распространенностью лекарственной устойчивостью ВИЧ.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость заключается в следующем:

выявлены закономерности распространения ЛУ ВИЧ на основании изучения генетического разнообразия ВИЧ-1 в СЗФО;

оценена распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в Северо-Западном федеральном округе России;

оценена распространенность первичной ЛУ в СЗФО;

исследовано генетическое разнообразие ВИЧ-1 и распространенность первичной лекарственной устойчивости в Гвинейской Республике;

Практическая значимость заключается в следующем:

в международную базу данных GenBank депонированы 535 нуклеотидных последовательностей под номерами: МК510016 – МК510079, MN317576 – MN317587, OL505461 – OL505538, ON367567 – ON367728, МТ874291 – МТ874321, МТ874310 – МТ874321, МТ919401 – МТ919427;

получены достоверные данные о распространенности первичной ЛУ в СЗФО, подтверждающие необходимость внедрения скрининга на наличие МЛУ у всех пациентов перед началом терапии;

подтверждена валидность отечественной тест-системы для диагностики ЛУ ВИЧ при использовании на территориях с высокой генетической гетерогенностью вируса, в том числе для субтипов, редко встречающихся или не встречающихся на территории РФ;

разработанная база данных для хранения и обработки данных по надзору за распространенностью лекарственной устойчивостью ВИЧ зарегистрирована Федеральной службой по интеллектуальной собственности и доступна в открытом доступе.

Положения, выносимые на защиту

1. Среди субтипов ВИЧ-1 в Северо-Западном федеральном округе доминируют субтип А, субсубтип А6 и рекомбинантные формы между субтипами

А и В, в том числе CRF03_AB и URF, характерных для Калининградской области СЗФО.

2. В группе пациентов с неэффективностью АРТ варианты ВИЧ, обладающие лекарственной устойчивостью, выявлены в 84 % случаев. Исследованные изоляты ВИЧ чаще всего обладали МЛУ к НИОТ и ННИОТ. Наиболее часто встречающимися мутациями лекарственной устойчивости к НИОТ являлись: M184V, L74V, K65R; к ННИОТ – G190S, K103N, K101E.

3. За период 2014 – 2019 гг. произошло более чем двукратное увеличение встречаемости первичной устойчивости ВИЧ к АРП до значений, необходимых для исследования на наличие фармакорезистентности вируса перед началом лечения. Вследствие этого за 2017 и 2018 годы произошло трехкратное увеличение доли случаев неэффективности первой линии АРТ среди всех случаев неэффективности.

4. Используемая методика диагностики ЛУ ВИЧ валидна при применении на территориях с высокой генетической гетерогенностью вируса, в том числе для субтипов, редко встречающихся на территории РФ, и позволила установить распространенность первичной лекарственной устойчивости ВИЧ в Гвинейской республике. Разработанная база данных позволила определить изменение генотипического и фенотипического профиля ВИЧ в СЗФО за период 2014 – 2019 гг., а также оценить распространенность мутаций лекарственной устойчивости вируса среди пациентов с неэффективной АРТ и лиц с впервые выявленной инфекцией.

Методология исследования

Исследовательская работа проводилась с соблюдением всех правил научных исследований и основывалась на принципах биоэтики. Теоретическая основа работы состояла в анализе фундаментальных и прикладных исследований. Для реализации цели и задач научной работы были применены стандартные вирусологические, молекулярно-биологические и иммунологические методы, а также разработан оригинальный инструмент, способствующий повышению эффективности мониторинга распространенности мутаций лекарственной

устойчивости и изменения во времени структуры генотипического и фенотипического профиля ВИЧ. Выполнен сбор и систематизация материалов исследования, проведен статистический анализ данных, позволяющий сделать обоснованные выводы.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Соответствие диссертации паспорту научной специальности 1.5.10. «Вирусология». Основные научные положения диссертации соответствуют п. 4, п. 8, п. 10 паспорта специальности 1.5.10. «Вирусология».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности 3.3.8 «Клиническая лабораторная диагностика». Основные научные положения диссертации соответствуют п. 2, 11, 12 паспорта специальности 3.3.8 «Клиническая лабораторная диагностика».

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследований, проведенных автором, обеспечена репрезентативным объемом выборок обследованных пациентов (всего 3 011 человек), достаточным количеством выполненных наблюдений с использованием современных методов исследования и статистическим анализом данных, полученных в процессе проведения исследования (всего 4 809 клинико-лабораторных исследования).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на конференциях и конгрессах различного уровня: Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции» (Санкт-Петербург, 2019); X Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2019); V Российском конгрессе лабораторной медицины (РКЛМ 2019) (Москва, 2019); VIII Международном молодежном конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2019» (Санкт-Петербург, 2019), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химико-биологических

наук в профилактической и клинической медицине» (Санкт-Петербург, 2020); XII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Саратов, 2020); XII Ежегодный Всероссийский конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика» (Москва, 2020); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Охрана здоровья матери и ребенка» (Санкт-Петербург, 2020); V Санкт-Петербургском форуме по ВИЧ-инфекции с международным участием (Санкт-Петербург, 2020); VII Российский конгресс лабораторной медицины (РКЛМ 2021) (Москва, 2021); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2021); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию академика И.Н. Блохиной «Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы» (Н. Новгород, 2021); Международной научно – практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Охрана здоровья матери и ребенка» (Санкт-Петербург, 2021); XIV Ежегодный Всероссийский конгресса по инфекционным болезням им. Академика В.И. Покровского с международным участием (Москва, 2022); VIII конгрессе Евро – Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2022); VIII межведомственной научно – практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, лечение и профилактика» (Москва, 2022); Российской научно-практической конференции «Управляемые и другие социально-значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2023).

Личный вклад автора

Личное участие автора в проведенном исследовании состоит в самостоятельном планировании и проведении лабораторных исследований, статистической обработке и анализе полученных результатов. Автором самостоятельно разработаны базы данных для хранения, систематизации и

обработки данных о вариантах ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью RU 2022621301; RU 2022622009. Автором написан текст диссертации и автореферата. Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась совместно с заведующей лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, к.б.н. Останковой Юлией Владимировной.

Реализация результатов работы

В международную базу данных GenBank депонированы 535 нуклеотидных последовательностей под номерами: MK510016 – MK510079, MN317576 – MN317587, OL505461 – OL505538, ON367567 – ON367728, MT874291 – MT874321, MT874310 – MT874321, MT919401 – MT919427.

Результаты настоящего исследования приведены в монографиях: *New features of current infections in the Republic of Guinea*. Ed. by A-Yu. Popova. — St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2020. — 212 p.:ill.

Россия - Гвинея: итоги и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. - Саратов: Амирит, 2020. - 272 с.

Получены свидетельства о регистрации Баз данных RU 2022621301; RU 2022622009.

Созданная база данных находится в открытом доступе: https://disk.yandex.ru/d/WbM_quh0__H3bQ

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликованы **42** печатных работы, в том числе 9 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и приравниваемых к ним.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 3 глав результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 193 источников, в том числе 61 отечественного и 132 зарубежных. Текст содержит 12 таблиц и 26 рисунков.

Глава 1. Характеристика вируса иммунодефицита человека (обзор литературы)

1.1. Эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции

Вирус иммунодефицита человека — вирус реалма *Riboviria* царства *Pararnavirae* типа *Artverviricota* класса *Revtraviricetes* порядка *Ortervirales*; семейства *Retroviridae*; подсемейства *Orthoretrovirinae*; рода *Lentivirus*. Заражение данным вирусом вызывает медленно прогрессирующее заболевание — ВИЧ-инфекцию [187]. Первые случаи были выявлены в 80 – х гг. прошлого века, а затем (в 1983 г.) был выделен сам вирус, получивший название вируса иммунодефицита человека. ВИЧ-инфекция характеризуется развитием иммунодефицитного состояния, сопровождающегося большим количеством сопутствующих и оппортунистических заболеваний, которые и представляют главную опасность [2, 46 89, 108, 185]. Это заболевание относится к группе медленных инфекций и, как правило, заканчивается скорой смертью в отсутствии лечения [2, 37, 51, 112, 163].

На сегодняшний день, согласно данным UNAIDS, в мире зарегистрированы 31,6 – 44,5 млн. человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека, при этом число новых заражений за 2019 год составило 1,2 – 2,2 млн. случаев [181]. ВИЧ-инфекция в России относится к так называемым социально значимым заболеваниям, опасным для окружающих, а также признана угрозой национальной безопасности [48, 59]. Со времени обнаружения в 1987 г. первого россиянина, инфицированного ВИЧ, по 31 декабря 2021 г. общее число выявленных случаев ВИЧ-инфекции в России (с подтверждением методом иммунного блота) достигло по предварительным данным 1 562 570 [58]. На 31 декабря 2021 г. в стране проживало 1 137 596 россиян с лабораторно подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции, исключая 424 974 больных, умерших за весь период наблюдения (27,2 %). В 2021 г. Российской Федерации сообщалось (по предварительным данным) о 71 019 новых случаях выявления ВИЧ-инфекции с подтверждением в иммунном блоте, исключая выявленных анонимно и иностранных граждан, что на 1,4 % меньше, чем за аналогичный период 2020 г. В 2021 году было сообщено о смерти 34 093 инфицированных ВИЧ россиян, что на 5,9 % больше, чем в 2020 г.

(32 208). Поскольку ВИЧ-инфекция является неизлечимым заболеванием, а число новых случаев ВИЧ-инфекции превышает число умерших, продолжает расти общее число россиян, живущих с ВИЧ [58].

В последние годы в Российской Федерации ВИЧ-инфекция выявляется среди населения наиболее активного трудоспособного возраста. В 2021 г. ВИЧ-инфекция диагностировалась у россиян в возрасте 30 – 39 лет в 39,9 % случаев, 40 – 49 лет – в 31,2 %, 20–29 лет – в 11,8 %. Доля пожилых возросла, а молодежи в возрасте 15–20 лет снизилась в 2021 г. до 0,8 % [58].

1.2. Молекулярно-биологическая характеристика ВИЧ-1

1.2.1 Организация генома и строение вириона ВИЧ-1

Вирион ВИЧ имеет диаметр ~100 нм. Его внутренняя часть состоит из конусообразного капсида, внутри которого находится пара нековалентно связанных, несплайсированных, одноцепочечных, смысловых РНК (+РНК) (рис. 1) [179]. Геном ВИЧ-1 (рис. 2) имеет длину около девяти тысяч нуклеотидов. На концах молекул РНК находятся некодирующие последовательности из повторяющихся фрагментов, известных как «длинные концевые повторы» (long terminal Repeats, LTR). LTR играют роль промотора транскрипции ВИЧ, определяющего интенсивность репродукции ВИЧ, а также в процессе переноса цепи кДНК в геном человека [7].

Геном ВИЧ содержит девять генов, которые кодируют пятнадцать вирусных белков (рис. 2) [98]. Они синтезируются в виде полипротеинов, являющихся предшественниками для белков вириона: групповой специфический антиген (Group-specific antigen, Gag); вирусные ферменты (polymerase, Pol) и гликопротеины оболочки вириона (Envelopment, Env).

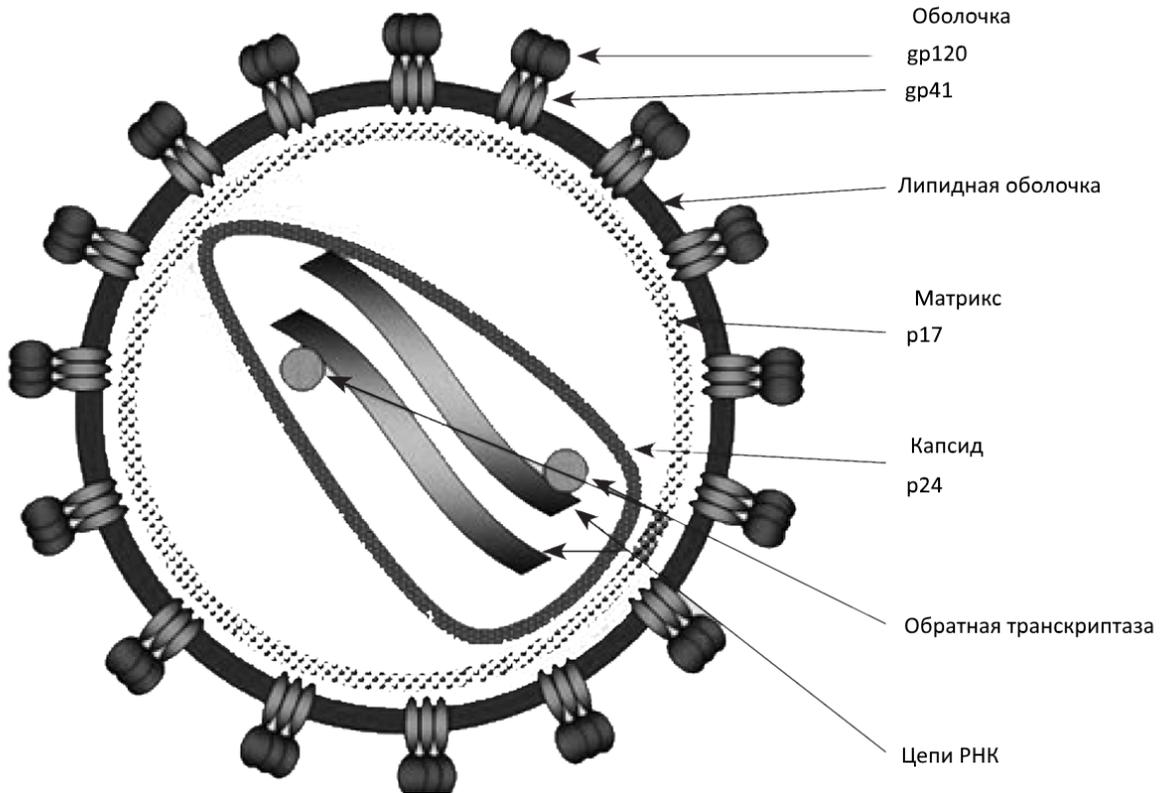


Рисунок 1. Строение вириона ВИЧ [98].

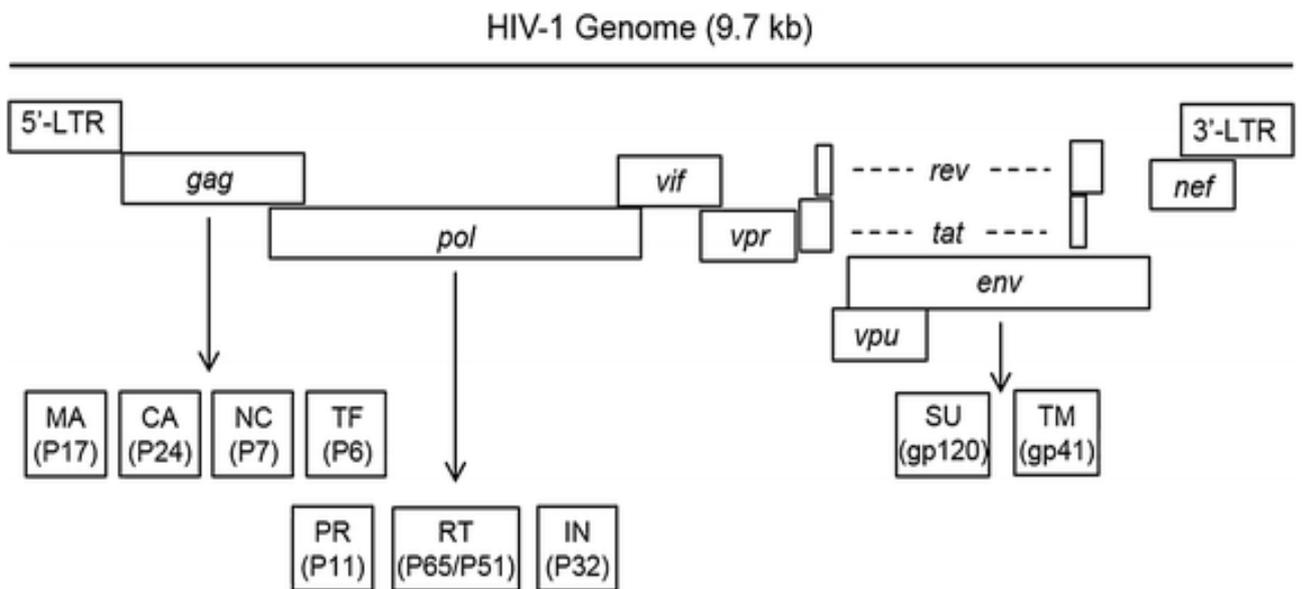


Рисунок 2. Геном ВИЧ. Схематическая диаграмма генома ВИЧ-1. Стрелки указывают на расщепленные белковые продукты. В скобках указана молекулярная масса каждого белка. Пунктирные линии обозначают сплайсинг РНК [152].

В ходе стандартной кэп-зависимой трансляции (в отдельных случаях возможна IRES-зависимая трансляция) белок-предшественник Gag/p55 синтезируется из полноразмерной геномной РНК (на этом этапе она выступает в качестве мРНК). Взаимодействие предшественников в белке Gag/p55 осуществляется в следующем порядке: p17→p24→p2→p7→p1→p6 (p1 и p2 – связывающие пептиды). Белок Gag/p55 до расщепления содержит три основных домена: домен мембранной локализации (membrane targeting, M), домен взаимодействия (interaction, I) и «поздний» домен (late, L). M – домен, входящий в область p17/MA, миристилируется и направляет Gag/p55 к плазматической мембране. Домен I, расположенный в области p7NC (Nucleocapside, NC, нуклеокапсид), отвечает за межмолекулярные связи мономеров Gag/p55. Домен L, также присутствующий в области p7NC, обеспечивает отпочкование вириона от плазматической мембраны, как и область p6 полипротеина Gag/p55 [37, 114].

Ген *env* кодирует белок gp160 (glycoprotein), расщепляемый фурином клеточной эндопротеазы на структурные белки gp41 и gp120 [39], которые, в свою очередь, являются частью суперкапсида. Один из них – gp120 или SU – присоединяется к рецепторам CD4, а gp41 или TM, является трансмембранным гликопротеидом, и позволяет вирусу прикрепляться к клеткам – мишеням и сливаться с ними. Это одна из наиболее гликозилированных молекул из известных, и ее высокая плотность, предотвращает нормальный процесс созревания гликанов во время биогенеза в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи. Таким образом, большинство гликанов остаются незрелыми с высоким содержанием маннозы, обычно не присутствующие в секретируемых или клеточных поверхностных гликопротеинах человека.

В дополнение к этому, часть белков ВИЧ выполняют регуляторные и вспомогательные функции. ВИЧ-1 имеет два важных регуляторных элемента: *Tat* и *Rev*, а также несколько важных вспомогательных белков, таких как *Nef*, *Vpr*, *Vif* и *Vri*, которые не являются необходимыми для репликации в определенных тканях. В то время как гены *gag* и *env* кодируют основные структурные белки вируса, а ген *pol* обеспечивает синтез главных ферментов репликации вируса,

остальные элементы помогают ВИЧ проникать в клетки хозяина и поддерживают репликацию. Хотя они могут мутировать, все эти гены, кроме *tev*, присутствуют во всех известных вариантах ВИЧ [109, 153, 139].

Vpu (Viral Protein U) специфичен для ВИЧ-1. Это олигомерный мембранный фосфопротеин класса I с многочисленными биологическими функциями. Vpu участвует в деградации CD4 с участием убиквитинового протеасомного пути, а также в успешном высвобождении вирионов из инфицированных клеток [109, 153].

Vpr (Viral Protein R) является белком, связанным с вирионом. Считается, что он играет важную роль в репликации вируса, в частности, переносе цепи ДНК провируса интегразой. Vpr также, по-видимому, заставляет зараженные клетки останавливать свой цикл в фазе G2. Эта остановка активирует механизм репарации ДНК, который может обеспечить интеграцию вирусной ДНК. ВИЧ-2 имеет дополнительный белок, родственник Vpr, называемый Vpx, который функционирует в ассоциации с Vpr [184].

Vif (Viral infectivity factor) представляет собой высококонсервативный фосфопротеин с молекулярной массой 23 кДа, важный для инфекционности вирионов ВИЧ-1 в зависимости от типа клеток. Было обнаружено, что ВИЧ-1 нуждается в Vif для синтеза инфекционных вирусов в лимфоцитах, макрофагах и некоторых линиях клеток человека [184].

Белок Nef (Negative Factor) представляет собой N-концевой, миристилированный, ассоциированный с мембраной фосфопротеин, играющий важную роль сразу в нескольких процессах, связанных с репликацией вируса. Предполагают, что он индуцирует апоптоз зараженных клеток и повышает инфекционность вируса. Также белок Nef подавляет экспрессию молекул CD4 и HLA классов I и II на поверхности инфицированных клеток, и тем самым позволяет вирусу ускользать от активности цитотоксических Т-лимфоцитов и от большого количества CD4⁺ лимфоцитов [184].

Белок Tat (Trans-Activator of Transcription) является важным регулятором процесса обратной транскрипции вирусного генома, обеспечивает эффективный синтез смысловых РНК и регулирует высвобождение вирионов из

инфицированных клеток. Tat имеет массу 14–15 кДа, он реализует свою основную функцию, связываясь с утолщенной вторичной структурой РНК ВИЧ вблизи 5'-конца, в результате образуется элемент ответа на трансактивацию (Transactivation response element, TAR).

Белок Rev (regulator of expression of virion proteins) связывается с вирусным геномом посредством богатого аргинином РНК-связывающего мотива, который также действует как NLS (nuclear localization signal, сигналы ядерной локализации), необходимые для транспорта Rev в ядро из цитозоля во время репликации вируса. Rev распознает сложную структуру «стебель – петля» мРНК *env*, расположенную в интроне, разделяющем кодирующий экзон *Tat* и *Rev*, известный как элемент ответа. Rev важен для синтеза основных вирусных белков и, следовательно, необходим для репликации вируса.

Белки Tat и Rev стимулируют транскрипцию провирусной ДНК и транспорт РНК из ядра в цитоплазму, а также необходимы для трансляции. Белок Rev также обеспечивает транспорт компонентов вируса из ядра и переключение синтеза регуляторных белков вируса на синтез структурных белков [184, 146].

1.2.2 Жизненный цикл ВИЧ

Жизненный цикл вируса длится около 3 часов и включает в себя несколько стадий. Первый этап слияния включает высокоаффинное присоединение CD4-связывающих доменов gp120 к CD4. Как только gp120 связывается с белком CD4, комплекс оболочки подвергается структурным изменениям, обнажая домены gp120, связывающие рецепторы хемокинов, и позволяя им взаимодействовать с рецептором – мишенью хемокинов. Повторяющиеся последовательности в gp41 затем взаимодействуют, в результате чего внешняя часть гликопротеина коллапсирует в петлю. Такие конформационные изменения позволяют gp120 взаимодействовать с корецептором CXCR4 или CCR5. Эта структура сближает суперкапсид вируса и клеточные мембраны, обеспечивая их слияние и последующее проникновение вирусного капсида [184].

Вскоре после попадания капсида в клетку, фермент, называемый обратной транскриптазой, высвобождает геномную РНК от прикрепленных к ней вирусных белков, и активируется процесс обратной транскрипции, позволяющий перенести информацию со смысловой РНК в комплементарную ДНК (кДНК). Процесс обратной транскрипции чрезвычайно неточен, именно он является основным источником колоссальной изменчивости вируса, позволяющей ему избегать иммунного ответа организма хозяина и иногда уклоняться от действия антиретровирусных препаратов. Обратная транскриптаза (ОТ) также обладает рибонуклеазной активностью, за счет которой расщепляет вирусную РНК во время синтеза кДНК, а также ДНК-зависимой ДНК-полимеразной активностью, позволяющей синтезировать смысловую ДНК из антисмысловой кДНК. Вместе кДНК и ее комплемент образуют двухцепочечную вирусную ДНК, которая затем транспортируется в ядро клетки. Интеграция вирусной ДНК в геном клетки-хозяина осуществляется другим вирусным ферментом, называемым интегразой [52]. Провирус может длительное время сосуществовать с клеткой, а при делении передается всем дочерним клеткам [9].

Для активной репликации вируса необходимо наличие определенных клеточных факторов транскрипции, наиболее важным из которых является NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор каппа В), который появляется при активации Т – клеток. Следствием является то, что именно те клетки, которые должны обеспечивать активное противодействие вирусу и подвергаются наибольшей опасности инфицирования и гибели от ВИЧ.

Во время репликации вируса встроенный ДНК-провирус транскрибируется в РНК. Полноразмерные геномные РНК упаковываются в капсид по две. Димер РНК характеризуется тандемным трехсторонним соединением внутри мономера РНК, в котором шпильки SD и AUG, ответственные за сплайсинг и трансляцию, соответственно, секвестрируются, а шпилька DIS (dimerization initiation sequence, сигнал инициации димеризации) обнажается. Формирование димера геномной РНК опосредуется взаимодействием между петлями шпильки DIS мономеров РНК. В то же время некоторые остатки гуанозина в ней становятся доступными для

связывания белка нуклеокапсида, что приводит к последующей сборке вириона [71]. РНК также может быть подвергнута процессингу для получения зрелых матричных РНК (мРНК). В большинстве случаев он включает сплайсинг РНК с образованием мРНК, которые короче, чем полноразмерный геном. Тем, какая часть РНК удаляется во время сплайсинга, определяется, какая из последовательностей, кодирующих белок ВИЧ, транслируется.

Зрелые мРНК ВИЧ перемещаются из ядра в цитоплазму, затем происходит трансляция белков ВИЧ, включая Rev. По мере того, как вырабатывается вновь продуцируемый белок Rev, он перемещается в ядро, где связывается с полноразмерными несплайсированными копиями вирусных РНК и позволяет им покинуть ядро. Некоторые из этих полноразмерных РНК функционируют как мРНК, которые транслируются с образованием структурных белков Gag и Env. Белки Gag связываются с копиями генома вирусной РНК, чтобы упаковать их в новые вирусные частицы [9, 37, 88].

Вирус иммунодефицита человека, как и все вирусы, является облигатным паразитом и способен размножаться только в чувствительных к нему клетках [98, 103]. Главной мишенью для вируса являются Т-лимфоциты, имеющие необходимые рецепторы и корецепторы [6, 22, 23, 44, 77]. Помимо CD4+ Т-лимфоцитов, есть и другие клетки, которые могут быть инфицированы. Основным условием заражения клетки вирусом является наличие на ее поверхности двух рецепторов: CD4 и одного из двух корецепторов: CCR5 или CXCR4 [174]. Тропизм вируса позволяет выявить ряд возможных мишеней: гемопоэтические клетки, моноциты, дендритные клетки, некоторых эпителиальные макрофаги, В – лимфоциты, NS-клетки, стволовые клетки, клетки нервной системы, а также некоторые клетки, участвующие в иммунном ответе: астроциты, олигодендроциты, эндотелий. Кроме того, вирус способен размножаться в клетках кишечного эпителия, клетках Купфера печени, клетках плацентарного трофобласта и других [100].

1.2.3 Генетическое разнообразие ВИЧ

На сегодняшний день в мире выявлено большое количество генетических вариантов ВИЧ. Гетерогенность ВИЧ обусловлена особенностями жизненного цикла ВИЧ и работы вирусных ферментов. Ежедневно в организме инфицированного человека образуется от 10^9 до 10^{10} новых вирусных частиц, при этом частота мутаций составляет 3×10^{-5} нуклеотидов за один цикл репликации [61]. С учетом длины генома ВИЧ в 9 000 нуклеотидов (нт), в день появляются миллионы вариантов ВИЧ с новыми мутациями, в том числе и ассоциированными с лекарственной устойчивостью [80]. Другой источник разнообразия ВИЧ — это процесс ретровирусной рекомбинации, заключающийся в переходе ОТ между двумя различными цепями РНК. Если клетка заражена несколькими вирионами, рекомбинация может происходить между ними [74].

Принято выделять три группы ВИЧ-1 - М, N и O (рис. 3) [1, 71, 177, 178]. В группе М, на основании анализа полного генома различают до 18 подтипов, обозначаемых буквами А, В, С, D и т. д.; между собой подтипы различаются в среднем на 25 – 30 % нуклеотидов генома. Самым частым геновариантом ВИЧ-инфекции в мире является субтип С, который наиболее распространен в азиатских и южноафриканских регионах; в странах западной Африки особенно высока встречаемость рекомбинантной формы вируса CRF02_AG; эпидемия ВИЧ в России и странах СНГ связана с субтипом А (субсубтип А6) [78, 142].

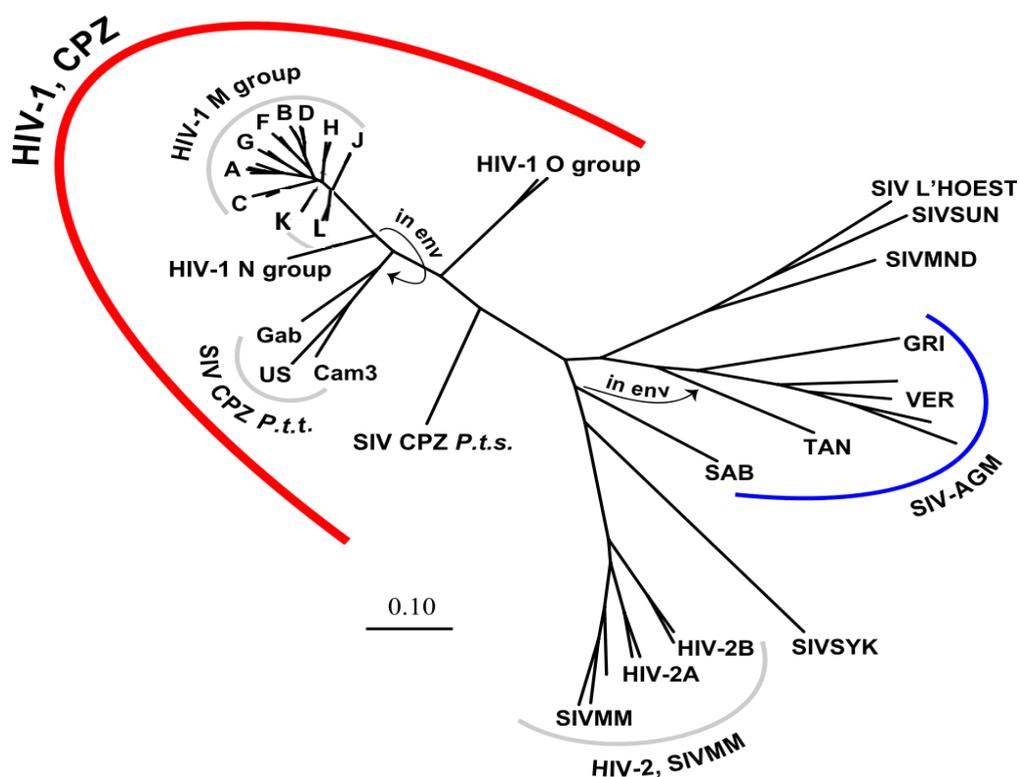


Рисунок 3. Филогенетическое дерево вирусов: HIV — вирус иммунодефицита человека SIV — вирус иммунодефицита обезьян [127, с изменениями]

Все подтипы ВИЧ-1 сформировались в Африке (за исключением подтипа В, окончательная эволюция которого завершилась за пределами этого континента), и последующее их неравномерное распределение по земному шару считают следствием миграционных процессов в популяции человека, а также смещения частот встречаемости субтипов вируса вследствие проявления эффекта основателя [61, 154].

Рекомбинантные формы вируса являются результатом ретровирусной рекомбинации (рис. 4). В процессе синтеза антисмысловой цепи ДНК обратная транскриптаза с высокой частотой смещается с одной цепи РНК на другую, и можно предположить, что, по крайней мере, обе копии геномной РНК альтернативно используются в качестве матриц (рис. 4). Частоту смены выбора копии у ВИЧ-1 между очень похожими матричными РНК оценивают в 3×10^{-4} – $1,4 \times 10^{-3}$ событий на нуклеотид, то есть 3–12 переключений матрицы на репликацию генома [104, 193, 122]. Важно отметить, что образование вирионов, содержащих две разные геномные РНК, требует выполнения определенных условий: во –

первых, два или более вируса с разными генотипами должны инфицировать одну и ту же клетку, во – вторых, геномные РНК разного происхождения должны быть впоследствии совместно упакованы. Подобная ситуация может быть связана либо с коинфекцией, либо с суперинфекцией пациента различными субтипами вируса.

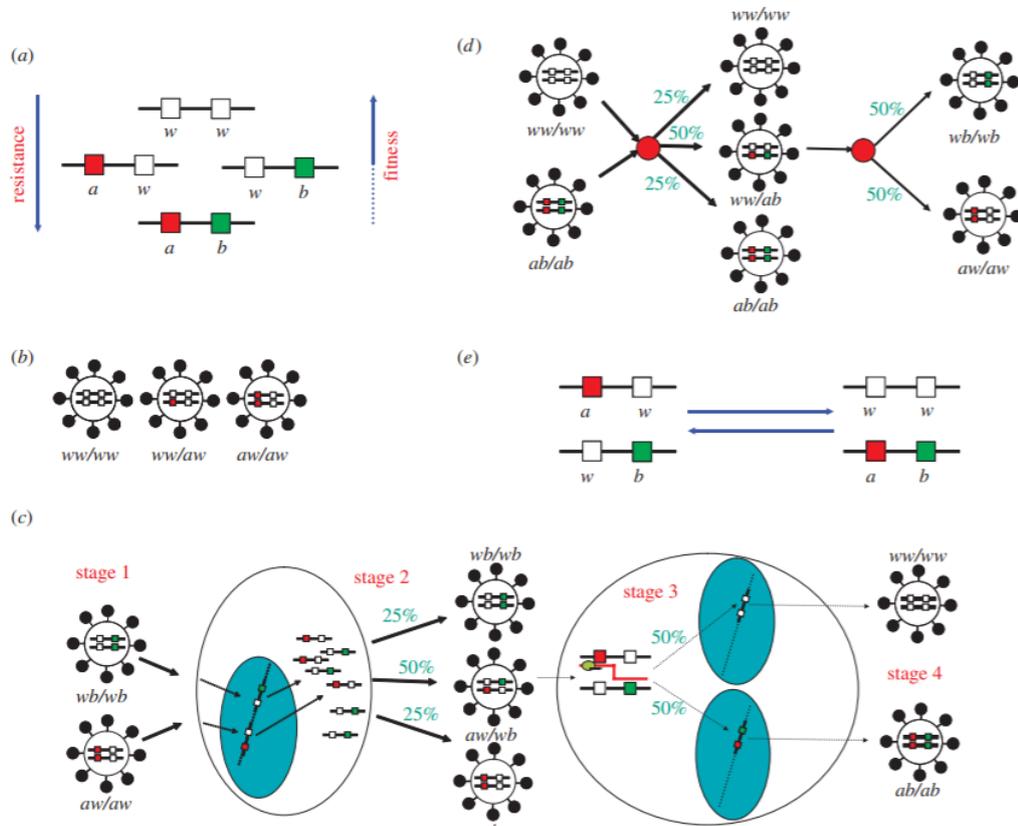


Рисунок 4. Краткое изложение процессов рекомбинации для двухлокусной двухаллельной системы (а) Четыре чистых генотипа. (б) Три из десяти возможных комбинаций генотипов вируса. (с) Образование рекомбинантных форм. (д) Вероятность образования рекомбинантных форм на каждом цикле репликации (е) Вероятность восстановления чистого генотипа [102].

Тот факт, что белки Nef и Vpr подавляют экспрессию CD4 и корцепторов во время инфекции ВИЧ-1, дает основания предполагать крайне редкое возникновение суперинфекции [104, 122, 193]. Тем не менее, гибридизация клеток пациентов *in situ* показала, что отдельные клетки могут содержать более четырех различных провирусов [107, 124], кроме того, высокая скорость рекомбинации ВИЧ-1 также предполагают некоторую существенную частоту коинфекции *in vivo* [174]. Таким образом, для активного образования рекомбинантных форм вируса

необходимо выполнение важного условия: совместной циркуляции разных субтипов ВИЧ в регионе.

Наблюдение за распространением различных субтипов ВИЧ – важнейшая часть эпидемиологического мониторинга ВИЧ-инфекции, позволяющая отслеживать пути передачи инфекции. Продолжаются исследования, целью которых является оценка влияния субтипа вируса на течение заболевания, передачу ВИЧ-инфекции и эффективность противовирусной терапии [4, 11]. Окончательного мнения по данному вопросу в настоящее время не существует, так как результаты исследований в этой области разнородны в силу различных эпидемиологических и методологических причин [78, 79, 83].

1.3. Методы лечения ВИЧ-инфекции

Единственным способом лечения ВИЧ-инфекции на сегодняшний день является применение антиретровирусных препаратов. Обычно используют несколько антиретровирусных препаратов одновременно, и такой подход получил название высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), называемой так же просто антиретровирусной терапией [161, 165]. Существует несколько классов антиретровирусных препаратов, действующих на разных стадиях жизненного цикла ВИЧ [12, 29, 49].

Первыми антиретровирусными препаратами, получившими массовое распространение, являются нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ). Они представляют собой дефектные аналоги нуклеозидов и встраиваются в цепочку кДНК в процессе обратной транскрипции, тем самым делая невозможным продолжение синтеза цепи. Для включения в вирусную ДНК НИОТ должны быть активированы в клетке путем добавления трех фосфатных групп к их дезоксирибозной части с образованием трифосфатов НИОТ. Этот этап фосфорилирования осуществляется ферментами клеточной киназы. Эти препараты блокируют обратную транскриптазу ВИЧ в сотни раз эффективнее, чем ДНК-полимеразу человека, однако могут вызывать нарушение митохондрий, что приводит к ряду нежелательных явлений, включая симптоматический лактоацидоз.

[49]. Аналоги нуклеотидов активны в зараженной Т-клетке и макрофаге и блокируют ранние стадии жизненного цикла вируса [90, 118, 156]. К данному классу относятся: аналоги тимидина (азидотимидин (AZT), ставудин (d4T)); аналоги цитидина (ламивудин (ЗТС), эмтрицитабин (FTC)); аналоги аденина (диданозин (ddI), тенофовир (TDF)); аналоги гуанина (абакавир (ABC)). Азидотимидин был одобрен в 1987 году [45, 52, 84, 97].

Другой класс препаратов, блокирующих процесс обратной транскриптазы — ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ) — был описан в 1990 году [1, 45]. Препараты этой группы разрушают каталитический участок ОТ ВИЧ-1. Блокируют активность различных РНК- и ДНК-зависимых полимераз. Самым главным недостатком ННИОТ является низкий барьер, к формированию лекарственной устойчивости. Для достижения вирусологической эффективности и устойчивого вирусологического ответа требуется высокая приверженность пациента к лечению [5, 137, 147]. При снижении концентрации препарата быстро появляются варианты вируса, обладающие мутациями фармакорезистентности. Недостаточное подавление вируса при длительном лечении почти наверняка приводит к развитию полной резистентности не только к используемому препарату, но и ко всей группе в целом. Одной точечной мутации ВИЧ в положении 103 (K103N) достаточно, чтобы исключить весь класс препаратов [7, 32].

Для решения проблемы низкого генетического барьера ННИОТ необходимо включить их в ВААРТ вместе с НИОТ. Иммунологическая и вирусологическая эффективность ННИОТ у ранее нелеченых пациентов эквивалентна применению ингибиторов протеазы (ИП) [85, 91, 131].

Ингибиторами протеазы прерывается формирование вирусных белков протеазой, что приводит к блокированию вирусной инфекции. Данные АРП представляют собой однородный по структуре класс противовирусных препаратов, которые действуют на завершающем этапе цикла репликации ВИЧ [1, 61, 143]. Ингибиторы протеазы связывают активный участок фермента, предотвращая образование полноценных вирусных частиц, способных поражать другие клетки. Первые ИП были описаны в 1995 году и совершили переворот в лечении ВИЧ-

инфекции [67, 138]. По мнению специалистов, данный класс является одним из самых эффективных в отношении ВИЧ-инфекций. Эти препараты демонстрируют эффективность по всем значимым маркерам инфекции [76, 69, 132, 157, 159]. В результате применения ИП в клинической практике снижается смертность и частота возникновения сопутствующих заболеваний, ассоциированных со СПИД. Ингибиторы протеазы проявляют противовирусную активность не только в лимфоцитах, но и в клетках моноцитарного ряда. АРП класса ИП не требуют внутриклеточного метаболизма, поэтому они сохраняют продолжительный эффект как в остро-, так и в хронически инфицированных клетках.

Ингибиторы переноса цепи интегразой (ингибиторы интегразы, ИИ) блокируют перенос провируса в клеточную ДНК. На сегодняшний день существует уже несколько препаратов. Ралтегравир (RAL, исентресс) используется с 2007 года. Препарат назначается при неэффективности других классов (НИОТ и ННИОТ), но может входить в первую линию терапии и зарекомендовал себя как эффективный препарат с хорошей переносимостью [30]. Долутегравир (DTG) – новый препарат данного класса – высокоэффективный и безопасный. При этом ралтегравир и долутегравир активны в отношении штаммов ВИЧ, резистентных к другим классам ВААРТ, и не имеют перекрестной резистентности к ныне существующим препаратам.

Мутации, наблюдавшиеся в интегразе ВИЧ-1, которые приводили к резистентности к исентрессу, обычно включали замещение Q148 или N155, плюс одна или более дополнительных мутаций [8].

Ингибиторы слияния нарушают процесс присоединения вирусной частицы к мембране клетки [12, 53, 162]. Мишенью для данных препаратов является, в основном, шпилька, образуемая gp41. Фузеон (ENF) является первым препаратом данного класса. В клинических исследованиях показано его мощное ингибирующее действие на репликацию ВИЧ и высокая активность по отношению к вирусам, устойчивым к другим антиретровирусным препаратам [86]. Препарат вводится подкожно 2 раза в сутки, что ограничивает его применение. Исследования на резистентность показали, что вирусы, несущие мутации в *gag* и *pol* и

проявляющие высокий уровень резистентности к НИОТ, ННИОТ и ИП, остаются чувствительными к фузеону [7].

Маравирок (MVC) относится к группе препаратов – антагонистов хемокиновых рецепторов CCR5. Рецептор CCR5 клетки – мишени необходим вирусу ВИЧ для связывания с клеткой и для его проникновения внутрь клетки. Маравирок специфически связывается с хемокиновыми рецепторами CCR5, тем самым предотвращая проникновение ВИЧ внутрь клетки. Этот препарат предназначен для лечения пациентов, имеющих резистентность к другим АРП или их непереносимость [55, 61].

1.3.1 Применяемые схемы АРТ в России

Согласно рекомендациям Федерального научно-методического центра СПИД (ФНМЦ) от 2020 года период между установлением диагноза ВИЧ-инфекции и началом АРТ должен быть максимально сокращен. При готовности пациента к старту АРТ и наличии его согласия лечение может быть начато немедленно, сразу после установки диагноза, если нет клинических противопоказаний для приема антиретровирусных препаратов [27].

Врачам, ответственным за наблюдение ВИЧ-инфицированных лиц, рекомендуется проводить АРТ всем пациентам с ВИЧ-инфекцией. Начало АРТ следует рекомендовать независимо от количества CD4+ клеток и уровня вирусной нагрузки, т.к. применение АРТ уменьшает системное воспаление и снижает риск заболеваний [27].

Врачам, ответственным за наблюдение ВИЧ-инфицированных, врачам акушерам-гинекологам рекомендуется назначать АРТ пациентам в неотложном порядке (не позднее 1 недели) в следующих случаях: при количестве CD4+ менее 200 клеток/мкл; при выявлении ВИЧ-инфекции у беременной женщины на сроке гестации 13 недель и более; при выявлении ВИЧ-инфекции у беременной женщины с CD4+ менее 350 клеток/мкл и/или ВН > 100 000 копий/мл на сроке гестации менее 13 недель [27].

Продолжается разработка новых препаратов, и, как следствие, меняются рекомендуемые схемы лечения и стратегии применения АРП [47, 50, 141, 167]. При назначении ВААРТ необходимо учитывать совместимость препаратов, их взаимодействие и сочетаемость с другими препаратами, используемыми для лечения оппортунистических заболеваний [115, 121]. При назначении ВААРТ также необходимо учитывать генетический барьер каждого из назначаемых препаратов [90].

1.3.2 Применяемые схемы АРТ в Гвинейской Республике

Применение АРТ в странах Африки, в том числе в Гвинейской Республике, ориентировано на стандарты, описанные в рекомендациях ВОЗ в редакции 2010 года [94]. Согласно данным рекомендациям, всем подросткам и взрослым, включая беременных женщин с ВИЧ-инфекцией и числом CD4+ ≤ 350 клеток/мм³, следует начинать АРТ независимо от наличия или отсутствия клинических симптомов. Людям с тяжелым или запущенным клиническим заболеванием (клиническая стадия 3 или 4 по классификации ВОЗ) следует начинать АРТ независимо от числа клеток CD4+. Терапия первой линии должна состоять из одного ННИОТ и двух НИОТ, одним из которых должен быть зидовудин или тенофовир. В качестве второй линии рекомендованы схемы TDF + 3ТС (или FTC) + ATV/r или LPV/r, если в первой линии не был задействован Тенофовир; AZT + 3ТС (или FTC) + ATV/r или LPV/r, если первая линия АРТ была на основе Тенофовира [188].

В Гвинейской Республике на сегодняшний день чаще всего используются схемы лечения, основанные на применении двух нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и одного ненуклеозидного на выбор: AZT/D4T+3ТС+NVP/EFV [94].

1.4 Диагностика лекарственной устойчивости ВИЧ

Определение резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам является крайне важным при назначении терапии второй и последующих линий, особенно когда смена ВААРТ производится из-за неэффективности, так как в

большинстве случаев позволяет объяснить причину возникшей неэффективности лечения и назначить оптимальную комбинацию препаратов с учетом выявленной устойчивости вируса [61, 96].

Существуют два метода определения устойчивости ВИЧ к препаратам – генотипический и фенотипический [9, 7, 12].

При фенотипировании проводят сравнение выращенных в культуре изолятов ВИЧ, полученных от пациента, с референс-вариантами вируса в присутствии или отсутствии различных антиретровирусных препаратов. С помощью фенотипического метода можно количественно оценить чувствительность ВИЧ к АРП. Для этого определяют репликацию ВИЧ в культурах клеток с возрастающими концентрациями АРП и сравнивают ее с репликацией дикого штамма вируса. Основными коммерческими системами для определения фенотипической устойчивости ВИЧ являются Antivirogram (Tibotec-Vireo), Pheno Sense (Monogram Biosciences) и др. Применение фенотипического метода определения лекарственной устойчивости является «золотым стандартом» для данного исследования. Тем не менее, выполнение фенотипирования – трудоемкий процесс, требующий особых условий, в том числе в связи с тем, что ВИЧ – организм II группы патогенности. По этой причине, в рутинной диагностике используется преимущественно метод генотипирования с последующим виртуальным фенотипированием [9, 7, 126].

При генотипировании проводят анализ последовательности генома ВИЧ, выделенного от пациента, в сравнении с референсной последовательностью «дикого/чувствительного ко всем препаратам» вируса. Мутации ВИЧ определяют как отличия в аминокислотных последовательностях по сравнению с референсным штаммом. Полученный результат подвергают компьютерному анализу в программах, составленных на основе закономерностей, описанных в литературе, с учетом накопленных клинических данных, то есть «виртуальному фенотипированию». Результат такого анализа предоставляется клиницисту в виде трех вариантов чувствительности вируса к каждому препарату – «чувствительный», «резистентный», «возможно резистентный». Некоторые

наиболее важные базы данных о профилях устойчивости и интерпретации результатов генотипирования открыты для бесплатного доступа в интернете – база данных Стэнфордского университета "HIV Drug Resistance Database", Лос-Аламосская база данных, база данных «geno2pheno» [14, 123, 148].

Коммерческие системы для генотипического анализа устойчивости ВИЧ представлены на рынке достаточно широко: HIV-1 TrueGene™ (Bayer Healthcare Diagnostics), ViroSeq™ (Celera Diagnostics/Abbott Laboratories), АмплиСенс HIV-Resist-Seq (ФБУН ЦНИИЭ). В настоящее время генотипический метод все более широко применяется в клинической практике [171].

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по анализу лекарственной устойчивости ВИЧ, исследованию на наличие лекарственной устойчивости ВИЧ подлежат пациенты при неэффективности АРТ, если нет других выявленных причин неэффективности терапии (нарушения приема антиретровирусного препарата, нарушения всасывания препарата) [28]. Вирусологическими критериями неэффективности терапии являются отсутствие снижения концентрации РНК ВИЧ до неопределяемого уровня через 24 недели лечения, если не было перерыва в приеме препарата, а также выявление РНК ВИЧ (в двух определениях с интервалом в 1 месяц) после подавления ВН до неопределяемого уровня, если не было перерыва в приеме препарата [14].

Обследованию также подлежат ВИЧ-инфицированные пациенты в период острой инфекции перед началом АРТ, если заражение ВИЧ произошло от партнера с неэффективной ВААРТ [207]. В остальных случаях острой инфекции проведение исследования до начала АРТ не рекомендуется до тех пор, пока уровень первичной резистентности в регионе не достигнет 5 % [12, 40, 54, 172].

Чувствительность современных методов, как правило, не позволяет анализировать образцы с нагрузкой менее 1000 коп/мл. Образцы с низкой вирусной нагрузкой могут быть исследованы на наличие мутации резистентности, однако производители в таком случае не гарантируют получение нужного результата [14, 129].

Процессы, которые происходят в организме во время лечения, во многом определяются штаммами ВИЧ, присутствующими в организме пациента. При инфицировании «диким»/чувствительным вариантом вируса, устойчивость ВИЧ приобретается в результате применения терапии. Отмена лечения в этом случае приводит к быстрому восстановлению популяции дикого/чувствительного варианта вируса. Поэтому тест на резистентность необходимо проводить на фоне предположительно неэффективного лечения [94, 169].

При инфицировании мутантным/устойчивым вариантом вируса его доля в организме может составлять до 80 – 100 %. В результате обратных мутаций возможна реверсия к дикому типу, однако устойчивые штаммы ВИЧ могут сохраняться в организме пациента в течение нескольких лет.

Методы исследования вируса на резистентность дают наиболее точные результаты в отношении препаратов, которые пациент принимал на момент тестирования или закончил принимать не более чем за 4 недели до проведения теста на резистентность, поскольку популяция вируса дикого типа может восстановиться уже через 4 недели после отмены ВААРТ [7].

Мутации, которые присутствовали в геноме вируса на момент инфицирования, сохраняются дольше, чем мутации, возникшие в процессе лечения. Длительность персистирования мутации в определенной мере зависит от степени влияния мутации на репликативную способность вируса. Например, мутация M184 снижает репликативную способность вируса и обычно перестает обнаруживаться через 5 – 20 недель после отмены ВААРТ. В то же время мутация K103N может обнаруживаться спустя 9 – 12 месяцев после отмены терапии и даже позже. Чтобы оценить резистентные свойства штаммов, которые в настоящий момент в популяции вируса в организме пациента составляют меньшинство (10 – 20 %), следует проанализировать результаты предыдущих тестирований вируса на резистентность и особенности ВААРТ, включая продолжительность приема препаратов на фоне признаков вирусологической неэффективности [111].

Клиническая работа по разделу ВИЧ-инфекции на настоящее время крайне затруднена без использования целого ряда лабораторных показателей, которые

необходимы как для постановки диагноза ВИЧ-инфекции, так и для наблюдения за течением ВИЧ-инфекции и эффективностью проводимого антиретровирусного лечения [32, 51, 175].

1.5 Лекарственная устойчивость ВИЧ в мире

Во всем мире стоит проблема повышения эффективности ВААРТ и профилактики развития резистентности. Наиболее важным фактором развития резистентности является низкая приверженность пациента к лечению [5, 25, 113]. По мнению некоторых ученых, для препаратов с низким генетическим барьером даже редкие пропуски приема ВААРТ являются потенциально опасными и могут привести к формированию устойчивости вируса ко всем препаратам [7, 32, 149, 158].

На данный момент в литературе описано большое количество факторов, которые влияют на приверженность пациента к лечению: социальные, медицинские, психологические, этнические и др. [5, 25, 134, 136, 170]. Также важны побочные эффекты препаратов, количество и размер таблеток в таблетках или ограничение диеты [10, 31, 106].

Поскольку все эти факторы являются влияющими на приверженность пациента к лечению, то они могут способствовать формированию резистентности вируса к ВААРТ опосредованно, через снижение приверженности [160].

Зачастую причиной неэффективности терапии является развитие лекарственно устойчивой ВИЧ-инфекции [7]. В основе развития резистентности лежат мутации в геноме вируса, закрепление которых происходит под действием эволюционных факторов [9].

В исследовании лекарственной устойчивости ВИЧ используются два направления: анализ первичного лечения ВИЧ и оценка уровня фармакорезистентности у пациентов, которые принимали АРП [7, 12]. Анализ фармакорезистентности должен учитывать международные стандарты диагностики и лечения. В 2011 году были представлены обновленные Европейские

рекомендации по тестированию лекарственной устойчивости ВИЧ, определяющие показания к тестированию, методы и способы интерпретации результатов.

Предполагалось, что в связи с многолетним опытом применения АРП и постоянным увеличением охвата терапией больных, вероятность передачи лекарственной устойчивости среди ВИЧ-инфицированных может быть выше [180, 186]. Для оценки уровня первичной резистентности в популяции ВИЧ-инфицированных пациентов ВОЗ публикует обновляемый список мутаций лекарственной устойчивости, которые должны учитываться при анализе [14, 38, 192]. Из перечня изучаемых мутаций исключены полиморфные варианты, связанные с лекарственной устойчивостью для определенных субтипов ВИЧ. Например, характерная для субтипа А на постсоветском пространстве мутация А62V в гене обратной транскриптазы ВИЧ [8, 14,63].

Европейские эксперты рекомендуют определение профиля резистентности до начала АРТ с учетом того, что в Европе уровень первичной устойчивости в большинстве стран составляет от 5 до 10 % [151, 182]. По причине большого количества различий в уровне первичной фармакорезистентности ВИЧ на различных территориях, для отдельных регионов рекомендуются дополнительные исследования экономической эффективности тестирования. Например тестирование до начала АРТ экономически эффективно только тогда когда уровень первичной устойчивости ВИЧ превышает 1 – 5 % [75, 73]. Как следствие, определение лекарственной устойчивости ВИЧ в нашем регионе до начала ВААРТ было экономически нецелесообразным [56].

При анализе первичной устойчивости следующие данные: среди ВИЧ-инфицированных пациентов в странах Центральной Америки мутации резистентности выявлены в 8,5 % случаев (5,4 % – ННИОТ, 4,6 % – НИОТ, 0,5 % – ИП); в Италии – в 10 % (2 % – ННИОТ, 8 % – НИ – ОТ, 2 % – ИП); в США – мутации устойчивости выявлены в 9 % образцов [4].

При недостаточной приверженности и прерывании больным терапии возникает ситуация, когда пациент в течение достаточно длительного времени может находиться под воздействием медленно убывающей концентрации ННИОТ

в крови и клетках, то есть в условиях монотерапии ННИОТ [15]. Это значительно увеличивает риск формирования фармакорезистентности к ННИОТ, и при возобновлении уже фактически неуспешной схемы лечения будут накапливаться и мутации устойчивости к другим принимаемым антиретровирусным препаратам. С этой точки зрения, гораздо более безопасно сочетание ННИОТ с препаратами группы НИОТ с более длительным периодом полужизни, например, с эмтрицитабином или тенофовиром [110, 169].

С этой особенностью схем лечения, включающих препараты с различным временем полужизни, связана рекомендация проводить тестирование лекарственной устойчивости у пациентов, прервавших лечение сочетанием препаратов, содержащим ННИОТ, если предполагается продолжить терапию препаратом из группы ННИОТ [15]. В этом случае необходимо провести анализ, как можно раньше после приема последней дозы, то есть, как только вирусная нагрузка ВИЧ достигнет уровня, достаточного для проведения тестирования. Это условие позволяет выполнить анализ, пока не произошли реверсия вируса к дикому типу и переход мутантного варианта в «минорную» популяцию, недоступную для рутинных методов тестирования. Как правило, исследование рекомендуется провести в течение 1 – 3 месяцев после прерывания ВААРТ, содержавшей ННИОТ [79].

Разные антиретровирусные препараты обладают разным генетическим барьером. Генетический барьер определен как количество необходимых мутаций, которые формируют резистентность к антиретровирусным препаратам. Чем выше генетический барьер препарата, тем меньше риск развития устойчивости вируса [7].

К препаратам с низким генетическим барьером относятся те, у которых одна точечная мутация в геноме ВИЧ может вызвать высокий уровень резистентности [72]. К ним относятся препараты из группы НИОТ – ламивудин и эмтрицитабин (ЕТС), ННИОТ первого поколения – эфавиренз (ЕFV) и невирапин (NVP), энфувиртид (ингибитор слияния) и нелфинавир (NFV) (ингибитор протеазы). Препараты с умеренным генетическим барьером потребуют несколько мутаций для

формирования резистентности ВИЧ. К ним относятся НИОТ – аналоги тимидина, такие как диданозин, абакавир и тенофовир, а также большинство небустированных ингибиторов протезы. Препараты с высоким генетическим барьером требуют большого количества мутаций для формирования резистентности. Это бустированные ритонавиром (RTV) ИП, такие как дарунавир (DRV/r), лопинавир (LPV/r) и т. д. Для развития резистентности к препаратам с высоким генетическим барьером необходимо последовательное формирование мутаций в течение длительного времени, что маловероятно [7, 15].

Результаты проведенного изучения лекарственной устойчивости у ВИЧ-инфицированных пациентов в Санкт-Петербурге в 2011 году [13, 54] показали, что частота обнаружения различных мутаций соответствует частоте назначения, длительности применения препаратов лечения ВИЧ-инфекции и высоте генетического барьера для формирования лекарственной устойчивости. На первом месте со значительным отрывом идет мутация устойчивости к НИОТ M184V в гене обратной транскриптазы ВИЧ, значительно снижающая чувствительность к ламивудину и эмтрицитабину.

Мутация M184V, встречающаяся наиболее часто, обладает рядом как отрицательных, так и положительных характеристик. Ее появление обеспечивает вирусу высокую степень устойчивости к ламивудину и эмтрицитабину, хотя не исключается сохранение остаточного терапевтического эффекта. С другой стороны, присутствие этой мутации приводит к снижению фитнеса ВИЧ (способности к адаптации и репродукции в определенных условиях окружающей среды), что в ряде случаев компенсируется появлением других мутаций, позволяющим преодолеть эту невыгодную для вируса особенность. Учитывая перечисленные особенности мутации M184V, ряд экспертов рекомендуют оставлять в схеме терапии ламивудин или эмтрицитабин даже при ее наличии. Замена этих препаратов на другие НИОТ у не приверженных пациентов зачастую чревата формированием целого комплекса мутации устойчивости к различным НИОТ и дальнейшим переходом на дорогостоящие альтернативные схемы [3, 56, 182]. Кроме того, происходит замедление формирования мутаций резистентности

к аналогам тимидина и других мутаций устойчивости, повышение чувствительности к зидовудину, ставудину и тенофовиру, а также есть сведения о повышенной иммуногенности вирусов, несущих эту мутацию, для защитных цитотоксических Т-лимфоцитов [7].

Затем следуют две мутации резистентности к ННИОТ – эфавирензу и невирапину – G190S/A и K103N/S. Далее с небольшим отрывом друг от друга идет целая группа мутаций резистентности к НИОТ. Сначала L74V/I – мутация, снижающая чувствительность к нетимидиновым аналогам нуклеозидов – диданозину и, в меньшей степени, абакавиру. И далее комплекс мутаций к тимидиновым аналогам нуклеозидов (Thymidine analogue mutations, ТАМ) – D67N/G, T215Y/F/I/S/V, K70R и K219Q/E/R/N, каждая из которых вносит свой вклад в снижение чувствительности к азидотимидину (AZT), ставудину (d4t) и, в меньшей степени, тенофовиру, абакавиру и диданозину. ТАМ часто обнаруживаются одновременно, но в различных сочетаниях. В 13 % случаев была обнаружена мутация лекарственной устойчивости к НИОТ A62V, являющаяся для циркулирующего на территории России варианта А6 полиморфизмом, закрепившимся благодаря «эффекту основателя». Мутации устойчивости к ингибиторам протеазы регистрируются значительно реже.

1.6 Распространенность и структура лекарственной устойчивости ВИЧ на территории РФ и сопредельных государств

Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом занимается анализом структуры и распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ среди наивных пациентов в Российской Федерации, основываясь на Российской базе данных лекарственной устойчивости ВИЧ. Преимущественно, это результаты исследований, полученные в Центральном и Приволжском федеральных округах.

Данные об уровне первичной фармакорезистентности ВИЧ в России довольно ограничены. При анализе в подавляющем большинстве случаев не

учитывались требования ВОЗ, необходимые для адекватного сравнения результатов, полученных на разных территориях и в разные годы.

Результаты исследования первичной устойчивости вируса ВИЧ в Москве впервые были представлены на 6-й конференции по патогенезу, лечению и предупреждению ВИЧ, проходившей в 2011 году. Среди 56 проанализированных образцов, полученных от не леченных ВИЧ-инфицированных пациентов, мутация фармакорезистентности была обнаружена только в одном случае [154]. Согласно опубликованным данным, в 2021 году хотя бы одна надзорная мутация ЛУ была обнаружена у 5,5 % пациентов, не получавших лечение. Наиболее часто встречаемые мутации к ИП: M46I/L (20 чел), I58V (7 чел); к НИОТ: M184V/I (16 чел), M41L (6 чел); к ННИОТ: K103N (40 чел), G190S (11 чел), K103S (7 чел).

В исследовании, посвященном лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в России в 2013 – 2021 годы. Наиболее часто ЛУ была выявлена к препаратам классов НИОТ (74,2 %) и ННИОТ (67,3 %), реже – к ИИ (12,1 %) и ИП (9,6 %). Преимущественно была установлена резистентность одновременно к 2 классам препаратов – НИОТ + ННИОТ (57 и 45,8 % соответственно) [24]. Необходимо также учитывать то, что результаты данного исследования отражают, в первую очередь, ситуацию в ЦФО.

Схожие результаты показывают исследования и в некоторых странах, граничащих с Россией. Так, например, в 2022 году в Узбекистане опубликованы данные о распространенности ЛУ ВИЧ и разнообразии вируса в регионе. Из 369 проанализированных образцов от пациентов с неэффективностью АРТ было получено 106 последовательностей. Из них 77,4 % содержали по крайней мере одну мутацию против препаратов ИП, НИОТ или ННИОТ. Наиболее распространенными мутациями устойчивости к НИОТ были мутации M184V/I (49,1 %), A62V (36,8 %) и K65R (18,9 %). Среди мутаций устойчивости к аналогам тимидина наибольшая распространенность была связана с T215YF (8,5 %), M41L (5,7 %), D67N (3,8 %) и K70R (3,8 %). Среди мутаций ННИОТ наиболее часто выявлялись не полиморфные мутации K103N (23,6 %), G190S (22,6 %), K101E (15,1 %) и Y181C (17,0 %) [140].

Большинство вирусов были идентифицированы как циркулирующие рекомбинантные формы CRF02_AG (176/309, 57,0 %). Было идентифицировано четыре дополнительных подтипа: 125 (40,5 %) вирусов относились к субтипу А, 3 – к подтипу В, 2 были определены как рекомбинантные А1, G и один к подтипу С [140].

1.7 Встречаемость вариантов ВИЧ, обладающих ЛУ, на территории Гвинейской Республики.

В Африке, особенно в Западной и Центральной, обнаруживается самое высокое разнообразие субтипов ВИЧ в мире. В Южной Африке в основном преобладает генотип С, тогда как в Восточной Африке доминирующим является генотип А, хотя также присутствуют вирусы генотипов D и С. В Кении сообщалось об увеличении количества генотипа С и уменьшении встречаемости D, при этом часто встречаются разнообразные рекомбинантные формы. В Западной и Центральной Африке наиболее часто встречается циркулирующая рекомбинантная форма (CRF) 02_AG. Подтипы А и G совместно циркулируют в некоторых странах, таких как Нигерия [95, 181].

Несмотря на наличие обширных данных о генотипах, циркулирующих на территории Африканского континента, подобные данные о Гвинейской Республике практически отсутствуют.

В странах с низким и средним уровнем дохода, к которым относится и Гвинейская республика, изучение ЛУ ВИЧ связано с серьезными проблемами, к которым относятся: большое количество людей, получающих АРТ или нуждающихся в АРТ; трудности в предотвращении неудач АРТ из-за отсутствия своевременного выявления вирусологических неудач, например, при рутинном мониторинге вирусной нагрузки (ВН); и операционные угрозы, влияющие на предоставление услуг АРТ (плохая приверженность АРТ и нехватка АРВ-препаратов). В связи с этим в этих странах часто сообщается о вирусологической неудаче и последующем развитии лекарственной устойчивости. С 2006 года ВОЗ рекомендовала проводить исследования на популяционном уровне для оценки и

предотвращения ПДР в странах с низким и средним уровнем дохода, и большинство исследований и опросов, проведенных на сегодняшний день, указывают на рост уровней ПДР, особенно в странах Африки к югу от Сахары [188, 189].

В период с 2014 по 2015 год Гвинея пережила последствия вспышки Эболы, что оказало существенное негативное влияние на борьбу с ВИЧ-инфекцией. Еще одной серьезной проблемой в большинстве стран Западной Африки является неэффективная децентрализация помощи при ВИЧ. В Сенегале с 2008 года в децентрализованных регионах, за исключением столицы Дакара, начали наблюдаться тенденции к увеличению доли (70% в 2013 году) пациентов, начинающих терапию [6]. В этих условиях постоянно сообщается о более высоких показателях вирусологической неэффективности лечения (23,8–26,0%), связанных с приобретенной лекарственной устойчивостью (15,9–17,7%) в период с 2008 по 2011 год [144].

Распространенность первичной ЛУ ВИЧ в Гвинейской Республике оценивается в 8,6 %, однако последние опубликованные результаты относятся к 2009 году. Наиболее часто встречаются варианты вируса, устойчивы к ННИОТ, самыми распространенными являются мутации K103N, Y181C, K101E. Значительно реже варианты вируса, устойчивые к НИОТ и ИП, в единичных случаях выявляется множественная лекарственная устойчивость [95, 144].

Вирусологическая неэффективность терапии наблюдается примерно в четверти случаев применения АРП, со схожей частотой как в столице, так и в регионах. Встречаемость МЛУ ВИЧ у пациентов, получающих лечение, оценивается в 14 %. Наиболее часто, почти в 80 % случаев ЛУ встречаются мутации резистентности к НИОТ и ННИОТ, в отдельных случаях встречаются МЛУ только к ННИОТ. Мутации лекарственной устойчивости встречаются редко [95, 144].

Среди мутаций резистентности к НИОТ, в четверти случаев встречаются замены в 184 позиции ОТ. Довольно высока встречаемость ТАМ – встречаются более, чем в половине случаев ЛУ. Наиболее распространенной мутацией

устойчивости к ННИОТ является K103N, совместно с ней циркулируют замены Y181C/L, V90I/V и V108I. Около 30 % случаев неэффективности АРТ не связаны с МЛУ [95, 144].

Глава 2. Материалы и методы

Настоящее исследование выполнено в 2018 – 2022 гг. в лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера». На проведение данного исследования было получено согласие Этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» протокол № 47 от 25.12.2018.

2.1 Материалы исследования

Материалом исследования служили биообразцы от 3 011 человек без идентификационных данных пациентов.

Настоящее исследование включало в себя изучение изолятов ВИЧ, полученных от 663 пациентов, обращавшихся в Северо-Западный окружной центр СПИД для диагностики лекарственной устойчивости в период 2013 – 2019 гг.

Для изучения использовался ряд данных из анамнеза пациентов, а именно: пол, возраст, код контингента, факт наличия или отсутствие терапии, количество применявшихся схем АРТ, использованные для лечения препараты, степень приверженности к лечению.

Кроме того, было проведено исследование изолятов, полученных от 200 пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией в период 2015 – 2018 гг. Данные этих пациентов включали в себя пол и возраст.

Была также сформирована группа пациентов из Гвинейской Республики. Для этого исследовали 2 168 образцов плазмы крови, полученные от жителей Гвинейской Республики – доноров крови и условно здоровых людей без подозрения на болезнь, вызванную вирусом Эбола, – в рамках плановой диспансеризации сотрудников ОК РУСАЛ и членов их семей. Обследованные лица отрицали инфицирование ВИЧ в анамнезе.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Транспортировка и хранение образцов

В качестве основного материала для исследования использовали плазму крови ВИЧ-инфицированных пациентов, содержащую РНК ВИЧ-1. Взятие крови осуществлялось в пробирки, содержащие наполнитель – этилендиаминтетраацетат калия (К2-ЭДТА). Пробирку с цельной кровью подвергали центрифугированию в течение 15 минут с ускорением 2000g при комнатной температуре. После центрифугирования выполнялось аликвотирование плазмы крови для последующего выделения РНК и длительного хранения при температуре – 72°C.

2.2.2 Молекулярно-биологические методы

Все полученные материалы предварительно были исследованы на вирусную нагрузку в плазме крови с помощью набора «АмплиСенс ВИЧ-Монитор-FRT» с порогом чувствительности 100 копий/мл. После чего образцы, в которых ВН превышала 1000 копий/мл, были использованы для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ с использованием набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq». Данное исследование включает в себя выделение РНК из клинического материала набором реагентов «АмплиСенс РИБО-золь-С», позволяющим получить РНК, очищенную от примесей ДНК и белков. Затем, полученная НК подвергалась обратной транскрипции, совмещенной с первым этапом ПЦР по программе, указанной в инструкции (таблица 1).

Таблица 1. Программа ОТ-ПЦР

Цикл	Температура, °С	Время, мин.	Кол-во циклов
1	45	30	1
2	95	10	1
3	95	0,5	30
	50	0,5	
	72	1,5	
4	72	5	1
5	4	Хранение	

Следующим этапом являлась гнездовая ПЦР продукта из первого этапа с использованием вложенных праймеров согласно инструкции (таблица 2).

Таблица 2. Программа II этапа ПЦР

Цикл	Температура, °С	Время, мин.	Кол-во циклов
1	95	15	1
2	95	0,5	30
	56	0,5	
	72	1	
3	72	5	1
4	4	Хранение	

Продукт ПЦР очищался от примесей с помощью комплекта «Ампли-сорб». Учет результатов реакции проводили при помощи электрофоретической детекции с использованием маркера молекулярных масс из комплекта «Подготовки к секвенированию», входящего в используемый набор. В дальнейшем проводилась реакция циклического секвенирования согласно инструкции и учет результатов с помощью генетических анализаторов Applied Biosystems 3100 и Applied Biosystems 3500.

Для образцов, полученных из Гвинеической Республики, проводилось предварительное исследование на наличие антител и антигенов ВИЧ с использованием набора реагентов ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН согласно инструкции производителя (ООО «Диагностические системы», Россия). Для дальнейшего исследования использовались только положительные в ИФА образцы.

2.2.3 Биоинформатические методы

Сборка консенсусных последовательностей из фрагментов, полученных при секвенировании, проводилась с использованием программного обеспечения «Unipro UGENE» [155]. Консенсусная последовательность включала в себя участок гена *pol* протяженностью 1302 нт., кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы в области 2253–3554 нт., координаты даны для представленного в международной базе данных GenBank ВИЧ НХВ2 (K03455.1). Полученные последовательности были исследованы на наличие мутаций лекарственной

устойчивости с использованием базы данных «Stanford University HIV drug resistance database» (США, Стэнфордский университет) [164].

Генотипирование изолятов проводилось с помощью нескольких программ в режиме on-line: REGA HIV – 1 Subtyping Tool 3.0 [93], jпHMM [173]. Rega HIV-1 Subtyping Tool использует следующий алгоритм определения субтипа вируса: сначала происходит выравнивание исследуемой последовательности с эталонными последовательностями разных субтипов и CRF; затем происходит построение филогенетического дерева для исследуемой последовательности и эталонных последовательностей чистых субтипов с применением метода расстояний НКУ в программе PAUP, после чего строится второе филогенетическое дерево с добавлением эталонных последовательностей CRF; далее исследуемая последовательность анализируется на наличие событий рекомбинации методом bootscan с шагом 40 bps и окном 400 bps, исследование проводится дважды: с референсами чистых субтипов и CRF. Онлайн-программа jпHMM использует для субтипирования одноименную методику (jumping profile Hidden Markov Model). Данные методы имеют различную чувствительность, однако ограничены набором эталонных последовательностей, которыми оперируют.

Дополнительно проводилось изучение филогенетических отношений между генетическими последовательностями исследуемых изолятов и референсными изолятами из GenBank (таблица 3). Выравнивание исследуемых последовательностей и последовательностей референсных изолятов проводилось по принципу ClustalW: сначала последовательности попарно выравнивались при помощи коэффициента сходства Needleman-Wunsch, что позволяет получить матрицу попарных расстояний для построения филогенетического дерева по алгоритму Neighbor -joining (метод присоединения соседей). Алгоритм построения филогенетического дерева по методу присоединения соседей начинается с вычисления матрицы попарных расстояний между таксонами, по которой, в свою очередь, рассчитывается Q – матрица по формуле (1).

$$(1) Q(i, j) = (n - 2)d(i, j) - \sum_{k=1}^n d(i, k) - \sum_{k=1}^n d(j, k),$$

где $d(i, j)$ – расстояние между таксонами i, j

Затем производится расчет расстояний между узлами по формулам (2), (3).

$$(2) \delta(f, u) = \frac{1}{2}d(f, g) + \frac{1}{2(n-2)} \left[\sum_{k=1}^n d(f, k) - \sum_{k=1}^n d(g, k) \right]$$

$$(3) \delta(g, u) = d(f, g) - \delta(f, u)$$

где f и g – пара присоединенных таксонов; u – новый узел; $(f, u), (g, u)$ – ветви; δ – длина ветвей.

Визуализация результатов филогенетического исследования проводилась в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции», который предполагает расчет длины ветвей с учетом генетической дистанции таким образом, чтобы общая длина всех ветвей на филогенетическом дереве была минимальной. Для проведения данного исследования было использовано программное обеспечение MEGA X. При оценке достоверности филогенетических связей использовали многократную генерацию выборок методом Bootstrap для 1000 независимых построений каждого филогенетического дерева [128].

Для анализа поиска устойчивых сочетаний мутаций ЛУ ВИЧ-1 был использован метод математического моделирования, в котором разнообразие встреченных мутаций было принято за совокупность множеств. В таком случае сочетания мутаций будут выглядеть, как пересечение отдельных множеств отдельных мутаций.

Визуализация модели осуществлялась с помощью построения линейных диаграмм [105, 166]. В подобных моделях множества показаны в виде линий, пересекающих диаграмму по горизонтали, а пересечения множеств показаны в виде перекрытия линий по вертикали. Вертикальные линии отображают каждый встреченный профиль фармакорезистентности, которые автоматически сортируются таким образом, чтобы наиболее схожие профили оказывались друг

рядом с другом, представляя множества мутаций в виде максимально возможно длинных непрерывных линий.

Таблица 3. Наименование референсных последовательностей из GenBank, использованных в филогенетическом анализе

Субсубтип	Наименование последовательности из GenBank
A1	AF069670_A1_Somalia
A1	AB287376_A1_Ruanda
A1	U51190_A1_Uganda
A1	EU110087_A1_Kenya
A1	AF484509_A1_Uganda
A1	AF107771_A_Sweden
A2	AF286237_A2_Cyprus
A3	AY521631_A3_Senegal
A3	AY521629_A3_Sweden
A6	HQ449397_A6_Krasnodar
A6	HQ161930_A6_Smolensk
A6	EF589043_A6_Kazakhstan
A6	AY500393_A6_Moscow
A6	AF413987_A6_Kiev
B	M17449_B_USA
B	KJ771697_B_Germany
B	HM586190_B_UK
B	AY713409_B_USA
B	AY173951_B_Thailand
C	AF067155_C_India
C	U52953_C_Brazil
C	U46016_C_Ethiopia
C	AY772699_C_Africa
F1	AF075703_F1_Finland
G	AF061641_G_Finland
G	U88826_G_Nigeria
G	AF084936_G_Congo
CRF_02AG	AF063224_CRF02_AG_Djibouti
CRF_02AG	GU201514_CRF02_AG_Cameroon
CRF_06cpx	HQ529257.1_Ghana_crf_06cpx
CRF02_AG	KT124792_CRF02_AG_Germany
CRF02_AG	AB231898_CRF02_AG_Ghana
CRF02_AG	EU786671_CRF02_AG_Spain
CRF02_AG	AB231896_CRF02_AG_Ghana
CRF02_AG	AY151001_CRF02_AG_Ecuador
CRF02_AG	AF377954_CRF02_AG_Cameroon
CRF03_AB	AF193276_CRF03_AB_Kaliningrad
CRF06_cpx	MH605500.1_Guinea – Bissau_crf_06cpx

2.2.4 Принципы формирования базы данных

Разработка базы данных проводилась с помощью построения таблиц, форм, запросов и отчетов средствами Microsoft Access. В основу схемы данных (рис. 5) был положен принцип реляционной базы со связями между объектами один к одному и один ко многим. Благодаря связям происходит каскадное обновление данных в отдельных объектах базы. В качестве интерфейса для работы с данными выбраны такие объекты, как формы.

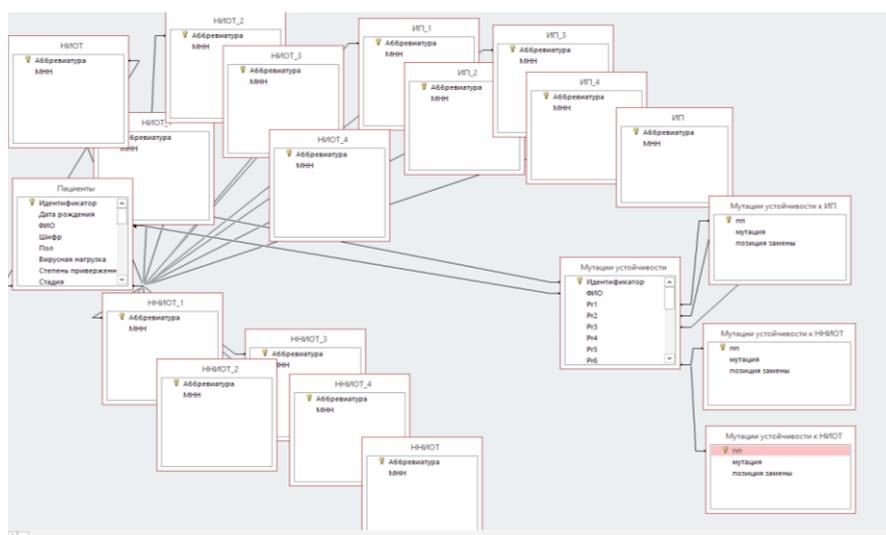


Рисунок 5. Пример схемы данных, организованных по принципу реляционной базы.

2.2.5 Статистические методы

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета прикладных программ GraphPad Prism v 5.0 (GraphPad Software Inc., США). Статистическую значимость различий между количественными показателями оценивали с использованием параметрических (t – теста Стьюдента и однофакторного анализа вариаций (ANOVA) и непараметрических тестов (U – тест Манна – Уитни и ANOVA Краскела – Уоллисса). Сравнение категориальных данных проводили с использованием критерия «хи – квадрат» (χ^2). В случае неустойчивости данного критерия применяли двусторонний точный тест Фишера. Принятая в настоящей работе величина уровня значимости (P) составляла 0,05 (или 5,0 %).

Глава 3. Молекулярно-генетический анализ ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в СЗФО

3.1 Описание обследованной популяции

Всего за период с 2013 по 2019 гг. были получены 658 образцов плазмы крови из СЗФО. Из них больше половины (62,61 %; 95 % ДИ 58,79 % – 66,32 %) принадлежали пациентам мужского пола, менее представлены пациенты женского пола (37,39 %; 95 % ДИ 33,68 % – 41,21 %) (рис. 6). Наиболее часто диагностика ЛУ назначалась пациентам в возрасте 18 – 34 лет (56,53 %; 95 % ДИ 52,65 % – 60,36 %), однако у пациентов женского пола преобладание данного возраста выражено наиболее сильно (рис. 6, таблица 4).

Анализ данных о приверженности показал, что наибольшее количество пациентов имеют низкий или субоптимальный уровень приверженности, но у части пациентов уровень приверженности к лечению оценен как оптимальный.

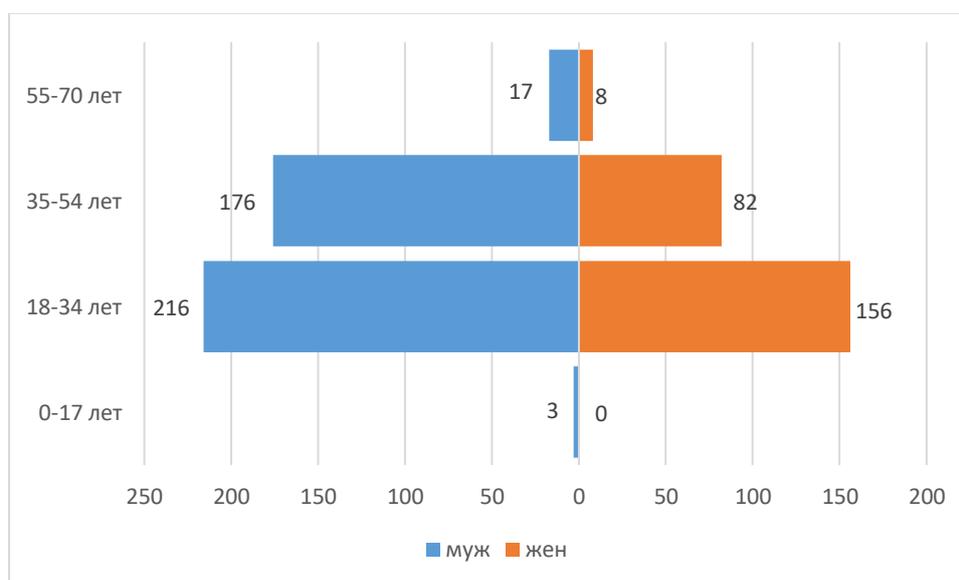


Рисунок 6 Половозрастная характеристика группы пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ.

Таблица 4. Распределение пациентов по возрасту и полу в разные годы проведения исследования

	муж 0 – 17	муж 18 – 34	муж 35 – 54	муж 55 – 70		жен 0 – 17	жен 18 – 34	жен 35 – 54	жен 55 – 70		
					муж					жен	всего
2013	0	34	31	2	67	0	39	18	2	59	126
2014	0	23	18	0	41	0	11	3	0	14	55
2015	0	31	20	3	54	0	22	10	0	32	86
2016	2	37	33	3	75	0	16	16	2	34	109
2017	1	31	34	4	70	0	27	7	1	35	105
2018	0	47	40	5	92	0	37	25	3	65	157
2019	0	13	0	0	13	0	4	3	0	7	20
Всего	3	216	176	17	412	0	156	82	8	246	658

3.2 Разнообразие схем АРТ у пациентов с вирусологической неэффективностью лечения в СЗФО

Возникновению лекарственной устойчивостью у обследованных пациентов предшествовало от 1 до 5 различных схем АРТ ($M_0 = 3$) (рис.7).

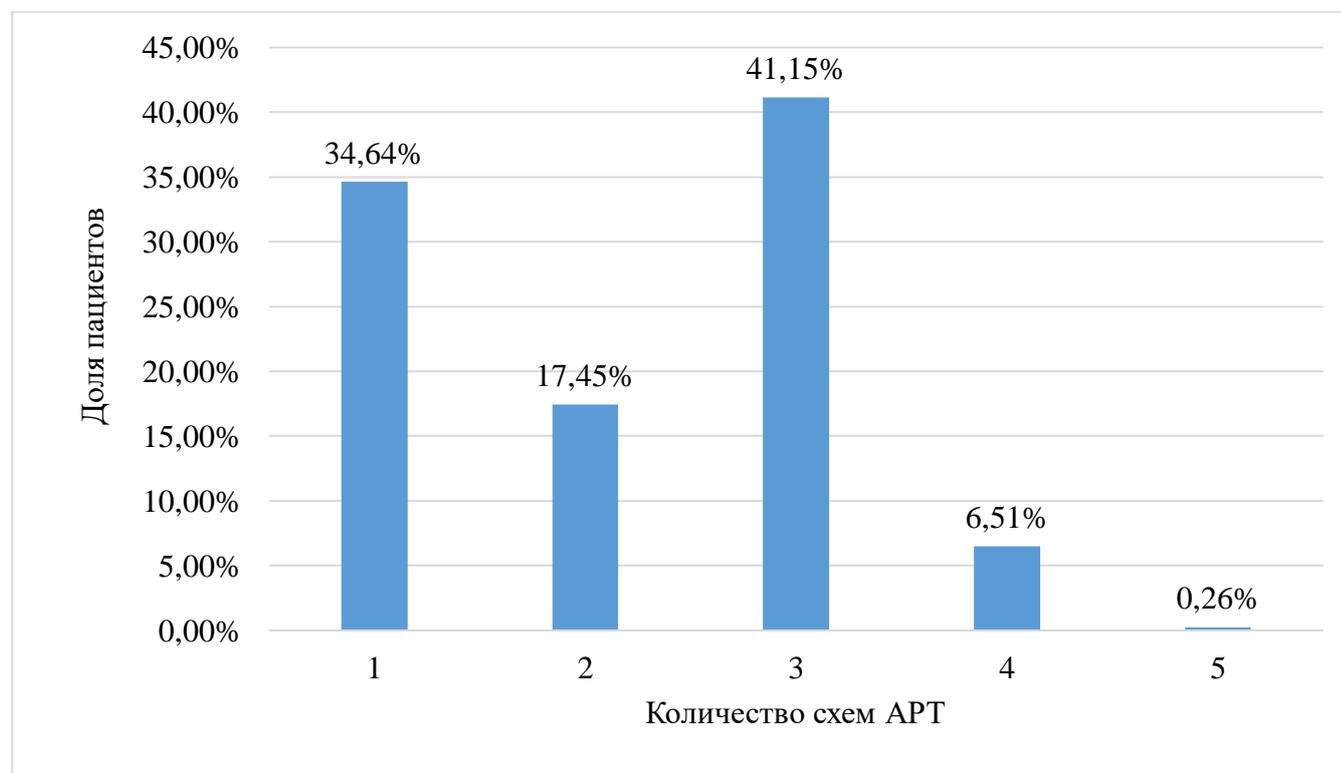


Рисунок 7. Распределение количества пациентов в зависимости от количества схем АРТ.

Схема первой линии АРТ, как правило, включала в себя два нуклеозидных ингибитора обратной транскриптазы в сочетании с одним ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы. Значительно реже встречались схемы с ИП в составе. Наиболее часто встречающимся препаратом группы НИОТ являлся ЗТС (98 %), назначавшийся, в большинстве случаев, с TDF (57 %) или AZT (38 %). Остальные препараты данной группы встречались лишь в единичных случаях, чаще не в первой линии терапии. Из препаратов группы ННИОТ в подавляющем большинстве случаев использовался EFV (91 %), кроме него в единичных случаях использовались NVP (2 %) и RPV (1 %).

3.3 Генетическое разнообразие и встречаемость мутаций ЛУ в СЗФО

Из 663 образцов вирусная нагрузка, достаточная для исследования, была выявлена у 458 пациентов. Генетические последовательности вирусных изолятов, полученных от них, были успешно секвенированы и генотипированы. Наиболее представленные регионы: Ленинградская область (N = 262); Калининградская область (N = 196); Архангельская область (N = 97).

Генетическое разнообразие было определено на основании двух методов типирования: филогенетического анализа (рис. 8) и анализа последовательностей с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0, что позволило более точно оценить распределение субтипов ВИЧ-1. Доминирующим является субтип А, субсубтип А6. Следующими по распространенности оказались рекомбинантные формы между субтипами А и В (таблица 5). При этом, если анализировать генетическое разнообразие вируса в регионах, то в большинстве регионов доминирующим является субсубтип А6, кроме Калининградской области, где 74 % изолятов (ДИ 66,61 % – 80,63 %) принадлежат к рекомбинантным формами между А и В субтипами.

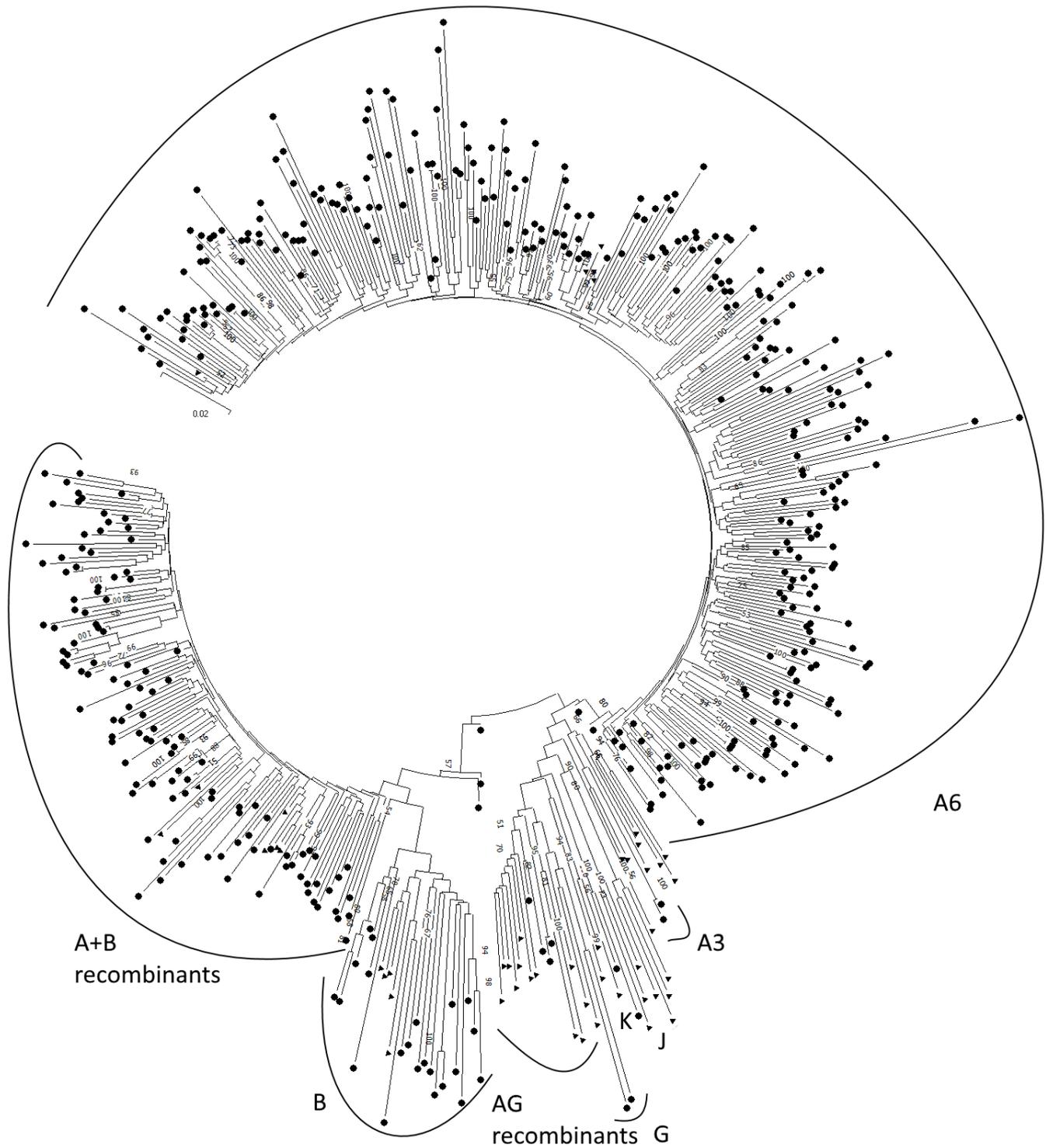


Рисунок 8. Филогенетическое дерево всех изолятов от пациентов с неэффективностью АРТ из СЗФО; ● – последовательности изолятов из данного исследования, ▲ – референсные последовательности из GenBank

Таблица 5. Встречаемость субтипов ВИЧ-1в изученных изолятах.

Субтип	Количество изолятов	Процент	ДИ
А6	326	72,20 %	67,83 % – 75,64 %
В	20	4,30 %	2.46 % – 5.96 %
G	2	0,40 %	0.05 – 1,35 %
К	1	0,20 %	0 – 1,04 %
J	1	0,20 %	0 – 1,04 %
CRF02_AG	4	0,80 %	0,20 % – 1.91 %
CRF03_AB	60	13,10 %	10,38 % – 16,30 %
CRF03_AB+A	44	9,60 %	7,21 % – 12,39 %

Проведенный анализ полученных последовательностей показал, что хотя бы с одной значимой мутацией лекарственной устойчивости к основным классам АРП и их сочетаний оказались – 383 (84 %). В подавляющем большинстве исследованных изолятов (61 %) встречались мутации ЛУ к препаратам классов НИОТ+ННИОТ, в 4 % случаев встречены МЛУ сразу к трем классам препаратов (таблица 6, рис. 9).

Таблица 6. Встречаемость лекарственной устойчивости ВИЧ к разным классам препаратов в разные годы исследования

	нет ЛУ	ИП	НИОТ	ННИОТ	ИП+ НИОТ	ИП+ ННИОТ	НИОТ+ ННИОТ	ИП+ НИОТ+ ННИОТ
2013	17 %	2 %	4 %	1 %	10 %	5 %	59 %	2 %
2014	25 %	5 %	7 %	3 %	7 %	3 %	46 %	5 %
2015	29 %	5 %	5 %	0 %	5 %	5 %	39 %	11 %
2016	6 %	3 %	5 %	1 %	10 %	0 %	71 %	3 %
2017	9 %	3 %	4 %	1 %	11 %	4 %	62 %	5 %
2018	16 %	4 %	2 %	1 %	3 %	1 %	70 %	2 %

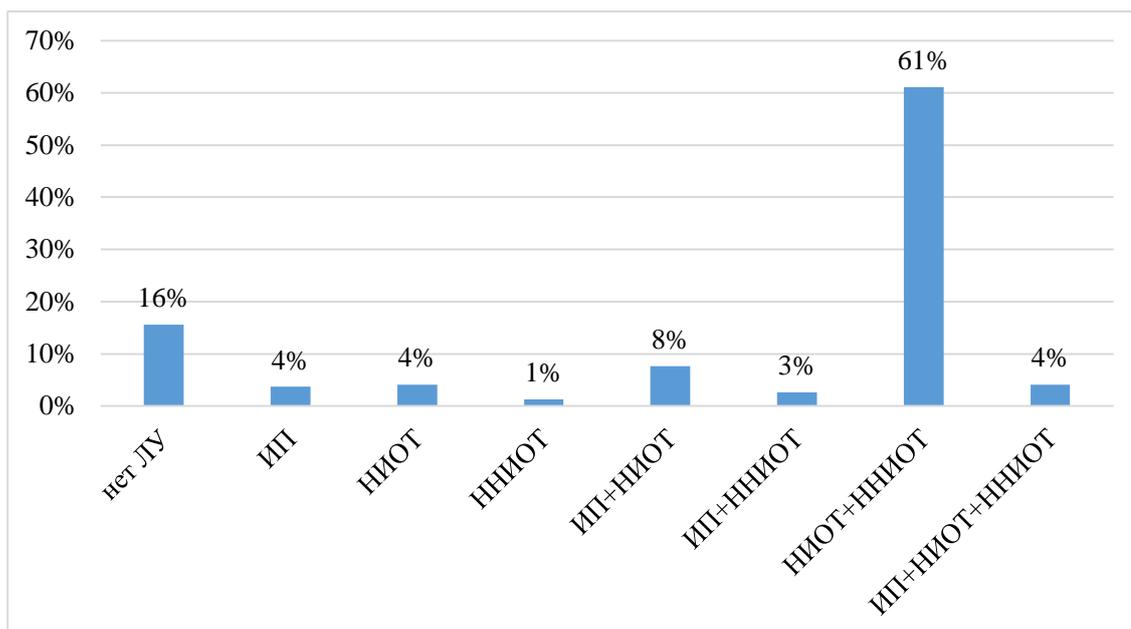


Рисунок 9. Итоговое распределение. фармакорезистентных изолятов ВИЧ-1 по СЗФО за 2013-2018 гг. в зависимости от классов препаратов, к которым они устойчивы.

Всего нами было встречено 153 различные мутации (НИОТ – 75; ННИОТ – 65; ИП – 13). Более чем в половине случаев была выявлена мутация M184V, в четверти случаев – мутация G190S, остальные мутации встречались менее, чем в 20 % случаев (таблица 7).

Таблица 7. Наиболее часто встречающиеся мутации ЛУ ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ

Мутация	Число изолятов	Встречаемость	95 % ДИ
M184V	220	57,4 %	52,32 % – 62,45 %
G190S	102	26,6 %	22,27 % – 31,36 %
K103N	76	19,8 %	15,97 % – 24,19 %
K101E	74	19,3 %	15,49 % – 23,64 %
L74V	54	14,1 %	10,77 % – 17,99 %
A62V	50	13,1 %	9,85 % – 16,85 %
K65R	47	12,3 %	9,16 % – 15,98 %
Y181C	46	12,0 %	8,93 % – 15,69 %
D67N	33	8,6 %	6,01 % – 11,89 %

Анализ наличия устойчивых сочетаний мутаций в мутационных профилях исследованных изолятов (рис. 10, 11) показал наличие ранее описанных паттернов устойчивости к тимидиновым аналогам ингибиторов обратной транскриптазы: ТАМ-1 (4 %; ДИ 2,46 % – 5,96 %) и ТАМ-2 (2 %; ДИ 1,30 % – 4,13 %), а также устойчивого сочетания не ТАМ мутаций – L74V+Y115F (9 %; ДИ 6,55 % – 11,55 %). Кроме того, были выявлены устойчивые сочетания мутаций, ассоциированных с ЛУ к ННИОТ: K101E+G190S (18 %; ДИ 14,67 % – 21,34 %); K103N (18 %; ДИ 15,01 % – 21,74 %); K103N+V108I (8 %; ДИ 6,06 % – 10,92 %).



Рисунок 10. Линейная диаграмма мутационных профилей устойчивости к НИОТ у изолятов, полученных в Северо-Западном федеральном округе (по оси ординат мутации лекарственной устойчивости, по оси абсцисс – профили мутаций пациентов).

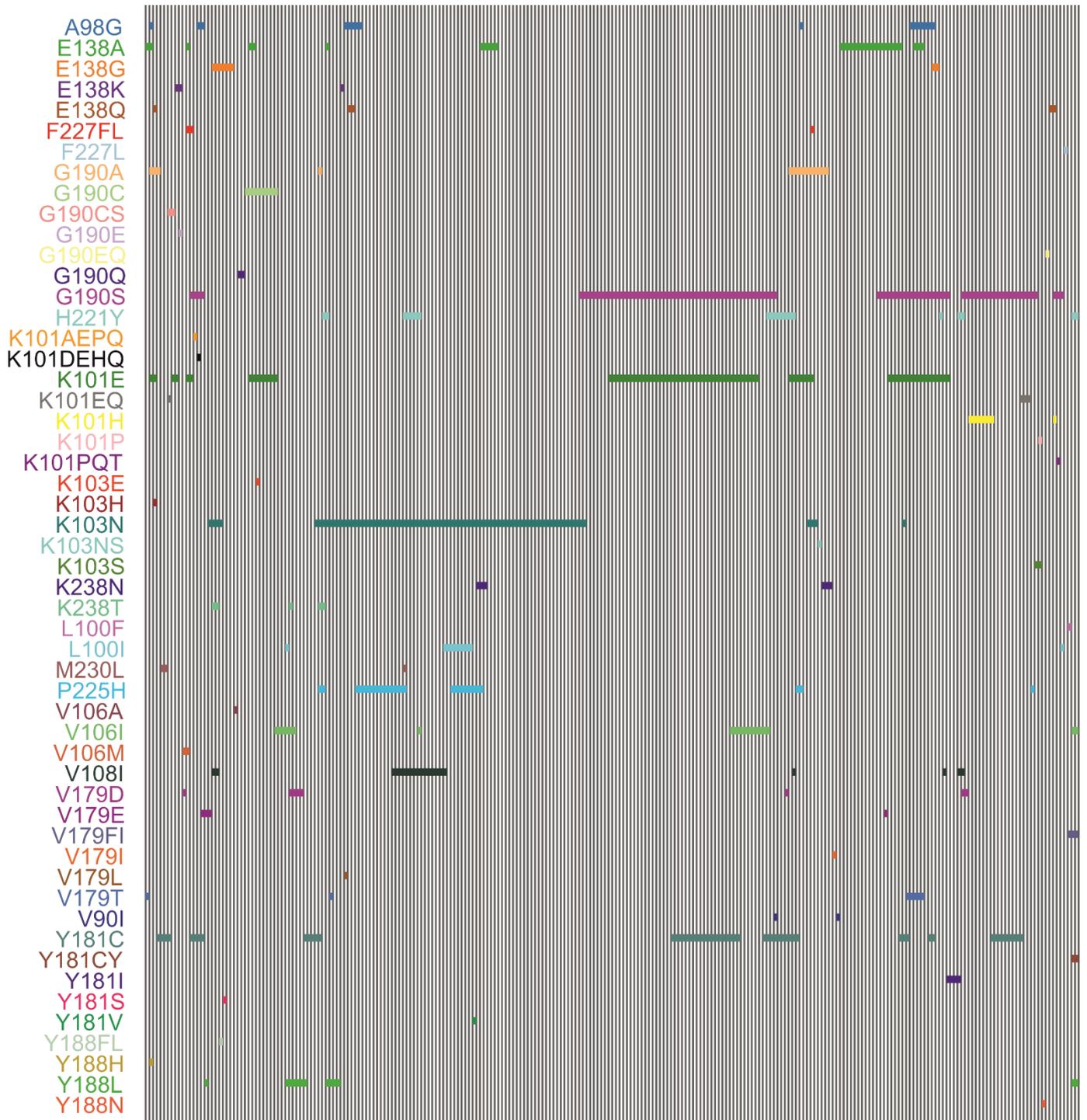


Рисунок 11. Линейная диаграмма мутационных профилей устойчивости к ННИОТ у изолятов, полученных в Северо-Западном федеральном округе (по оси ординат мутации лекарственной устойчивости, по оси абсцисс – профили мутаций пациентов).

3.4 Встречаемость ЛУ ВИЧ у пациентов с разным уровнем приверженности к терапии

Распределение пациентов с различным уровнем приверженности среди пациентов с ЛУ и без нее неоднородно (таблица 8), что подтверждает важность фактора приверженности к лечению в формировании фармакорезистентности ВИЧ. Большая часть пациентов, обратившихся в СЗОЦ СПИД для диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ, имели низкий (51,67 %) и субоптимальный (43,20 %) уровни приверженности к лечению (рис. 12).

Таблица 8. Распределение пациентов с разным уровнем приверженности к лечению в зависимости от наличия или отсутствия МЛУ

Приверженность	1 группа (резистентные) N = 383	2 группа (не резистентные) N = 73
Высокая (более 95 %)	2,6 % (12)	2,4 % (11)
Средняя (94 – 80 %)	40,4 % (184)	2,9 % (13)
Низкая менее 80 %	19,1 % (87)	32,7 % (149)

Большая часть пациентов, обратившихся в СЗОЦ СПИД для диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ, имели низкий (51,67 %) и субоптимальный (43,20 %) уровни приверженности к лечению (рис. 12).

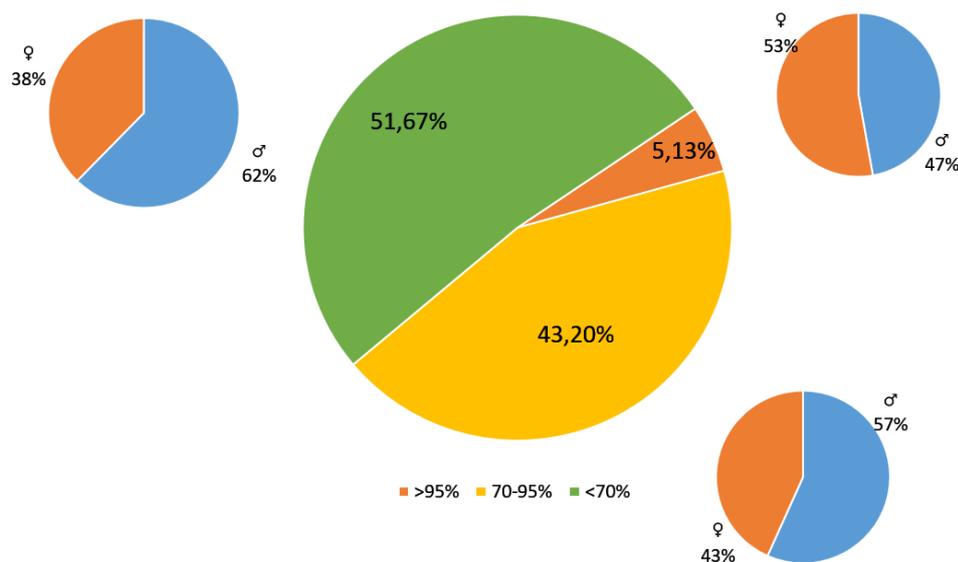


Рисунок 12. Соотношение доли пациентов с разным уровнем приверженности среди пациентов с неэффективностью АРТ в СЗФО (на выноске показано соотношение пациентов разного пола в каждой из подгрупп).

Достоверность различий между группами с разной приверженностью была оценена с помощью критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса. Для этого проводили попарные сравнения групп с помощью четырехпольных таблиц, где в качестве фактора определялась приверженность пациентов в группе, а в качестве наличия или отсутствия исхода – лекарственная устойчивость (таблица 9).

Таблица 9. Результаты оценки достоверности различий между группами с разным уровнем приверженности и оценки силы связи между фактором приверженности и наличием лекарственной устойчивости

Приверженность	χ^2 поправкой Йейтса	Уровень значимости	Коэффициент Пирсона	Интерпретация коэффициента Пирсона по Rea & Parker
Высокая (N=23) – средняя (N=197)	31,901	p<0,001	0,375	средняя
Средняя (N=197) – низкая (N=226)	144,164	p<0,001	0,503	относительно сильная
Высокая (N=23) – низкая (N=226)	1,482	p=0,224	0,089	несущественная

График взаимосвязи между приверженностью и резистентностью имеет вид куполообразной кривой, для экстраполяции данных исследования на генеральную совокупность при этом использовалась аппроксимация с помощью квадратичного полинома, так как данная методика показала наибольшую степень достоверности ($R^2 = 1$ при 95 % ДИ) (рис. 13).

3.5 Встречаемость МЛУ у пациентов с неэффективностью 1 линии АРТ

От пациентов с неэффективностью первой линии АРТ были получены 133 изолята, из них 69 не достигали вирусологической эффективности вовсе, а 64 достигали подавления ВН, но сталкивались с неэффективностью терапии. Почти половина изолятов от пациентов с неэффективностью первой линии АРТ получена за 2017 и 2018 годы (рис. 14), при этом 58 пациентов, не достигавших подавления ВН, обратились в 2018 году.

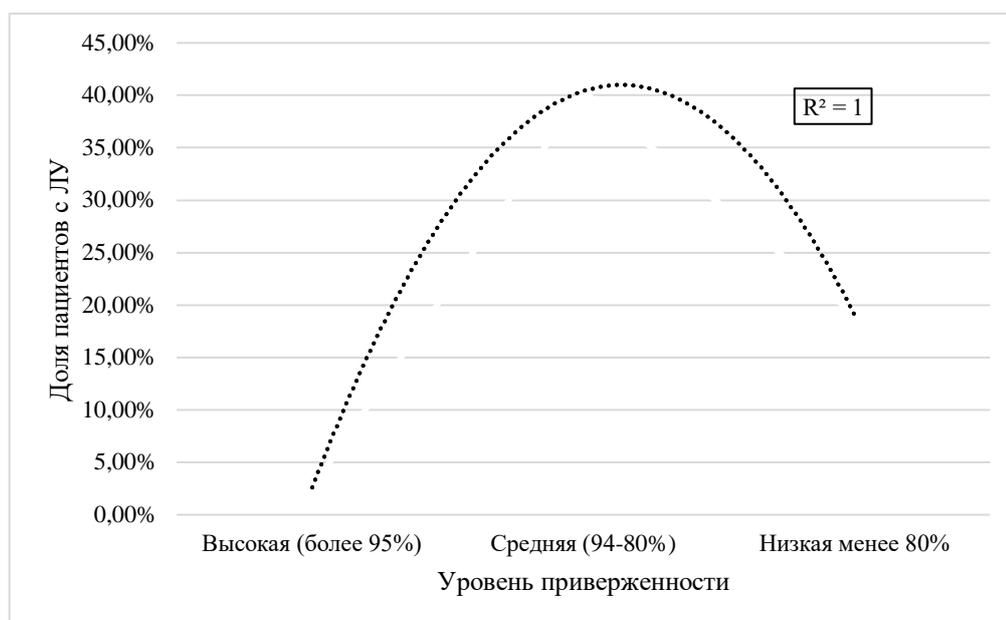


Рис. 13 Связь между наличием лекарственной устойчивости и уровнем приверженности.

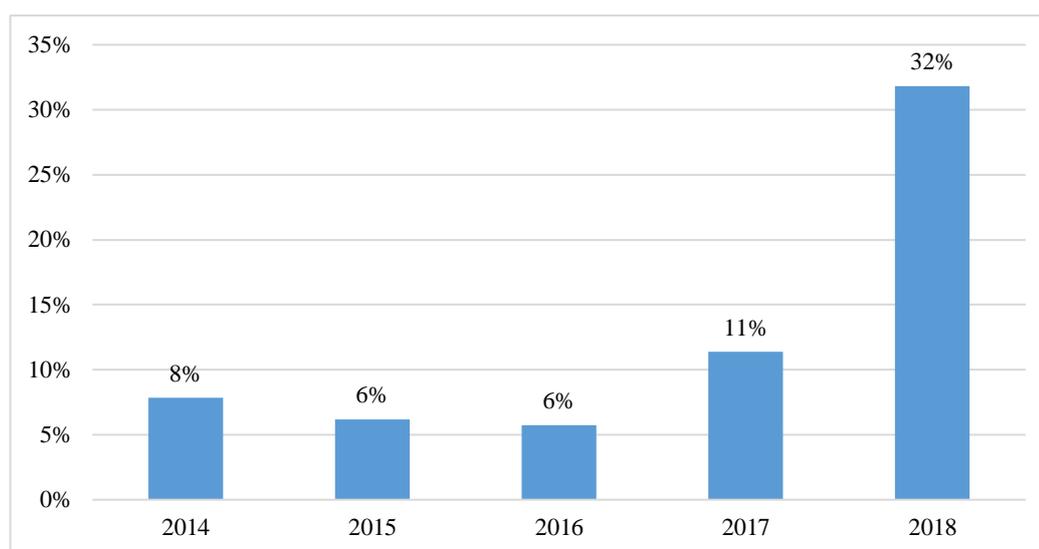


Рисунок 14. Увеличение доли пациентов с неэффективностью первой линии АРТ среди пациентов с неэффективностью терапии в СЗФО.

В 82 % случаев была встречена хотя бы одна мутация ЛУ (78 % – НИОТ, 68 % ННИОТ, 8 % – ИП) (рис. 15). Наиболее часто встречаются мутации: М184V (53 %); G90S (37 %); К101Е (24 %); К65R (23 %); А62V (15 %); Y181С (14 %); К103N (11 %); E138A (11 %); L74V (9 %).

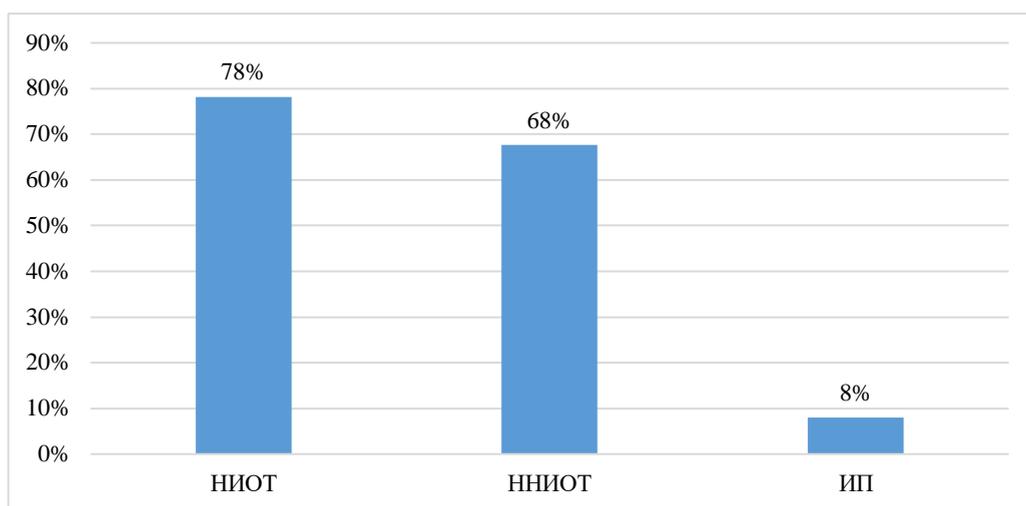


Рисунок 15. Распределение устойчивости к разным классам препаратов у пациентов с неэффективностью первой линии АРТ.

3.6 Встречаемость МЛУ в регионах СЗФО с различной пораженностью ВИЧ-инфекцией

3.6.1 Ленинградская область

Несмотря на то, что заболеваемость в Санкт-Петербурге и Ленинградской области за первое полугодие 2021 года не превысила среднее значение по стране, данные регионы относятся к одним из самых пораженных ВИЧ-инфекцией [19]. Большинство исследованных нами изолятов получены от пациентов из Ленинградской области.

Из 262 пациентов больше половины (58,5 %) принадлежали к мужскому полу. В исследуемой группе преобладала возрастная категория 35 – 44 года (59,6 %), медианный возраст составил 36 лет. У всех пациентов была выявлена вирусная нагрузка ВИЧ, превышающая 1000 копий/мл, что позволило получить последовательности генома вируса, кодирующие протеазу и участок обратной транскриптазы.

Программой REGA HIV – 1 Subtyping Tool 3.0 все изоляты были отнесены к субсубтипу А1, однако собственный филогенетический анализ позволяет с полной уверенностью отнести их субсубтипу А6 (рис. 16). Данное несоответствие можно объяснить тем, что в последних версиях используемого программного обеспечения не учитываются данные, подтверждающие необходимость выделения субсубтипа

А6 отдельно от субсубтипа А1. Кроме того, в единственном случае был встречен сложный рекомбинант между CRF03_AB и субсубтипом А1, рекомбинационный анализ которого в рамках данной работы мы проводили в пределах гена *pol*.

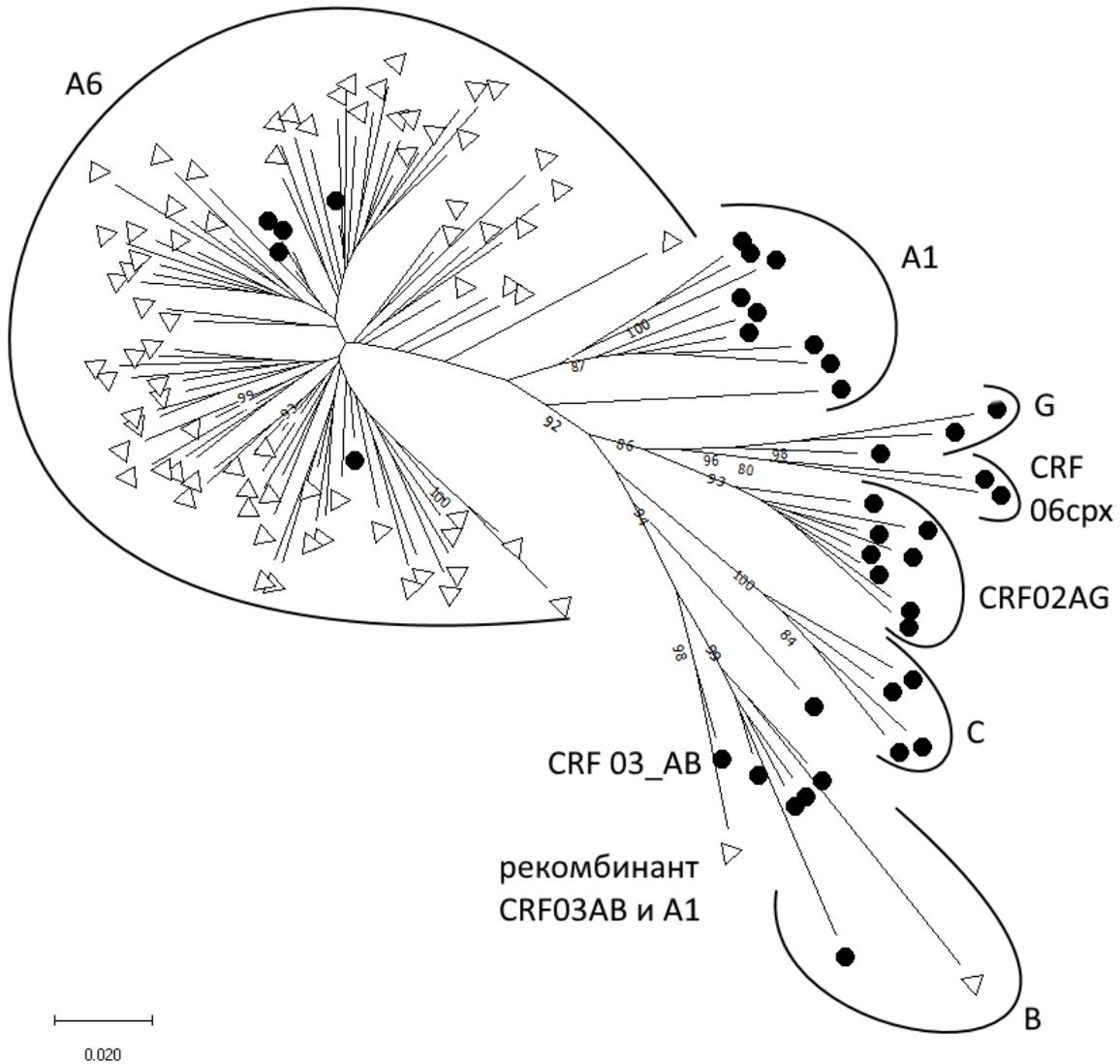


Рисунок 16. Филогенетическое древо изолятов из Ленинградской области.

● – референсные последовательности из GenBank; Δ – исследуемые последовательности

В 96 % случаев встречена хотя бы одна значимая мутация, ассоциированная с лекарственной устойчивостью для соответствующего субсубтипа вируса. В подавляющем большинстве выявленных случаев лекарственной устойчивости (93,68 %) в анализируемых изолятах встречались две и более мутации. При этом, у

таких пациентов вирус чаще всего устойчив к двум (73,21 %) классам препаратов, но иногда и сразу к трем (8,16 %) классам АРП. Всего было встречено 105 различных мутаций фармакорезистентности в 35 позициях гена *pol* вируса ВИЧ-1. Встреченные мутации в большинстве (89 %) вызывают резистентность к нуклеозидным (43 %) и нуклеозидным (47 %) ингибиторам обратной транскриптазы. Наименьшая доля среди встреченных мутаций (11 %) представлена мутациями, ассоциированными с устойчивостью к ингибиторам протеазы.

3.6.2 Архангельская область

Согласно классификации ВОЗ, Архангельская область относится к территориям с низким уровнем распространения и концентрированной стадией эпидемии ВИЧ-инфекции, однако, наблюдается тенденция к ухудшению эпидемической ситуации [19]. Среди регионов СЗФО Архангельская область занимает 9 место из 11 по пораженности ВИЧ-инфекцией [18]. Количество мужчин и женщин в группе 65,8 % и 34,2 % соответственно. не отличается от распределения ВИЧ-инфицированных лиц по полу среди жителей Архангельской области, где женщины составили – 28,7 %, мужчины – 71,3 % [19]. Таким образом, обследованная нами группа по половозрастному составу отражает популяцию ВИЧ-инфицированных больных Архангельской области.

Срок от выявления ВИЧ-инфекции до начала антиретровирусной терапии в обследованной нами группе варьировал от 0 до 12 лет и в среднем составил $3,48 \pm 3,47$ лет, отличий между мужчинами и женщинами выявлено не было. Антиретровирусная терапия, начиная с момента введения первой схемы и до настоящего направления образца крови пациентов на анализ для выявления мутаций лекарственной устойчивости с целью коррекции терапии в связи с отсутствием вирусологически эффективного ответа, велась от 1 до 13 лет, в среднем $3,64 \pm 2,36$ лет.

В большинстве случаев (43,4 %) использовалась только 1 схема АРТ, в 22,4 % случаев – 3 схемы, 2 и 4 схемы применяли по 11,8 % пациентов, 10,5 % использовали 5 схем АРТ. Следует отметить преимущественно низкую степень

приверженности терапии большинства пациентов обследованной группы (61,8 %), средней степени приверженности терапии придерживались 30,3 %, высокая степень приверженности у 7,9 % пациентов.

На основании филогенетического анализа 76 изолятов показано, что в обследованной группе больных преобладал ВИЧ генотипа А (89,5 %) по сравнению с генотипом В (9,2 %), в одном случае (1,3 %) был выявлен вариант CRF03_AB (рис. 17).

Все выявленные изоляты генотипа А располагались на одной ветви филогенетического дерева с референсными последовательностями субсубтипа А6, что свидетельствует о принадлежности исследованных нами образцов к этому геноварианту, подтверждая его преобладание в регионе. Несмотря на высокую идентичность нуклеотидных последовательностей ВИЧ А6 в группе, на филогенетическом древе наблюдается тенденция к субкластеризации и выделяются несколько субкластеров, включающих относительно гомогенные изоляты, полученные преимущественно от мужчин, инфицированных в возрасте 18 – 30 лет, при этом более чем для половины из них в анамнестических данных указана принадлежность к активным или бывшим потребителям инъекционных наркотических веществ.

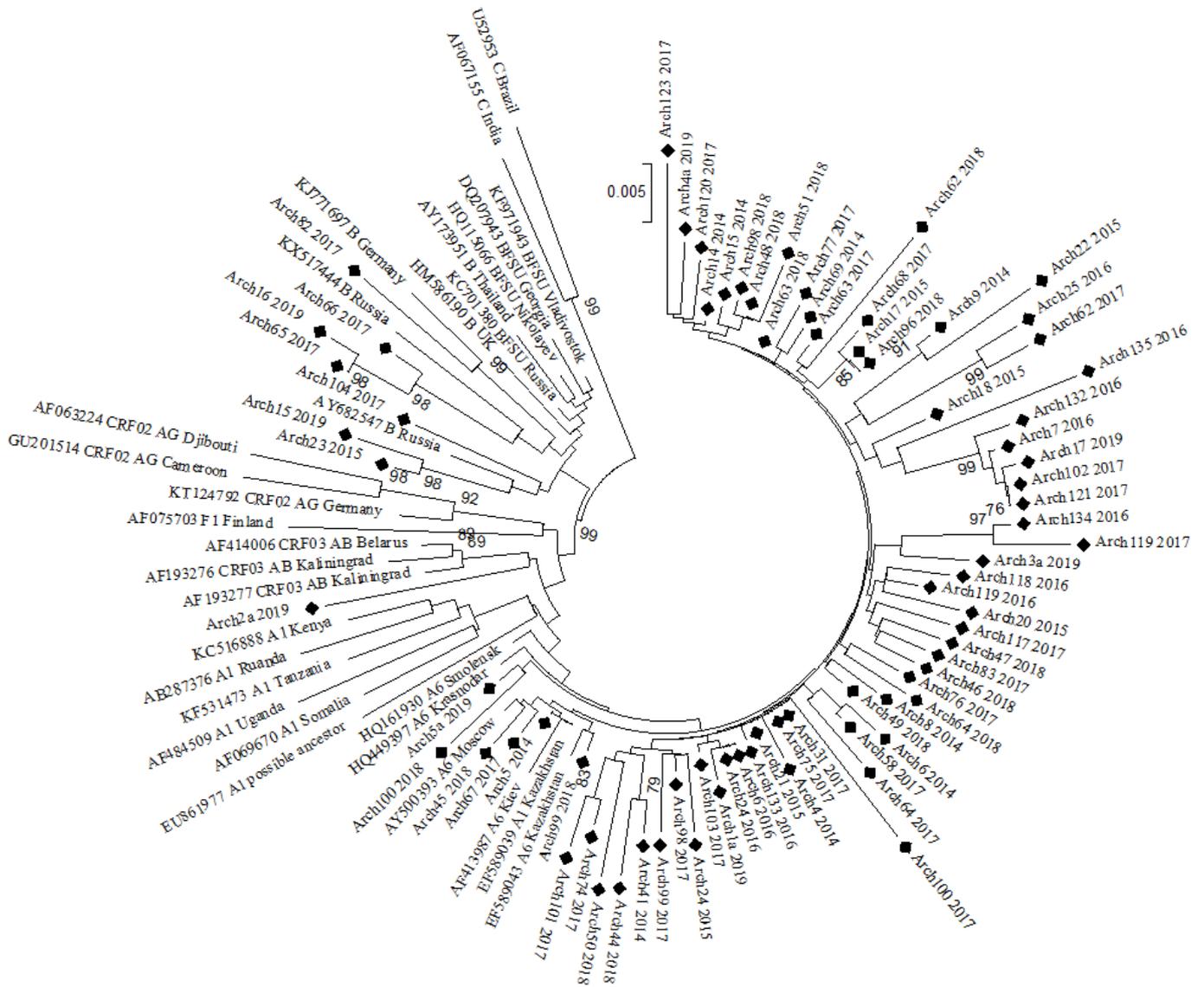


Рисунок 17. Филогенетическое древо изолятов из Архангельской области в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями; ◆ – изоляты из данного исследования.

Можно предположить, что существенная доля обследованных лиц, не сообщивших о своей принадлежности к ПИН, но изоляты ВИЧ которых оказались включены в такие кластеры, также относятся к активным или бывшим ПИН, или половым партнерам ПИН. Косвенным подтверждением этого предположения может служить преимущественно низкая приверженность АРТ лиц из этих групп, что характерно для ПИН.

Выявленные в обследованной группе изоляты ВИЧ генотипа В не относятся к варианту IDU-B, оказываясь ближе с пандемическим западноевропейским изолятом, циркулирующим в различных группах риска и часто ассоциированным с

группой риска МСМ [125]. Среди лиц, у которых был выявлен ВИЧ субгенотипа В, представлены только мужчины, двое из которых (изоляты Arch23_2015 и Arch16_2019) сообщили, что практикуют половые контакты с мужчинами. Хотя остальные пациенты из этой группы не дали информации о своей принадлежности к МСМ, филогенетический анализ позволяет предположить, что пациенты Arch23_2015 и Arch16_2019 являлись половыми партнерами, Arch16_2019 и Arch65_2017 также являлись половыми партнерами и возможным партнером одного из них ранее был пациент Arch66_2017.

При оценке встречаемости мутаций лекарственной устойчивости генетическая резистентность к каким-либо препаратам была выявлена у 86,8 % пациентов. Среди тех, у кого была выявлена лекарственная устойчивость, у 18,1 % были одиночные мутации, в то время как у большинства (81,9 %) были обнаружены множественные (более одной) мутации. В том числе мутации устойчивости к ингибиторам протеазы 33,3 % (28,9 % от общей группы), к ингибиторам ревертазы 92,4 % (80,3 % от общей группы). Изоляты с фармакорезистентностью только к НИОТ составили 16,6 % (14,5 % от общей группы), только к ННИОТ 1,5 % (1,3 % от общей группы), только к ИП 10,6 % (9,2 % от общей группы), одновременно к ИП и НИОТ 12,1 % (10,5 % от общей группы), к НИОТ и ННИОТ 46,96 % (40,8 % от общей группы), ко всем трем группам препаратов одновременно – 12,1 % (10,5 % от общей группы).

Были идентифицированы по пятнадцать паттернов мутаций, ассоциированных с резистентностью к НИОТ и к ННИОТ, четырнадцать паттернов мутаций ИП, включая шесть главных и восемь минорных, соответственно.

Мутации к ИОТ встречались чаще (83,57 %), чем мутации к ИП (16,43 %). Чаще всего встречались мутации НИОТ – 50,4 %, далее ННИОТ (33,2 %) и ИП (16,4 %).

Среди мутаций фармакорезистентности ИП чаще всего встречалась минорная мутация, связанная со снижением чувствительности к ИП при сочетании с различными мутациями, L33FV – 40,9 % (13,6 % от всех мутаций), далее в равных долях (36,4 %) представлены главная мутация M46I/L и минорная L89T (12,1 % от

всех мутаций). В регионе обратной транскриптазы чаще всего встречалась мутация устойчивости к НИОТ M184V, снижающая чувствительность к ламивудину и эмтрицитабину, – 72,1 % (66,7 % от всех мутаций), далее по нисходящей мутация устойчивости к НИОТ A62V – 39,3 % (36,4 % от всех мутаций), затем мутация устойчивости к ННИОТ K103N, снижающая чувствительность к эфавирензу и невирапину, – 32,8 % (30,3 % от всех мутаций).

3.6.3 Калининградская область

Калининградская область – третий по пораженности ВИЧ-инфекцией регион Северо-Западного федерального округа, уступая только Санкт-Петербургу и Ленинградской области.

В ходе работы нами были получены последовательности 162 изолятов ВИЧ-1, для всех был определен их субсубтип. Доминирующими в группе являлись различные рекомбинанты между субтипами А и В (74 %; 95 % ДИ 66,61 % – 80,63 %), при этом наиболее часто встречали рекомбинант между CRF0_3AB и субтипом А (33,95 %; 95 % ДИ 26,71 % – 41,79 %). Кроме того, значительную долю (13,58 %; 95 % ДИ 8,71 % – 19,84 %) составляла рекомбинантная форма, схожая с CRF03_AB (CRF03_AB-like), но при этом вклад чистых субтипов в формирование данной рекомбинантной формы не до конца ясен.

Доминирование в регионе рекомбинантов между субтипами А и В, в том числе CRF03_AB, согласуется с описанным в литературе генетическим разнообразием вируса в Калининградской области [78, 135, 133]. Тем не менее, обращает на себя внимание неоднородность внутри клады рекомбинантов на филогенетическом древе, что может быть связано как с особенностями эпидемиологических связей, так и с формированием в регионе новых циркулирующих рекомбинантных форм. Неоднозначными оказались и результаты рекомбинантного анализа последовательностей, полученных из Калининградской области (таблица 10). Проведенные анализ в двух инструментах не позволяет

однозначно определить рекомбинантные формы, входящие в кладу рекомбинантов между субтипами А и В.

Особого внимания среди рекомбинантных форм заслуживают три изолята, отмеченные на филогенетическом древе (рис.18). Эти образцы несмотря на то, что в составе их гена *pol* присутствуют фрагменты, соответствующие субтипам А и В, на дендрограмме не кластеризуются с другими вариантами А, В рекомбинантов.

Таблица 10. Результаты рекомбинационного анализа генетических последовательностей из Калининградской области в программах jumping profile Hidden Markov Model (jpHMM) и Rega HIV Subtyping tool 3.0

Штамм	Результаты анализа в jpHMM jpHMM analyze results				Subtype in Rega 3.0
	Координаты HXB2 HXB2 coordinates		Субтип subtype	Область рекомбинации Breakpoint Interval	
	Начало start	Конец end			
HIV1_2014_18_KG	2241	2729	A1	2669 – 2734	CRF03_AB-like
	2730	3369	B		
HIV1_2014_20_KG	2241	2687	A1	2670 – 2752	CRF03_AB-like
	2688	3348	B		
HIV1_2014_21_KG	2241	2668	A1	2666 – 2771	CRF03_AB-like
	2669	3334	B		
HIV1_2014_23_KG	2241	2687	A1	2654 – 2732	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_26_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2014_27_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_30_KG	2241	2687	A1	2667 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_31_KG	2241	2734	A1	2672 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2735	3369	B		
HIV1_2014_32_KG	2241	2729	A1	2667 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2730	3369	B		
HIV1_2014_33_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_34_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_37_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_60_KG	2241	2687	A1	2662 – 2732	CRF03_AB
	2688	3369	B		

HIV1_2014_61_KG	2241	2668	A1	2667 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2014_62_KG	2241	2744	A1	2671 – 2759	CRF03_AB-like
	2745	3366	B		
HIV1_2014_63_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_68_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_71_KG	2241	2674	A1	2667 – 2734	CRF03_AB-like
	2675	3369	B		
HIV1_2014_73_KG	2085	2717	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3316	B		
HIV1_2014_74_KG	2085	2717	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3316	B		
HIV1_2014_75_KG	2241	2668	A1	2667 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2016_71_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_41_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_43_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_44_KG	2241	2668	A1	2667 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2016_45_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_47_KG	2241	2717	A1	2671 – 2733	CRF03_AB-like
	2718	3369	B		
HIV1_2016_48_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2016_49_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_52_KG	2241	2729	A1	2674 – 2734	CRF03_AB-like
	2730	3369	B		
HIV1_2016_53_KG	2241	2717	A1	2671 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3369	B		
HIV1_2016_54_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_55_KG	2241	2702	A1	2670 – 2733	CRF03_AB-like
	2703	3369	B		
HIV1_2016_56_KG	2241	2729	A1	2671 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2730	3369	B		
HIV1_2016_59_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_5_1_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		

HIV1_2016_5_KG	2241	2666	A1	2635 – 2666	Recombinant of 03_AB, A1
	2721	3369	B		
HIV1_2016_60_KG	2241	2666	A1	2635 – 2666	Recombinant of 03_AB, A1
	2721	3369	B		
HIV1_2016_61_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB-like
	2688	3369	B		
HIV1_2016_64_KG	2241	2729	A1	2674 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2730	3369	B		
HIV1_2016_65_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2688	3369	B		
HIV1_2016_66_KG	2241	2717	A1	2671 – 2734	CRF03_AB-like
	2718	3369	B		
HIV1_2016_70_KG	2241	2668	A1	2613 – 2721	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2016_40_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2014_77_KG	2241	2726	A1	2671 – 2734	CRF03_AB-like
	2727	3369	B		
HIV1_2014_78_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_79_KG	2241	2717	A1	2706 – 2734	CRF03_AB-like
	2718	3369	B		
HIV1_2014_80_KG	2241	2726	A1	2668 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2727	3366	B		
HIV1_2014_81_KG	2241	2726	A1	2667 – 2734	CRF03_AB-like
	2727	3366	B		
HIV1_2014_82_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2014_85_KG	2241	2702	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2703	3369	B		
HIV1_2014_87_KG	2241	2744	A1	2670 – 2758	Recombinant of 03_AB, A1
	2745	3369	B		
HIV1_2014_88_KG	2241	2687	A1	2670 – 2729	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_90_KG	2085	2717	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3316	B		
HIV1_2014_95_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2014_97_KG	2084	2717	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3316	B		
HIV1_2014_99_KG	2093	2727	A1	2671 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2728	3346	B		
HIV1_2016_10_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2016_17_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		

HIV1_2016_1_KG	2241	2687	A1	2670 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2688	3369	B		
HIV1_2016_32_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_33_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_36_KG	2241	2548	A1	2525 – 2628	CRF03_AB-like
	2549	2692	A2	2667 – 2718	
	2693	3369	B		
HIV1_2016_37_KG	2241	2669	A1	2668 – 2729	Recombinant of 03_AB, A1
	2670	3369	B		
HIV1_2016_38_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_167_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_128_KG	2085	2726	A1	2671 – 2734	CRF03_AB-like
	2727	3351	B		
HIV1_2018_130_KG	2241	2744	A1	2671 – 2774	CRF03_AB-like
	2745	3361	B		
HIV1_2018_131_KG	2241	2744	A1	2671 – 2758	CRF03_AB-like
	2745	3361	B		
HIV1_2018_132_KG	2241	2744	A1	2671 – 2758	Recombinant of 03_AB, A1
	2745	3361	B		
HIV1_2018_133_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2018_136_KG	2241	2717	A1	2671 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2718	3366	B		
HIV1_2018_137_1_KG	2241	2687	A1	2674 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_140_KG	2241	2726	A1	2667 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2727	3351	B		
HIV1_2018_148_KG	2241	2687	A1	2670 – 2730	CRF03_AB
	2688	3275	B		
HIV1_2018_149_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_151_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2018_154_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2018_157_KG	2313	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3368	B		
HIV1_2017_35_KG	2241	2676	A1	2669 – 2723	Recombinant of 03_AB, A1
	2677	3369	B		
HIV1_2016_72_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_73_KG	2241	2687	A1	2670 – 2734	CRF03_AB

	2688	3369	B		
HIV1_2016_74_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	CRF03_AB-like
	2669	3369	B		
HIV1_2016_76_KG	2241	2744	A1	2671 – 2758	Recombinant of 03_AB, A1
	2745	3361	B		
HIV1_2016_77_KG	2241	2687	A1	2670 – 2734	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2016_78_KG	2241	2744	A1	2671 – 2774	Recombinant of 03_AB, A1
	2745	3361	B		
HIV1_2016_79_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	CRF03_AB-like
	2675	3366	B		
HIV1_2016_81_KG	2241	2687	A1	2670 – 2734	CRF03_AB-like
	2688	3369	B		
HIV1_2016_87_KG	2241	2729	A1	2674 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2730	3342	B		
HIV1_2016_97_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2017_11_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2017_12_KG	2252	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3369	B		
HIV1_2017_13_KG	2249	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3323	B		
HIV1_2017_14_KG	2246	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3348	B		
HIV1_2017_23_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2017_24_KG	2241	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2017_31_KG	2251	2668	A1	2667 – 2732	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2017_38_KG	2251	2668	A1	2671 – 2734	CRF03_AB-like
	2669	3369	B		
HIV1_2017_39_KG	2241	2318	A	2316 – 2436	Recombinant of 03_AB, A1
	2319	2651	B		
HIV1_2017_40_KG	2241	2749	A1	2671 – 2760	Recombinant of 03_AB, A1
	2750	3369	B		
HIV1_2017_42_KG	2252	2687	A1	2667 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2017_43_KG	2605	3367	B	3344 – 3369	CRF03_AB-like
	3368	3591	A2		
HIV1_2017_44_KG	2253	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2017_47_KG	2241	2695	A1	2682 – 2733	Recombinant of 03_AB, A1
	2696	3293	B		
	3368	3534	A2		

HIV1_2017_5_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2017_7_KG	2252	2668	A1	2667 – 2734	Recombinant of 03_AB, A1
	2669	3369	B		
HIV1_2017_94_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_110_KG	2241	2687	A1	2671 – 2733	CRF03_AB
	2689	3369	B		
HIV1_2018_111_KG	2241	2687	A1	2670 – 2733	CRF03_AB
	2688	3369	B		
HIV1_2018_115_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2018_118_KG	2241	2744	A1	2671 – 2758	Recombinant of 03_AB, A1
	2745	3369	B		
HIV1_2017_30_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2017_49_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2017_50_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2017_53_KG	2241	2674	A1	2669 – 2725	Recombinant of 03_AB, A1
	2675	3366	B		
HIV1_2014_19_KG	2041	2678	A1	2669 – 2734	AB – recombinant
	2679	3323	B		
HIV1_2014_24_KG	2054	2717	A1	2669 – 2734	AB – recombinant
	2718	3366	B		
HIV1_2014_25_KG	2041	2711	A1	2669 – 2734	AB – recombinant
	2712	3316	B		

При этом их субтипирование в различных онлайн-инструментах, не позволяет сделать окончательный вывод о генотипической принадлежности данных изолятов. Необходимо отметить, что все три образца имеют различное расположение на дендрограмме: изолят HIV1_2014_24_KG наиболее приближен к другим рекомбинантным формам между субтипами А и В; изолят HIV1_2014_19_KG кластеризуется с изолятами субтипа В; а изолят HIV1_2014_25_KG образует наиболее раннее ответвление, на уровне расхождения А, В рекомбинантов и других субтипов ВИЧ-1. Принимая во внимание тот факт, что все три изолята получены от пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией, можно предположить, что они были заражены одновременно несколькими

субтипами вируса и процесс рекомбинации между субтипами вируса в их организме находился в самом начале на момент взятия крови [34].

Кроме рекомбинантов между субтипами А и В, были встречены более редкие для Европейской части России CRF02_AG, а также рекомбинанты между субтипами К и J [43].

Среди чистых субтипов вируса доминирует характерный для территории Российской Федерации субтип А, представленный двумя субсубтипами: А6 (16,67 %; 95 % ДИ 11,28 % – 23,31 %) и А3 (1,23 %; 95 % ДИ 0,15 % – 4,39 %) – одновременно с ним циркулируют субтипы В (3,70 %; 95 % ДИ 1,37 % – 7,89 %) и G (1,23 %; 95 % ДИ 0,15 % – 4,39 %).



Рисунок 18. Филогенетическое дерево изолятов из Калининградской области; ● – референсные последовательности из GenBank.

Глава 4. Сравнительный анализ первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 разных субтипов

4.1 Анализ распространенности фармакорезистентности ВИЧ у пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией из СЗФО

Всего в исследовании приняли участие 200 пациентов без опыта АРТ: 63 мужчины (31 %) и 137 женщин (69 %). Перед началом лечения было проведено тестирование на чувствительность к антиретровирусным препаратам. Из 200 исследованных образцов РНК плазмы 176 (88,0 %, 95 % ДИ 82,67 % – 92,16 %) образцов имели достаточный уровень нагрузки для дальнейшего исследования. Генотипирование изолятов от 176 ВИЧ-инфицированных пациентов выявило генетическое разнообразие вируса, характерное для РФ в целом и Ленинградской области в частности. Из всех исследованных изолятов 97,74 % классифицируется как субсубтип А6, 1,13 % как CRF03_AB и 1,13 % как рекомбинантный CRF06_crx (рис. 19).

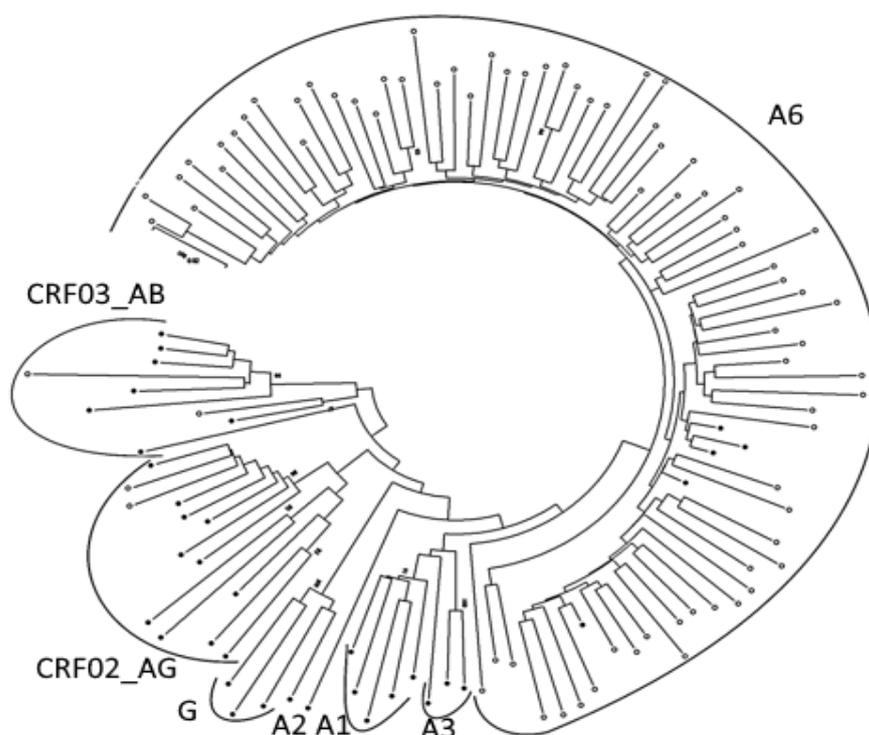


Рисунок 19. Результаты филогенетического анализа генетических последовательностей изолятов ВИЧ-1 от пациентов без опыта АРТ из СЗФО. ● – референсные последовательности из GenBank.

Обращает на себя внимание то, что в группе пациентов с первичной ЛУ было обнаружено абсолютное преобладание субсубтипа А6, что не позволило в полной мере изучить особенности устойчивых вариантов вируса других субтипов у пациентов без опыта АРТ (рис. 20).

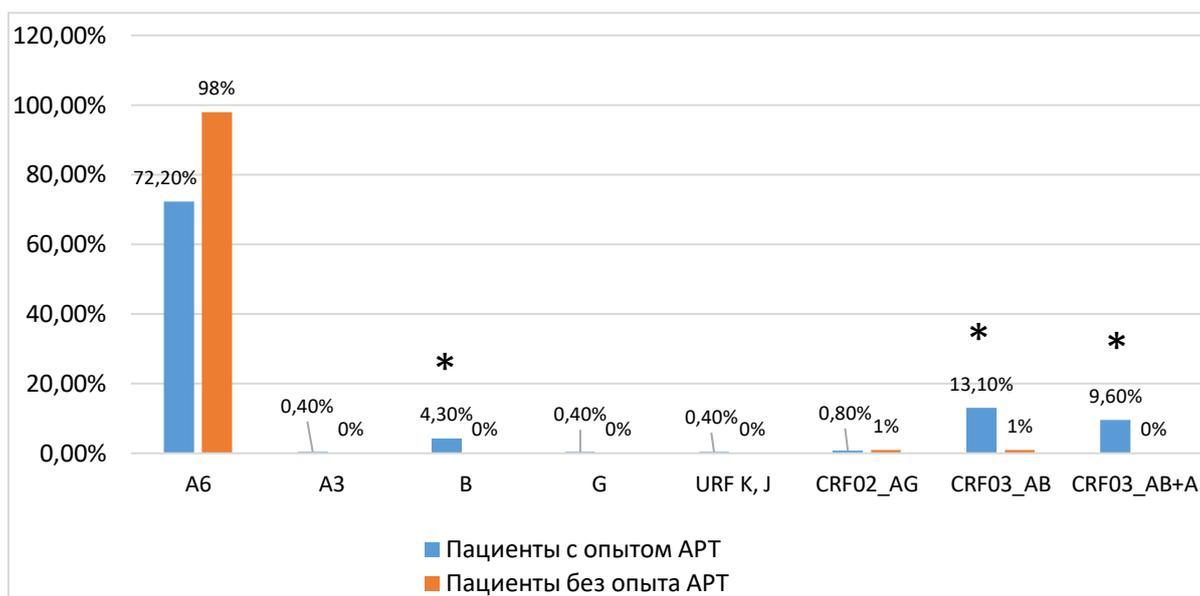


Рисунок 20. Анализ распределения субтипов ВИЧ у пациентов, получавших и не получавших лечение.

Было обнаружено, что вирус от 11 пациентов (6 %) обладает мутациями, ассоциированными с устойчивостью к АРП (рис. 21, таблица 11). У четырех пациентов были обнаружены мутации устойчивости к тимидиновым аналогам. У одного субъекта был вирус с множественными мутациями устойчивости, включая ТАМ в сочетании с мутациями устойчивости к ННИОТ (V106M, G190S). У 7 пациентов была выявлена мутация А62V, при этом в 5 случаях она выявлялась в сочетании с мутациями резистентности к ННИОТ. Аминокислотная замена А62V в гене обратной транскриптазы ВИЧ-1 является важной адаптивной мутацией в вирусах с множественной лекарственной устойчивостью, для вирусов субсубтипа А6 она является частым полиморфным вариантом, но при этом нельзя исключать ее влияния на частоту возникновения новых мутаций ЛУ [16].

Мутации, вызывающие резистентность к ННИОТ, наблюдались у 8 человек (5 %). Было обнаружено, что четыре изолята содержат замены, связанные с устойчивостью к рилпивирину и этравирину.

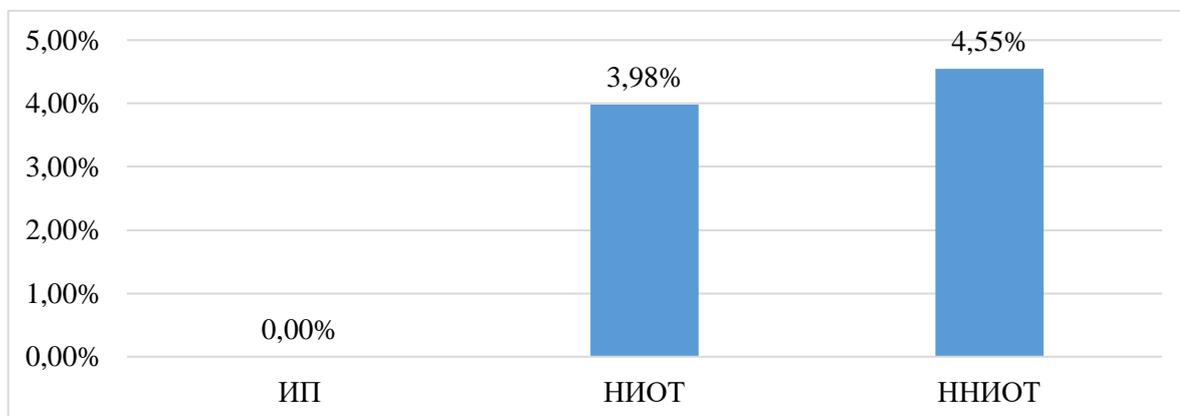


Рисунок 21. Встречаемость ЛУ ВИЧ к разным классам препаратов у пациентов без опыта АРТ

Таблица 11. Встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у пациентов без опыта АРТ из СЗФО

Мутации	Встречаемость
Мутации устойчивости к ННИОТ	
E138A	2,00 %
V106I	1,00 %
K106M	1,00 %
V179D	1,00 %
G190S	1,00 %
Мутации устойчивости к НИОТ	
A62V	4 %
D67N	1 %
K70R	1 %
K70E	1 %
L74I	1 %
M184V	1 %
T215L	1 %
K219Q	2 %

4.2. Сравнительный анализ распространенности мутаций ЛУ ВИЧ-1 среди пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией из Гвинейской Республики

Всего 2168 образцов сыворотки крови от условно здоровых людей были обследованы на наличие серологических маркеров (АГ+АТ) ВИЧ. Положительный результат был получен у 239 человек, что составило 11,02 % от полной выборки. Отметим, что 69,45 % пациентов с выявленными маркерами ВИЧ являлись молодыми людьми в возрасте от 20 до 39 лет. Детектируемое количество РНК ВИЧ в плазме крови (>500 копий/мл) удалось выявить у 58 человек, что составило 24,27 % пациентов серопозитивной группы (2,68 % от общей группы). В последствии, был успешно генотипирован ВИЧ из всех 58 образцов.

Генотипированные образцы были получены от пациентов в возрасте от 18 до 54 лет. Медианный возраст составил 36 лет. Преобладает возрастная группа 31 – 45 лет (62,07 %). Наиболее представлены в выборке мужчины, они составляют 63,79 % от исследуемой группы.

После проведения секвенирования удалось получить последовательности генома ВИЧ, кодирующие протеазу и участок обратной транскриптазы, от всех пациентов с детектируемой ВН.

Проведенный анализ (рис. 22) позволил выявить следующее соотношение субтипов ВИЧ-1. Преобладает в исследуемой группе циркулирующая рекомбинантная форма ВИЧ CRF02_AG (41,9 %) по сравнению с А1 (29,1 %); А3 (12,9 %); рекомбинантом между А1 и G, но не принадлежащим к CRF02_AG (12,9 %); и генотипом G, выявленном в одном случае (3,2 %).

Результаты анализа указывают на успешное выявление не только субтипов, характерных для территории Российской Федерации, но и редких для нее, в том числе субтипа G и циркулирующей рекомбинантной формы CRF02_AG.

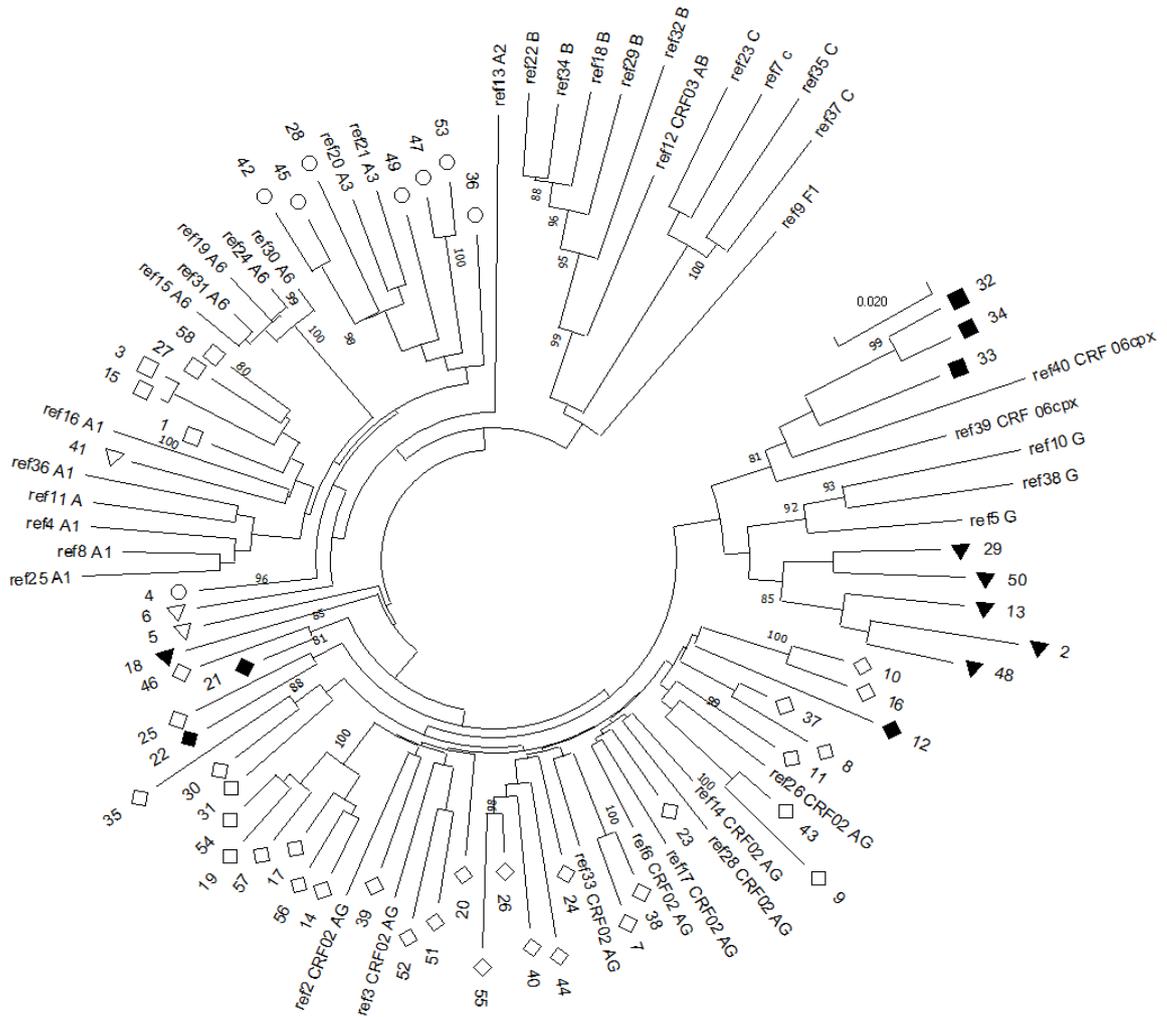


Рисунок 22. Филогенетическое древо изолятов из Гвинейской Республики

По результатам анализа у 25 % пациентов встречена хотя бы одна значимая мутация, приводящая непосредственно к лекарственной устойчивости ВИЧ для их субтипа вируса (таблица 12). Встреченные мутации вызывают резистентность к нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы. В одном случае была встречены одновременно несколько мутаций, вызывающих устойчивость к препаратам обоих классов. Среди них мутация K65R, вызывающая устойчивость к большинству НИОТ, совместно с мутацией S68G, которая частично восстанавливает дефект репликации, связанный с K65R [150]. Мажорных мутаций устойчивости к ингибиторам протеазы встречено не было, однако крайне высоко разнообразие минорных МЛУ к ингибиторам протеазы.

Таблица 12. Встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у пациентов без опыта АРТ из Гвинеи

Мутации	Встречаемость
Мутации устойчивости к ИП	
K20I	67.24%
L10I/V	29.31%
L10F	1.72%
M46L	1.72%
K20V	3.45%
N88H	3.45%
V179I	18.96%
Мутации устойчивости к ННИОТ	
S68G	10.34%
V106I	5.17%
K103N	3.45%
E138Q	3.45%
K103E/Q	1.72%
V108I	1.72%
E138A	1.72%
V179T	1.72%
Y181Deletion	1.72%
K238E/T	3.44%
Мутации устойчивости к НИОТ	
M41L	3.45%
A62V	1.72%
K65R(S68G)	1.72%
T74S	1.72%

Обращает на себя внимание успешное выявление с помощью используемой тест-системы мутаций, характерных для редких субтипов (K20I), а также редко встречающихся мутаций (K20V, V179T, K238E), эффект которых недостаточно описан в литературе на данный момент.

Полученный результат подтверждает возможность применения используемого диагностического набора на разных геновариантах ВИЧ, в том числе отличных от циркулирующих в России субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1.

Глава 5. Разработка базы для хранения и обработки данных мониторинга распространённости лекарственной устойчивости ВИЧ-1

На сегодняшний день, в связи с повышающимся распространением антиретровирусной терапии, увеличивается встречаемость вариантов ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью. На фоне данного процесса, значительно возросла встречаемость фармакорезистентности ВИЧ у пациентов без опыта АРТ, данный показатель за последние годы превысил уровень 5 %, что указывает на необходимость внедрения в практику исследования на наличие устойчивых вариантов вируса до начала АРТ. Введение подобной меры неизбежно приведет к увеличению количества исследований на резистентность ВИЧ к АРТ и числа организаций, выполняющих исследование. В связи с этим, увеличивается потребность в программном обеспечении, позволяющем оптимизировать работу с массивом данных о пациентах, проходящих обследование, и о выявленных вариантах ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью.

Кроме потребности в анализе фармакорезистентных изолятов ВИЧ, все более актуальным становится изучение эпидемических процессов на территории России и проведение эпидемиологических расследований случаев инфицирования с поиском возможных источников инфекции с применением методов молекулярной эпидемиологии. Подобные исследования требуют наличия как можно большего числа референсных последовательностей генома вируса, полученных в изучаемом регионе.

Схожие задачи в России решают две основные базы, содержащие информацию о распространённости лекарственной устойчивости ВИЧ. Федеральный регистр лиц, инфицированных ВИЧ, кроме прочего, содержит сведения об имеющихся у пациента случаях неэффективности лечения, смене схем лечения и о результатах исследования на лекарственную устойчивость. Также существует Российская база данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам, содержащая деперсонифицированную информацию о результатах

секвенирования ВИЧ с целью проведения эпидемиологического надзора за резистентностью ВИЧ на территории РФ.

Тем не менее, необходимо внедрение в работу лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) системы, частично обладающей возможностями обеих названных баз данных: подходящей для использования в качестве лабораторной информационной системы и содержать информацию о пациентах, прошедших исследование на наличие фармакорезистентных вариантов ВИЧ, с возможностью обмена данной информацией между ЛПУ. Такая информационная система должна предоставлять возможность собирать данные о геновариантах ВИЧ с привязкой к территориям, на которых они были выявлены.

Разработанная в рамках данной работы база данных (БД) предназначена для регистрации и хранения сведений о пациентах, прошедших обследование на наличие ЛУ ВИЧ. БД может применяться для регистрации случаев неэффективности АРТ и результатов исследований на наличие вариантов ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью. Использование базы позволит отслеживать случаи многократной неэффективности, сведения БД могут быть использованы для проведения исследований молекулярно-генетических особенностей ВИЧ, а также эпидемиологических исследований. БД содержит анамнестические сведения о пациентах: пол, возраст, регион проживания, схемы АРТ – а также результаты обследования пациентов на наличие мутаций ВИЧ, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к антиретровирусным препаратам.

Для формирования базы данных были использованы результаты исследований, полученные в ходе работы СЗОЦ СПИД в ходе проведения исследований на наличие устойчивых к АРП вариантов ВИЧ у пациентов с выявленной вирусологической неэффективностью АРТ. База сформирована по типу реляционной БД с помощью инструментов Microsoft Office Access (рис. 23). В БД были включены анамнестические данные пациентов, представленные в направлении на исследование, а также результаты самих исследований на резистентность ВИЧ.

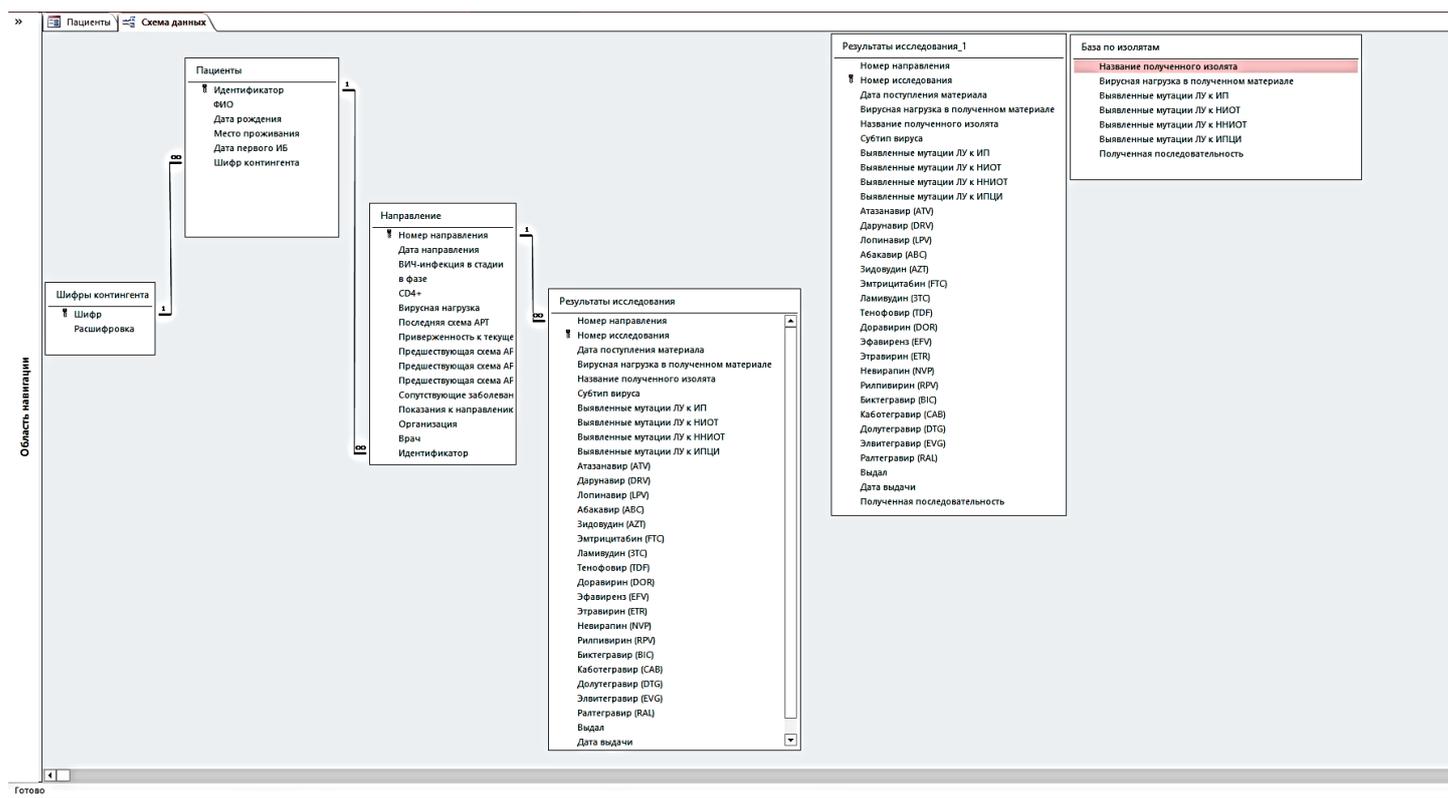


Рисунок 23. Схема взаимосвязи данных в БД МО Access.

База данных содержит сведения о пациентах: фамилию, имя, отчество, дату рождения, пол, регион проживания, дату первого иммунного блота, вирусную нагрузку, степень приверженности к АРТ, стадию и фазу болезни, получаемые АРП, а также сведения о выявленных мутациях результатах лекарственной устойчивости.

«База данных пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в СЗФО» представлена в формате Microsoft Access. В ее составе ряд таблиц: основная – «Пациенты» и вспомогательные – «ИП», «НИОТ», «ННИОТ», «Мутации устойчивости к ИП», «Мутации устойчивости к НИОТ», «Мутации устойчивости к ННИОТ». Кроме таблиц, для ввода данных разработан ряд форм: основная – «Пациенты» и вспомогательные – «Препараты», «Добавление мутации устойчивости к ННИОТ», «Добавление мутации устойчивости к НИОТ», «Добавление мутации устойчивости к ИП». Для упрощения работы с БД внедрен ряд запросов: «ИП Запрос», «Мутации устойчивости к ИП Запрос», «Мутации устойчивости к НИОТ Запрос», «НИОТ Запрос», «ННИОТ Запрос»,

«Основной_Поиск», «Пациенты Запрос», «Подсчет по полу», «Подсчет по степени приверженности» – и макрос «Поиск».

Основная таблица «Пациенты». Состоит из 23 столбцов: Идентификатор (содержит порядковый номер), Дата рождения, ФИО, Шифр (ключевое поле, уникальный идентификатор пациента), Пол, Вирусная нагрузка, Степень приверженности, Стадия, Фаза, Дата 1 ИБ, Регион, Дата исследования на резистентность, ИП 1 – 5, НИОТ 1 – 5, ННИОТ 1 – 5. Дополняет ее таблица «Мутации устойчивости», включающая в себя данные о выявленных у пациента мутациях, ассоциированных с устойчивостью к АРП.

Остальные таблицы играют вспомогательную роль – они содержат словари для полей основной таблицы и позволяют быстрее заполнять сведения о пациентах, используя стандартизированные формулировки. Дополнять вспомогательные таблицы позволяют запросы: «ИП Запрос», «Мутации устойчивости к ИП Запрос», «Мутации устойчивости к НИОТ Запрос», НИОТ Запрос, «ННИОТ Запрос».

Для ввода данных в базу используется главная форма – «Пациенты» (рис. 24), содержащая в себе поля для ввода анамнестических данных, кроме сведений об АРТ – эти поля содержит вспомогательная форма «Препараты», включенная в форме «Пациенты в дополнительную вкладку «Получаемые препараты АРТ». Результаты исследования на лекарственную устойчивость ВИЧ содержатся во вспомогательной форме «Мутации устойчивости», расположенной во вкладке «Выявленные мутации устойчивости» основной формы. Остальные формы служат в качестве интерфейса для запросов.

С использованием основной формы «Пациенты» можно последовательно ввести персональные и анамнестические данные пациента. Сохранение данных от записи к записи происходит автоматически. Вкладки внутри основной формы позволяют перейти во вспомогательные формы, в которых, после проведения исследования, необходимо внести их результаты. С помощью формы «Мутации», посвященной результатам проведенного исследования, можно сформировать бланк результата для выдачи его врачу.

База данных пациентов с неэффективностью АРТ

Идентификатор: ГОА150710

Фамилия, Имя, Отчество: XXXXX XXXXX XXXXXX

Дата рождения: XX.XX.XXXX

Место проживания: Ххххххх

Дата первого ИБ: 15.07.2010

Шифр контингента: 102

Направления

Идентификатор: ГОА150710

Номер направления: 1409221

Дата направления: 14.09.2022

ВИЧ-инфекция в стадии: 4Б

в фазе: прогрессирующая

CD4+: 334

Вирусная нагрузка (коп/мл): 5477

Текущая схема АРТ: TDF+3ТС+ATZ

Приверженность к текущей схеме (%): 70-95

Предшествующая схема АРТ 1: AZT+3ТС+LPV/r

Предшествующая схема АРТ 2: ABC+3ТС+ATN

Предшествующая схема АРТ 3: ABC+3ТС+ETR

Сопутствующие заболевания (по МКБ-10): B18.2

Показания к направлению: вирусологическая неэффективность арт

Организация: ГБУЗ ВОЦ СПИД

Врач: Рогова О.Л.

Рисунок 24. Форма для внесения данных в базу.

С помощью вспомогательного запроса поиска можно осуществлять поиск по базе данных и дополнять записи пациентов новыми сведениями о лекарственной устойчивости ВИЧ, если данный пациент обращался неоднократно. С помощью фильтрации в таблицах можно исследовать записи, подходящие по определенному параметру.

После внесения данных в форму, можно получить отчет, экспортируемый в формат базы в МО Excel, содержащую сведения о распространенности мутаций, ассоциированных с резистентностью к АРП, среди изолятов ВИЧ, выделенных в Северо-Западном Федеральном округе (СЗФО).

Таблица базы данных «Профили мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью, в изолятах ВИЧ из Северо-Западного Федерального округа» представлена в формате Microsoft Excel (7 вкладок по 100, 8, 147, 80, 141, 68, 144 строки, 9 и 2 колонки, соответственно).

Вкладка 1. Исследованные изоляты. Колонки:

(1) Название изолята

- (2) Количество использовавшихся схем лечения
- (3) Выявленные мутации ЛУ к НИОТ
- (4) Позиции выявленных мутаций ЛУ к НИОТ
- (5) Выявленные мутации ЛУ к ННИОТ
- (6) Позиции выявленных мутаций ЛУ к ННИОТ
- (7) Все выявленные мутации ЛУ
- (8) Позиции всех выявленных мутаций ЛУ
- (9) Полученная последовательность гена *pol*

Вкладка 2. Сокращения регионов. Колонки:

- (1) Сокращение региона в имени изолята
- (2) Расшифровка

Вкладка 3. Встречаемость мутаций ЛУ. Колонки:

- (1) Мутация
- (2) Количество изолятов

Вкладка 4. Встречаемость мутаций ЛУ к НИОТ. Колонки:

- (1) Мутация
- (2) Количество изолятов

Вкладка 5. Встречаемость паттернов НИОТ. Колонки:

- (1) Паттерны мутаций
- (2) Количество изолятов

Вкладка 6. Встречаемость мутаций ЛУ к ННИОТ (рис. 6). Колонки:

- (1) Мутация
- (2) Количество изолятов

Вкладка 7. Встречаемость паттернов ННИОТ (рис. 7). Колонки:

- (1) Паттерны мутаций
- (2) Количество изолятов

База данных, выгруженная в Excel (рис. 25), позволяет отслеживать глобальное разнообразие и региональные особенности изолятов ВИЧ, для научных

исследований в области эпидемиологии, при генетическом анализе и в системе эпидемиологического надзора.

Название полученного изолята	Вирусная нагрузка в полученном материале	Выявленные мутации ЛУ к ИП	Выявленные мутации ЛУ к НИОТ	Выявленные мутации ЛУ к ННИОТ	Выявленные мутации ЛУ к ИПЦИ	Полученная последовательность
HIV1_2022_13_VG	1940267		K70EG	K101E, G190S		>HIV1_2022_13_gag_pol_VG GGGAAGAGATGACCCCTCCCTGAAACAGGGACAGAAA CAGCGAACAGCATCTCTTCAATTCCCTCAATCACTCTT >HIV1_2022_12_gag_pol_VG TTTATGGGAGACTTTGGCCTTCCAGCAAGGAAAGCCAGGG AATTTCTCAGAGCAGACCAAGCATCAGCCCAACAGC >HIV1_2022_11_gag_pol_VG GGCTATTTTTAGGGAGACTTTGGCTTCCCAAAAGGGA GGCTAGGAAATTTTCTCAGAGCAGACCAAGCAACAGC >HIV1_2022_10_gag_pol_VG AATTTTTAGGGAGAATTTGGCTTCTAGCAAGGGAGGCC AGCAAAATTTCTCAGAGCAGACCAAGCAACATCAGCCCGC >HIV1_2022_9_gag_pol_VG TTAGGGAGAATTTGGCTTCCCAAGGGAGGGCCAGGAA ATTTCTCAGAGCAGACCAAGCAACATCAGCAACAGCA >HIV1_2022_8_gag_pol_VG CAGGAAATTTCTCAGAGCAGACCGGAACCATCAGCCCA CAGCGAAATTTGAAATGAAATGGGAAAGATGACCTCT >HIV1_2022_7_gag_pol_VG GACAGGCTATTTTTAGGGAGAATCTGGCTTCCAGCAA GGGAGCCAGGAAATTTCTCAGAGCAGACCAAGCAAC >HIV1_2022_6_gag_pol_VG GACAGGCTATTTTTAGGGAAAATCTGGCTTCCCAAAA GGGAGCCAGGAAATTTCTCAGAGCAGCAACATGCGCAT >HIV1_2022_5_gag_pol_VG CAGGGTTATTTTTAGGGAAAATCTGGCTTCCCAAGGG AAGCGAGGAAATTTCTCAGAGCAGACCAAGCAACATCA >HIV1_2022_4_gag_pol_VG TAGACAGGCTAATTTTTAGGGAGAATTTGGCTTCCAGCA AAGCGAGCCAGGAAATTTCTCAGAGCAGACCAAGCA >HIV1_2022_3_gag_pol_VG TTAGACAGGCTAATTTTTAGGGAGAATTTGGCTTCCAGCA AAGCGAGCCAGGAAATTTCTCAGAGCAGCAACATGCGCAT >HIV1_2022_2_gag_pol_VG GATGACCCCTCCCTGAAACAGGAAACAGAAAGCAGGGAA CAGCGCTCTTCAATTTCTCAATCACTCTTGGCAAC >HIV1_2022_1_gag_pol_VG TTCTCAGAGCAGACCAAGCAACATCAGCCCAACAGCAGA AATCAAGGGAGGGAGGAAAGACAGTCCCTCTCTGAAA
HIV1_2022_12_VG	85731		L74V, Y115F, M184V	K101E, Y181C, G190S, H221Y		
HIV1_2022_11_VG	154365		D67N, K70R, T215I, K219E	V108I, Y181C, G190A	E157Q	
HIV1_2022_10_VG	346915					
HIV1_2022_9_VG	16382		K65R, Y115F, M184V	K103N, Y181C, G190A, K238T		
HIV1_2022_8_VG	28659		K65R	Y181C, G190S		
HIV1_2022_7_VG	49498			K103N, E138G, P225H	E157Q	
HIV1_2022_6_VG	0			G190S		
HIV1_2022_5_VG	21662		K65R, V75I, M184V	E138Q, V179E, Y181C		
HIV1_2022_4_VG	55802		A62V, K65R, M184V	K101P, K103S	E157Q	
HIV1_2022_3_VG	127486			K103N	E157Q	
HIV1_2022_2_VG	1321			K238T	E157Q	
HIV1_2022_1_VG	6018 150L		L74V, Y115F, M184V, K219E	L100I, K103N		

Рисунок 25. Данные об изолятах ВИЧ из базы данных, выгруженные в базу Excel.

Ее основу составляют генетические последовательности с присвоенными названиями, несущими информацию о дате получения последовательности и регионе, откуда был получен образец, содержащий исследованный вирус. Кроме того, база содержит информацию о мутациях ЛУ в каждом изоляте и о субтипе вируса. С помощью фильтрации можно получить сведения об изолятах, полученных за определенное время или в определенной местности, что позволяет использовать содержащиеся в базе последовательности в качестве референсных при проведении эпидемиологических исследований.

Поскольку данные во второй базе данных обезличены, их можно использовать неограниченно в научных целях, ЛПУ смогут предоставлять другим организациям сведения о распространенности мутаций лекарственной устойчивости по запросу.

Глава 6. Обсуждение

6.1 Молекулярно-генетическое разнообразие ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из СЗФО

Генетическое разнообразие ВИЧ-1 в обследованной группе типично для территории Российской Федерации – абсолютное преобладание субсубтипа А6 – 79,6 % в России в целом по сравнению с 72 % в СЗФО по результатам нашего исследования [60]. При этом важно отметить, что при генотипировании инструментами REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0 все изоляты были отнесены к субсубтипу А1, однако собственный филогенетический анализ позволяет с полной уверенностью отнести их субсубтипу А6. Данное несоответствие можно объяснить тем, что в последних версиях REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0 не учитываются данные, подтверждающие необходимость выделения субсубтипа А6 отдельно от субсубтипа А1 [21].

В большинстве регионов РФ также преобладает ВИЧ А6 (70 – 95 %), затем генотип В (5 – 12 %) и в меньшем количестве могут быть представлены иные генотипы и рекомбинантные формы вируса [35]. Это распределение повторяет молекулярную картину эпидемии ВИЧ в России в целом. Несмотря на появление в разных регионах РФ новых геновариантов и рекомбинантных форм, эпидемия ВИЧ остается более однородной, чем в Европе, с преобладанием А – FSU клада. Различия между эволюцией западной и восточной эпидемии могут объясняться различиями в поведении и образе жизни лиц, относящихся к группам риска.

В последние годы эпидемия ВИЧ в мире развивается в направлении смещения геновариантов с различных географических территорий, роста распространенности рекомбинантов и не – В генотипов в Западной и Центральной Европе. При этом, хотя эпидемии не – В вариантов связаны с иммигрантами, гетеросексуалами и женщинами, не – В геноварианты распространились среди иных групп – оседлое европейское население, МСМ. В связи с относительно более сильной экономикой России, высок уровень миграции в РФ из других стран бывшего СССР. В настоящее время РФ занимает четвертое место в мире по количеству официально зарегистрированных принимаемых мигрантов, в то время

как широко распространена трудовая миграция людей с неурегулированным статусом или работающих без разрешительных документов. Так, доля трудящихся – мигрантов из стран Центральной Азии составляет 80–90 %, а из европейской части Содружества независимых государств (СНГ) – более 50 % [145]. Эти данные указывают на высокую мобильность мигрантов в регионе, что может способствовать передаче инфекционных заболеваний и играть значимую роль в эпидемиологическом связывании ВИЧ-инфекции между различными географическими территориями. Так, кластеры ВИЧ из стран бывшего СССР интеркалированы с российскими последовательностями, демонстрируя близкое сходство ВИЧ из России и других стран бывшего СССР, что согласуется с высоким уровнем миграции и способствует преодолению сетей передачи ВИЧ в регионе [64]. Наравне с растущими показателями распространенности гетеросексуального ВИЧ-инфицирования это может приводить к изменениям в молекулярно-эпидемиологической структуре ВИЧ.

Тем не менее, в регионе наблюдается неоднородность распределения субтипов, связанная с различиями в начале эпидемического процесса на разных территориях СЗФО. Следующими по распространенности за субсубтипом А6 являются рекомбинантные формы между субтипами А и В (23 %). Это связано с их высокой распространенностью в одном из регионов СЗФО – Калининградской области [77]. Данные рекомбинаты представлены как CRF03, так и более сложными рекомбинатными формами.

В то время как в большей части СЗФО ВИЧ-инфекция была связана с общим эпидемическим процессом на территории СССР, в Калининградской области эпидемия началась со вспышки, вызванной вирусом, принадлежащим CRF03_AB. В связи с этим, в данном регионе преобладают различные рекомбинантные формы между субтипами А и В – 74 % изолятов (ДИ 66,61 % – 80,63 %). При этом вклад чистых субтипов в формирование этих рекомбинантных форм не до конца ясен. Важно также отметить, что в Калининградской области, в целом, наблюдается наибольшая генетическая гетерогенность ВИЧ-1, связанная, вероятно, с большим количеством завозных случаев, чем в других регионах.

Генотипирование крайне важно для последующего исследования образца на наличие устойчивых к АРП вариантов ВИЧ, так как генетические варианты вируса могут различаться по своим биологическим свойствам, по скорости эволюции вируса и прогрессирования заболевания, а также вкладу различных мутаций в формирование устойчивости к АРТ. В связи с этим необходимы дополнительные исследования для оценки участия рекомбинантных форм в генетическом разнообразии вируса в регионе. Недостаточное внимание к высокому разнообразию рекомбинантов ВИЧ и отсутствие полных данных о распространенных точках рекомбинации может привести к ошибочному определению наличия или отсутствия ЛУ у вируса [21].

Из полученных последовательностей (N = 458) хотя бы с одной значимой мутацией лекарственной устойчивости оказались 383 (83,99 %; 95 % ДИ 80,30 % – 87,24 %). Схожий результат (82,4 %) был получен сотрудниками ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора для пациентов, преимущественно, из Центрального федерального округа [24]. В подавляющем большинстве исследованных нами изолятов (61 %) встречались мутации ЛУ к препаратам классов НИОТ+ННИОТ, в 4 % случаев встречены МЛУ сразу к трем классам препаратов.

Крайне высокой оказалась встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ. При этом чаще всего можно было встретить мутации к ингибиторам обратной транскриптазы, а мутации, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам протеазы, встречены лишь в 28 (6 %) случаях, что может быть связано с более высоким генетическим барьером к резистентности у ИП, а также менее частым их использованием в схемах лечения у обследованных пациентов [7, 24].

В сравнении с данными 2012 года, относящимися к Санкт-Петербургу, частота встречаемости мутаций фармакорезистентности ВИЧ увеличилась более, чем в два раза: с 30 % в 2012 году до 72,05 % в 2018 г. [13]. Такой рост количества устойчивых вариантов вируса можно объяснить изменением популяции ВИЧ-инфицированных в России: за этот период эпидемия вышла из уязвимых групп

населения, в связи с чем повысился социальный статус ЛЖВ. Среди пациентов, принимающих АРП, повысилась приверженность, и, вместе с тем, увеличилось количество пациентов с субоптимальной приверженностью к лечению, которая является наиболее опасной для формирования лекарственной устойчивости [36]. Одновременно в регионе растет встречаемость передающейся первичной устойчивости, которая, несомненно, вносит вклад в распространенность фармакорезистентности среди лиц, принимающих АРП, так как на данный момент не проводится тестирование пациентов перед началом терапии на наличие мутаций лекарственной устойчивости [17].

Несмотря на увеличение встречаемости МЛУ, их структура осталась сходной. Так, в настоящее время на первом месте по встречаемости находится аминокислотная замена M184V (66,98 %). На втором и третьем местах мутации G190S (30,96 %) и K103N (23,08 %), ассоциированные с лекарственной устойчивостью сразу к нескольким ННИОТ, аналогичная ситуация наблюдалась и в исследовании 2012 года [13]. Мутации устойчивости к НИОТ и ННИОТ встречались со схожей частотой, во многих случаях совместно, вызывая устойчивость к большинству ингибиторов обратной транскриптазы.

Подробно описанные в литературе сочетания мутаций, ассоциированных с устойчивостью к тимидиновым аналогам (ТАМ), встречены в полученных профилях в единичных случаях, при этом паттерны по пути ТАМ-1 и ТАМ-2 встречали с одинаковой частотой. Интересно отметить, что в данном случае оба паттерна ассоциированы с мутацией T215Y, в то время как известно, что формирование паттерна по пути ТАМ-2 обладает наибольшими преимуществами с заменой T215F [117], которая также показана в изученных мутационных профилях, но не в составе паттернов ТАМ.

Среди мутаций фармакорезистентности ИП во всех случаях встречалась главная мутация M46I/L и в трех случаях минорная мутация L89T.

Кроме того, выявлены две мутации в десятой позиции области протеазы, одна из которых, выявленная в единственном случае.

6.1.1 Молекулярно-генетическая характеристика изолятов ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Ленинградской области

Нельзя не отметить различие в генетическом разнообразии субтипических профилей, полученных в данной работе и в исследовании 2012 года [13]. Ленинградская область показывает меньшее количество встречающихся субтипов по сравнению с Санкт-Петербургом, что может говорить о значительной изолированности популяций ВИЧ-инфицированных пациентов области и города, несмотря на их географическую близость. Крайне высокой оказалась встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ. При этом чаще всего можно было встретить мутации к ингибиторам обратной транскриптазы, а мутации, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам протеазы встречены лишь в 8 (6 %) случаях, что может быть связано с более высоким генетическим барьером к резистентности у ИП, а также менее частым их использованием в схемах лечения у обследованных пациентов [7, 26].

В сравнении с данными 2012 года, относящимися к Санкт-Петербургу, частота встречаемости мутаций фармакорезистентности ВИЧ увеличилась более чем в три раза: с 30 % до 95 % [13]. Вероятно, столь значительное изменение встречаемости ЛУ ВИЧ в регионе можно связать как с тем, что увеличилась распространенность и доступность АРТ, так и с тем, что эпидемия в России продолжает развиваться и практически распространилась за пределами уязвимых групп населения. Вместе с тем увеличилось количество пациентов с субоптимальной приверженностью к лечению, которая является наиболее опасной для формирования лекарственной устойчивости [36]. Кроме того, негативным фактором является увеличение встречаемости первичной лекарственной устойчивости.

Кроме встречаемости мутаций, изменилась и их структура. На первом месте по встречаемости по – прежнему находится M184V (106 (77 %)). На втором месте мутация Q151M (70 (51 %)), ассоциированная с лекарственной устойчивостью сразу к нескольким нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы, при этом

она не отмечалась в 2012 году [13]. В 2012 году на третьем месте по частоте встречаемости были представлены мутации G190S (47 %) и K103N (13 %), связанные с устойчивостью вируса к нуклеозидным ингибиторам, в данном исследовании третье место занимают мутации в 101 позиции (65 (47 %)), также ассоциированные с устойчивостью к ННИОТ. Мутации устойчивости к НИОТ и ННИОТ встречались одинаково часто, во многих случаях совместно, вызывая устойчивость к большинству ингибиторов обратной транскриптазы.

Среди мутаций фармакорезистентности ИП во всех случаях встречалась главная мутация M46I/L и в трех случаях минорная мутация L89T.

Кроме того, выявлены две мутации в десятой позиции области протеазы, одна из которых, выявленная в единственном случае, – L10LF – является минорной мутацией устойчивости к ИП, а другая, встреченная в 40 (29 %) случаях, – L10I – увеличивает репликацию вирусов с другими мутациями устойчивости к ИП [101].

Интересно отметить, что полученные результаты незначительно отличались от результатов анализа субтипического и мутационного профиля ВИЧ-1 у пациентов с вирусологически неэффективной АРТ других регионов СЗФО. Сходная структура и распространенность мутаций была выявлена у ВИЧ-инфицированных лиц с неэффективной АРТ в Великом Новгороде.

6.1.2 Молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Архангельской области

Полученные нами результаты (А6 – 89,5 %, В – 9,2 %, CRF03_AB – 1,3 %) незначительно отличаются от распределения геновариантов ВИЧ в России и практически совпадают с результатами, показанными для Архангельска ранее (IDU – А – 83 %, В – 10,6 %, С, D, CRF03_AB, CRF02_AG – по одному случаю) [20].

Хотя значительная часть легальных и не легальных трудовых мигрантов направляются в Москву, Санкт-Петербург, Екатеринбург и т.д., учитывая масштаб миграционных волн, часть мигрантов прибывает на северные территории РФ. Среди нелегальных мигрантов, в том числе получивших отказ в связи с ВИЧ – положительным статусом, наибольшее их число прибывает в Архангельскую область

из Азербайджана, далее следуют Таджикистан и Узбекистан. При этом большинство мигрантов имеют недостаточный уровень знаний о способах распространения ВИЧ-инфекции, а уже в 2014 году общий показатель частоты выявления ВИЧ-инфекции среди легальных трудовых мигрантов, прошедших медицинское освидетельствование, составил 171,1 на 100 тыс. человек, наибольшие показатели отмечали у мигрантов из Азербайджана [57].

Для оценки сходства/близости вариантов ВИЧ, полученных в ходе данного исследования и в работе Казенновой Е.В. с соавторами в 2017 г. [20], был проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей изолятов из Архангельска.

Несмотря на то, что в работе исследования 2017 г. [20] представлены преимущественно АРТ – наивные пациенты, а в нашей – пациенты с вирусологически неэффективной АРТ, результатом которой становится «отбор» геновариантов вируса с заведомо более высокой встречаемостью различных мутаций, наблюдается тенденция к кластеризации изолятов, полученных от ПИН и от MSM. Очевидно, главную роль в кластеризации играет не столько географическая общность, сколько пути передачи инфекции. Это особенно показательно в случаях ВИЧ генотипа В, для которого при проникновении на какую – либо территорию в определенный момент времени характерно обособление и распространение среди узкого круга лиц, приводящее к появлению различных генетических вариантов, сходных в пределах относящихся к этому кругу ветвей, но не кластеризующихся с геновариантами В, имеющих иное происхождение и/или из других регионов.

Таким образом, несмотря на показанное для Архангельской области преобладание полового гетеросексуального пути распространения ВИЧ [20], парентеральный путь передачи ВИЧ-инфекции при инъекционном употреблении наркотиков до недавнего времени оставался ведущим в структуре причин заражения ВИЧ. Учитывая характерность опасного сексуального поведения среди активных и бывших ПИН, следует обратить пристальное внимание на риск

распространения половым путем изолятов ВИЧ-инфекции с лекарственной устойчивостью.

Таким образом, в обследованной нами группе среди ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусологически неэффективной АРТ наиболее распространены мутации лекарственной устойчивости к ламивудину и эмтрицитабину (M184V), делавирдину (K103N), к аналогам тимидина (T215F/Y и/или K219Q/E и/или D67N), невирапину и эфавирензу (G190S) и нетимидиновым аналогам нуклеозидов (L74V).

При сравнительном анализе было показано, что, хотя в целом количество и частота мутаций не зависела от количества применяемых схем, встречаемость мутаций лекарственной устойчивости в регионе протеазы у пациентов с двумя и более схемами АРТ достоверно превышала таковую у пациентов с одной схемой, независимо от длительности применения терапии – $\chi^2=4,791$, $p=0,0286$, $df=1$, рассчитанный относительный риск $RR=2,8$, $p=0,0272$ (95 %, ДИ: 1,143 – 6,859), нормированное значение коэффициента сопряженности Пирсона $C'=0,416$, что свидетельствует об относительно сильной связи между увеличением количества схем АРТ и частотой встречаемости мутаций лекарственной устойчивости в регионе протеазы.

В анализируемом регионе гена *pol* показана высокая частота естественных полиморфных вариантов, количество которых коррелирует с приверженностью к лечению и не зависит от количества используемых схем терапии. Среди них обнаружены мутации, связанные с резистентностью других субгенотипов ВИЧ и предположительно являющиеся генетическими маркерами субгенотипа А6. Некоторые из них ранее рассматривали как естественные полиморфные варианты ВИЧ субгенотипа В, позже показали их влияние на чувствительность к ингибиторам протеаз в отсутствии основных мутаций фармакорезистентности.

Среди обследованных изолятов зарегистрированы несколько необычных мутаций, в том числе в позициях характерных для мутаций лекарственной устойчивости. Так, для изолята Arch100_2017 в области протеазы показана мутация I47T в положении которой известен ряд мутаций (I47V, I47A), связанных со

снижением чувствительности ко всем ИП, кроме саквинавира и атазанавира, и высоким уровнем устойчивости к лопинавиру и фосампренавиру, соответственно. В последовательности обратной транскриптазы изолята Arch69_2014 показана необычная мутация M230V, интересно, что в этом положении замена M230L вызывает устойчивость от среднего до высокого уровня для всех НеНИОТ, а замена M230I является чрезвычайно редкой мутацией, появляющейся под действием рилпивирин. Для образца Arch8_2014 были найдены две мутации A62X и L234V. У двух изолятов – Arch24_2016 и Arch64_2018 – в нуклеотидной последовательности обратной транскриптазы выявлена мутация M41R.

6.1.3 Молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРТ из Калининградской области

Исследуемый регион демонстрирует распределение субтипов ВИЧ-1 отличное от других регионов России в целом и СЗФО в частности [60]. Для сравнения значимости различий генетического разнообразия между регионами СЗФО были выбраны субсубтип А6, субтип В и рекомбинантные формы между субтипами А и В, поскольку именно они встречаются не только среди изученных нами образцов, но также и в изолятах из Архангельской области и Ленинградской области. Для оценки достоверности различий был использован критерий χ^2 с поправкой Йейтса. При этом достоверных различий между встречаемостью субтипов ВИЧ-1 в Архангельской и Ленинградской областях не выявлено, но наблюдается статистически значимое различие генетического разнообразия между ними и Калининградской областью (χ^2 составляет 254.277. Критическое значение χ^2 при уровне значимости $p=0.01$ составляет 13.277).

Такие различия в генетическом разнообразии объясняются доминированием рекомбинантных форм ВИЧ-1 в Калининградской области, в то время как в Архангельской и Ленинградской областях они были встречены в единичных случаях. Одновременно с этим разнообразие чистых субтипов ВИЧ-1 соотносится с описанным в литературе [60], среди них так же наблюдается преобладание субтипа А, преимущественно субсубтипа А6.

Факт того, что в регионе преобладают варианты вируса, представляющие собой рекомбинант между CRF03_AB и субтипом А, а также рекомбинантная форма, схожая с CRF03_AB, но имеющая от нее ряд отличий (CRF03_AB-like), соотносится с представлением о том, что при длительной совместной циркуляции в популяции рекомбинантных форм и чистых субтипов вируса будет продолжаться формирование новых, более сложных, рекомбинантных форм с включением все новых и новых фрагментов в геном [174].

Помимо генотипического анализа было проведено исследование встречаемости мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью (ЛУ), в данном регионе. При этом были исследованы как изоляты, полученные от пациентов с неэффективностью АРТ (n=107), так и от пациентов с впервые выявленной инфекцией (n=55). При этом первичная лекарственная устойчивость была выявлена всего в двух случаях (3,64 %; 95 % ДИ 0,44 % – 12,53 %), поэтому дальнейший анализ объединяет всех пациентов с выявленными мутациями ЛУ.

Всего было встречено 80 различных мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью. Из них большая часть – мутации лекарственной устойчивости к ингибиторам обратной транскриптазы: в том числе к НИОТ – 31 замена (38,75 %; 95 % ДИ 28,06 % – 50,30 %) и к ННИОТ – 35 мутаций (43,75 %; 95 % ДИ 32,68 % – 55,30 %) – меньшая доля разнообразия мутаций приходится на замены, ассоциированные с устойчивостью к ИП – 14 (17,50 %; 95 % ДИ 9,91 % – 27,62 %).

У 96 пациентов (59,26 %; 95 % ДИ 51,27 % – 66,90 %) были выявлены изоляты ВИЧ-1 хотя бы с одной мутацией, ассоциированной с устойчивостью к АРП. Наиболее часто встречались мутации ЛУ к ингибиторам обратной транскриптазы. В 13 случаях были встречены мутации устойчивости к НИОТ, в 4 – ННИОТ, в 66 – НИОТ+ННИОТ. Кроме того, у 13 пациентов были встречены мутации устойчивости к ИП: 10 – ИП+НИОТ; 3 – ИП+НИОТ+ННИОТ.

Среди мутаций устойчивости к НИОТ наиболее часто показаны мутации M184V [119] (65,63 %; 95 % ДИ 55,23 % – 75,02 %), L74V [27] (19,79 %; 95 % ДИ 12,36 % – 29,17 %), Y115F [28] (14,58 %; 95 % ДИ 8,21 % – 23,26 %), остальные

замены встречали в 10 % случаев и реже. При анализе множества мутационных профилей путем построения линейных диаграмм можно проследить образующиеся устойчивые паттерны мутаций лекарственной устойчивости. Подробно описанные в литературе сочетания мутаций, ассоциированных с устойчивостью к тимидиновым аналогам (ТАМ), встречены в полученных профилях в единичных случаях, при этом паттерны по пути ТАМ – 1 и ТАМ – 2 встречали с одинаковой частотой. Доминирующими являлись профили, несущие не – ТАМ мутации, при этом обнаружена устойчивая связь замен L74V+Y115F. Данные мутации связаны преимущественно с устойчивостью к Абакавиру и Диданозину, но существуют сведения об их ассоциации с устойчивостью к Тенофовиру [92, 130], который, в свою очередь, входит в большинство современных схем антиретровирусной терапии. Кроме того, во всех случаях данное сочетание встречено вместе с заменой M184V, что, скорее всего, связано с присутствием данной заменой у абсолютного большинства изолятов.

Анализ встречаемости мутаций лекарственной устойчивости к ННИОТ показал, что наиболее распространены замены K103N [120] (36,46 %; 95 % ДИ 26,87 % – 46,91 %), K101E [190] (12,50 %; 95 % ДИ 6,63 % – 20,82 %), G190A [81] (11,46 %; 95 % ДИ 5,86 % – 19,58 %), R225H (15,63 %; 95 % ДИ 9,02 % – 24,46 %), Y18C [66] (12,50 %; 95 % ДИ 6,63 % – 20,82 %); остальные мутации встречали менее чем в 10 % случаев. Изучение профилей мутаций лекарственной устойчивости в полученных изолятах позволило обнаружить связь между заменами K101E+G190A/S, причем данное сочетание встречается преимущественно без наиболее распространенной мутации K103N.

6.2 Корреляция между приверженностью пациентов к АРТ и формированием устойчивых вариантов вируса

Анализ сведений о приверженности к лечению пациентов, обратившихся для диагностики лекарственной устойчивости в связи с неэффективностью АРТ, позволил достоверно выявить связь между приверженностью и наличием лекарственной устойчивости. Наибольшее число пациентов с ЛУ ВИЧ были

выявлены в группе с суб-оптимальным уровнем приверженности, несмотря на то что в целом, среди пациентов с неэффективностью лечения, преобладали те, у кого приверженность оценивалась как низкая. Полученные результаты совпадают с общими представлениями о том, что наибольший риск для формирования лекарственной устойчивости представляет суб-оптимальная приверженность к лечению, так как именно у таких пациентов концентрация АРП недостаточна для подавления вирусной нагрузки, но достаточна для того, чтобы играть роль фактора отбора для вирусных квазивидов, обладающих МЛУ. В случае же низкой приверженности пациента к лечению, концентрация препаратов в крови недостаточна для отбора устойчивых вариантов вируса, поэтому в популяции продолжает преобладать дикий тип ВИЧ-1.

По результатам анализа достоверные различия были обнаружены между группой пациентов со средней приверженностью и двумя другими группами. Достоверных различий между группами пациентов с высокой и низкой приверженностью обнаружено не было. Значимое влияние фактора приверженности на наличие лекарственной устойчивости было обнаружено при сравнении частоты встречаемости ЛУ у в группе пациентов с высокой и низкой приверженностью с группой пациентов со средним уровнем приверженности, причем наиболее достоверные различия и сила связи были обнаружены при сравнении групп пациентов со средним и низким уровнем приверженности.

Оптимальная приверженность АРТ имеет основополагающее значение для достижения подавления вируса ВИЧ и улучшения самочувствия ВИЧ – позитивных пациентов. При самых высоких уровнях приверженности угроза резистентности минимальна, поскольку мутации не могут возникать без репликации. Однако при более низких уровнях приверженности сложное взаимодействие между эффективностью АРП, приспособленностью вируса после мутации, генетическим барьером устойчивости к компонентам АРТ и другими компонентами схемы определяет, будет ли циркулировать резистентный вирус.

Полученные результаты соотносятся с литературными сведениями, демонстрирующими связь между приверженностью и выявлением резистентных

вариантов вируса в плазме крови пациента [113]. Необходимо также учитывать то, что взаимосвязь между приверженностью и лекарственной устойчивостью может различаться в зависимости от класса антиретровирусных препаратов. Это связано с тем, что лекарственные схемы на основе ННИОТ с большей вероятностью вызывают резистентность, чем на основе ИП, из-за ряда факторов. Высокая активность и длительный период полувыведения ННИОТ могут привести к лучшему вирусологическому подавлению при умеренном уровне приверженности, но, как это ни парадоксально, привести к развитию устойчивости к антиретровирусным препаратам во время перерыва в лечении ВААРТ, содержащей НИОТ и ННИОТ, продолжительностью более 48 часов [64]. Во время перерыва в лечении сравнительно короткие периоды полувыведения НИОТ в схеме приводят к длительной монотерапии ННИОТ. Низкий генетический барьер устойчивости к ННИОТ позволяет быстро накапливать резистентный вирус. Кроме того, ННИОТ ингибируют RT аллостерически, связываясь с областью вне активного (связывающего субстрат) сайта. Таким образом, мутации устойчивости к ННИОТ мало влияют на общую функцию RT и, следовательно, мало влияют на приспособленность вируса.

Ингибиторы протеазы и большинство НИОТ требуют множественных мутаций, каждая из которых изменяет функцию фермента и может сделать вирус менее приспособленным к давлению со стороны АРТ [65]. Эти препараты также имеют более быстрый клиренс. Поэтому неудивительно, что устойчивость к ННИОТ наблюдается чаще, чем к ИП или НИОТ.

6.3 Особенности формирования лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью первой линии АРТ

Среди обследованных пациентов значительная часть (20 %) столкнулись с неэффективностью первой линии АРТ, из них 69 (52 %) не достигали вирусологической эффективности вовсе, а 64 (48 %) достигали подавления ВН, но сталкивались с неэффективностью терапии. Почти половина изолятов от пациентов

с неэффективностью первой линии АРТ получена за 2017 и 2018 годы, при этом 58 (84 %) пациентов, не достигавших подавления ВН, прошли лабораторное обследование 2018 году. В 82 % случаев была выявлена хотя бы одна мутация ЛУ (78 % – НИОТ, 68 % ННИОТ, 8 % – ИП). При этом структура мутаций в обозначенных подгруппах пациентов отличается, что позволяет предположить, что мутационный профиль пациентов, обладающих первичной лекарственной устойчивостью, отличается от профиля, приобретенного под давлением АРП на фоне длительной терапии.

Обращают на себя внимание различия во встречаемости МЛУ у пациентов, которые достигали подавления ВН при использовании первой линии терапии и не достигали успеха лечения (рис. 26).

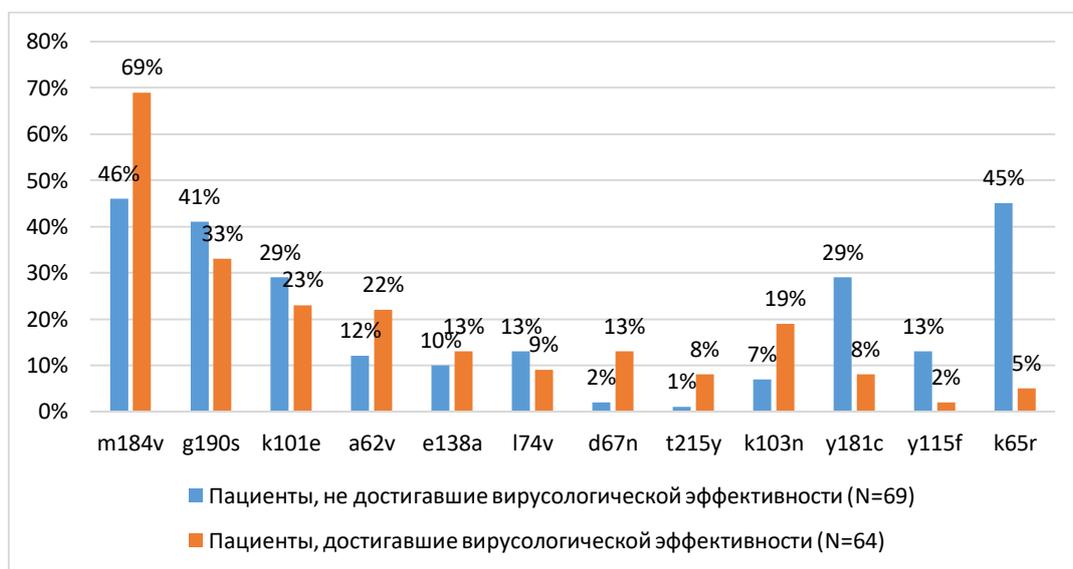


Рисунок 26. Различия во встречаемости МЛУ у пациентов с неэффективностью 1 линии АРТ в зависимости от достижения вирусологического ответа.

У тех пациентов, которые достигали подавления вирусной нагрузки, значительно чаще встречается мутация А62V, которая может быть связана с более высокой изменчивостью гена RT и, как следствие, становится причиной последующего вирусологического прорыва на фоне длительного приема антиретровирусной терапии. Кроме того, в данной группе пациентов сравнительно

высокая встречаемость ТАМ как по пути ТАМ-1, так и по пути ТАМ-2. В свою очередь, среди пациентов, не достигавших подавления ВН, мутации ЛУ к тимидиновым аналогам практически не встречаются, но значительно выше распространенность некоторых мутаций устойчивости к ННИОТ, которые, как известно, проявляются даже при незначительных отклонениях от схемы лечения, а также встречаемость не – ТАМ, что может быть связано с низкой распространенностью азидотимидина в первых линиях лечения.

6.4 Распространенность и молекулярно-генетические особенности устойчивых вариантов вируса среди пациентов без опыта АРТ

Обследование пациентов без опыта АРТ показало значительное увеличение встречаемости первичной лекарственной устойчивости. Вирус от 11 пациентов без опыта АРТ (6 %) обладал мутациями, ассоциированными с устойчивостью к АРП, в то время как более ранние исследования оценивали распространенность первичной ЛУ ВИЧ не выше, чем 2 %. У четырех пациентов были обнаружены мутации устойчивости к тимидиновым аналогам. Мутации, вызывающие резистентность к ННИОТ, наблюдались у 8 человек (5 %). Было обнаружено, что четыре из них содержат мутации, связанные с устойчивостью к рилпивирину и этравирину. Точно так же у четырех субъектов был вирус с резистентностью к этравирину, вызывающий мутации.

В некоторых регионах РФ уровень первичной ЛУ уже превысил 5 %, что свидетельствует о необходимости мониторинга устойчивости ВИЧ-1 к АРВ – препаратам среди наивных пациентов в каждом регионе [29]. Наибольшая распространенность ПЛУ выявлена у пациентов ЦФО (10,3 %), что, скорее всего, объясняется более длительным и широким применением АРТ по сравнению с другими районами. Исследования предыдущих лет исследования показали, что распространенность первичной фармакорезистентности значительно увеличилась за последние несколько лет и уже достигла 6,1 % в 2016 году [30]. Для сравнения, превосходящая распространенность ПЛУ была обнаружена в странах Восточной Европы. В Хорватии несмотря на то, что она является страной с низкой

распространенностью инфекции ВИЧ-1 (<0,04 %), сообщалось о распространенности ПЛУ на уровне 16,4 % [31].

В некоторых странах наблюдался относительно низкий показатель первичной ЛУ, например, 3,6 % в Китае, так как продолжительность доступа к АРТ была намного короче [27]. Однако сравнение показателей передачи лекарственной устойчивости в разных исследованиях не всегда является достоверным, поскольку могут быть различия в методах тестирования на лекарственную устойчивость, различия в подходах к использованию антиретровирусных препаратов на разных территориях, различия в факторах риска заражения ВИЧ.

Тем не менее, в группе пациентов с первичной ЛУ было обнаружено абсолютное преобладание субсубтипа А6, что не позволило в полной мере изучить особенности устойчивых вариантов вируса других субтипов у пациентов без опыта АРТ. Для сравнительного анализа молекулярно-генетических характеристик вируса, принадлежащего к субтипам, редко встречающимся на территории РФ, было проведено исследование штаммов, полученных из Гвинейской Республики.

6.5 Молекулярно-генетические особенности ВИЧ-1 нетипичных для СЗФО субтипов на примере Гвинейской Республики

При лабораторном скрининге на серологические и молекулярно-биологические маркеры ВИЧ-инфекции биоматериала от пациентов из Гвинейской Республики наблюдалось значительное расхождение между лиц, позитивных в ИФА, и тех, у кого обнаруживается РНК вируса. Причем процент людей, вирус у которых выявлен методом ПЦР, соотносится с литературными данными о распространённости ВИЧ-инфекции в Гвинейской Республике [181]. Тем не менее, значительный процент условно – здоровых людей, оказавшихся серопозитивными по ВИЧ, дает основания предположить, что встречаемость ВИЧ может быть выше, чем следует из данных литературы. Однако для подтверждения этого необходимо проведение дополнительных скрининговых исследований с подтверждающим тестом.

Молекулярно-генетическая характеристика штаммов ВИЧ-1, полученных от пациентов из Гвинейской Республики, дала возможность оценить особенности первичной лекарственной устойчивости ВИЧ, относящегося к CRF02_AG, относительно часто встречающегося на территории РФ, но слабо представленного в Северо-Западном федеральном округе.

Генетическое разнообразие ВИЧ в обследованной группе соотносится с тем, что обычно наблюдается в странах Западной Африки – в подавляющем большинстве случаев встречается CRF_02AG. Однако одновременно с ним циркулируют и другие рекомбинантные формы. Особое внимание заслуживают образцы 1170, 2564, 2664, отделившиеся от основной ветви CRF_02AG на филогенетическом древе. Анализ их нуклеотидной последовательности с использованием инструмента субтипирования REGA HIV – 1 показал, что эти образцы являются рекомбинантами генотипов A1 и G, но не принадлежат к CRF02_AG. Интересно, что образец 5721 также является рекомбинантом генотипов A1 и G, но не принадлежит к CRF02_AG, хотя и расположен на ветви CRF02_AG. При этом можно отметить, что образцы 2564, 2664 и 5721 по результатам анализа в REGA HIV – 1 являются также рекомбинантами между известной CRF_02AG и субтипом A1.

Поскольку точное генотипирование крайне важно для исследования образца на наличие устойчивых вариантов ВИЧ, необходимы дополнительные исследования для оценки вклада рекомбинантных форм в генетическое разнообразие вируса в регионе.

Сравнительно высокой оказалась встречаемость мутаций, ассоциированных с устойчивостью ВИЧ к АРП. С учетом увеличивающегося числа пациентов, которые начинают принимать АРТ, высокая встречаемость первичной лекарственной устойчивости может повлечь частые случаи неэффективности терапии и, как следствие, смены схем лечения. Для назначения эффективных схем лечения необходимо внедрение исследований на наличие первичной устойчивости у впервые выявленных пациентов.

Подобная высокая встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у нелеченых инфицированных лиц показана в Сьерра-Леоне, что связывают с перебоями в работе служб по борьбе с ВИЧ во время эпидемии лихорадки Эбола в 2014 – 2016 гг., так как исследование, проводившееся в близком географическом регионе (Либерия) до эпидемии демонстрировало значительно более низкую встречаемость таких случаев [191].

Интересно отметить, что более чем в половине случаев (58,06 %) были встречены замены в двадцатой позиции. Наиболее частая из них – K20I – является полиморфным вариантом для субтипов CRF_02AG и G, однако снижает чувствительность к нелфинавиру у субтипов В и С. Тем не менее, существуют сведения о том, что данная мутация может способствовать усилению репликации вируса у не-В субтипов [116]. Также был обнаружен не полиморфный вариант K20V, который встречается редко, и его влияние на чувствительность ВИЧ к АРП недостаточно изучена. Кроме того, выявлены две мутации в десятой позиции, одна из которых, выявленная в одном случае, – L10LF – является минорной мутацией устойчивости к ИП, а другая, встреченная в 29,03 % случаев, – L10I – увеличивает репликацию вирусов с другими мутациями устойчивости к ИП [101]. Выявлены две редкие мутации: M46del и N88H, в позициях которых встречаются мутации резистентности к ингибиторам протеазы, однако данные варианты среди них не описаны.

Среди мутаций, ассоциированных с устойчивостью ВИЧ к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы, показана относительно редкая непалиморфная мутация V179T, которая иногда проходит отбор у пациентов, получающих ННИОТ. Это связано с минимальным снижением чувствительности к этравирину и рилпивирину [183, 68]. Также был встречен ряд замен в позиции 238: K238T, снижающая восприимчивость к невирапину и эфавирензу примерно в 5 раз; K238R, являющаяся распространенным полиморфизмом, который не снижает чувствительность к ННИОТ [176]; K238E – редкая мутация в данной позиции, эффект которой недостаточно описан в литературе.

6.6 Применение разработанной базы данных в лабораторной практике

Разработанный инструмент обработки и систематизации данных об исследованиях на наличие лекарственной устойчивости у пациентов с ВИЧ-инфекцией был неоднократно применен на практике. База данных была использована для компиляции и обработки результатов, полученных в рамках диссертационного исследования, для образцов, полученных как от пациентов из СЗФО, так и из Гвинеической Республики.

Разработанная БД предназначена, в первую очередь, для использования в ЛПУ, занимающихся исследованиями на наличие лекарственной устойчивости ВИЧ. Основным функциональным назначением базы является упрощение работы на местах: в лабораториях и кабинетах лечащих врачей – путем формирования массива систематизированных данных о проведенных исследованиях. Данный инструмент не является функциональной заменой «Stanford University HIV drug resistance database» (США, Стэнфордский университет), или же аналогичной Российской базы, служащих для обработки результатов секвенирования, генотипирования и виртуального фенотипирования. База, разработанная в рамках диссертационного исследования, предназначена исключительно для работы с уже проведенными исследованиями.

Другим применением БД является выгрузка из нее сведений об изолятах ВИЧ, циркулирующих на разных территориях, вместе с информацией о месте и времени выявления изолята. Получаемая в результате этого таблица в формате Excel может быть использована в качестве набора референсных последовательностей для молекулярно-эпидемиологических исследований, эпидемиологических расследований, а также служить базой для статистической обработки данных.

Заключение

Среди субтипов ВИЧ-1 в Северо-Западном федеральном округе доминируют субтип А, субсубтип А6 (72 %) и рекомбинантные формы между субтипами А и В (23 %), в том числе CRF03_AB (13 %). Таким образом, генетическая гетерогенность вируса в исследуемом регионе, в целом, схожа с разнообразием на территории России.

Основным отличием генетической структуры вирусной популяции в СЗФО является высокая встречаемость рекомбинантных форм вируса, преимущественно между субтипами А и В. Почти четверть исследованных изолятов принадлежат к данной группе, при этом более девяноста процентов всех рекомбинантных форм выявлены в Калининградской области. Основной вклад в разнообразие рекомбинантов в данном регионе вносит циркуляция большого числа уникальных рекомбинантных форм, образованных в результате рекомбинации наиболее распространенных на исследуемой территории вариантов ВИЧ-1: субсубтипа А6 и субтипа В (48 %).

Проведенное генотипирование показало недостаточность существующих средств типирования ВИЧ для выявления субсубтипа А6. Очевидна необходимость совершенствования подходов к рекомбинантному анализу генетической последовательности вируса.

Варианты вируса, обладающие лекарственной устойчивостью, выявляются у 84 % пациентов с неэффективностью АРТ. Более 60 % случаев ЛУ составляет резистентность к нуклеозидным и нуклеотидным ингибиторам обратной транскриптазы, при этом устойчивость только к ННИОТ встречается в 1 % случаев, а устойчивость только к НИОТ – в 4 % случаев. Относительно редко встречаются мутации лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы: в 4 % случаев только к данному классу препаратов и в 15 % случаев – совместно с устойчивостью к другим классам АРП. В 4 % случаев отмечена устойчивость сразу к трем классам препаратов.

За период исследования в СЗФО произошло значимое увеличение встречаемости первичной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам до

значений, необходимых для исследования всех выявленных случаев на наличие фармакорезистентности вируса перед началом лечения (6 %). Наиболее характерными являются мутации устойчивости к ННИОТ, в единичных случаях встречается множественная лекарственная устойчивость, в том числе, к аналогам тимидина. Вследствие этого, на территории СЗФО за 2017 и 2018 годы произошло значимое увеличение доли случаев неэффективности первой линии АРТ (с 11 % до 32 %), кроме того, именно на 2017 и 2018 год пришлось 84 % пациентов, не достигавших подавления вирусной нагрузки на первой линии АРТ.

В связи с увеличением числа случаев первичной лекарственной устойчивости, все более актуальным становится использование средств для оптимизации работ, связанных с диагностикой ЛУ ВИЧ. Использование разработанного программного обеспечения (базы данных) позволит оптимизировать работу с массивом данных о пациентах, прошедших обследование на наличие резистентных вариантов ВИЧ. Формирующаяся в результате заполнения БД итоговая таблица позволяет изучить генетическую вариабельность ВИЧ в отдельных регионах, а также изменение генетического разнообразия вируса с течением времени.

Полученные результаты свидетельствуют о валидности используемых методов выявления мутаций лекарственной устойчивости, позволяющих определять не только мутационные замены, характерные для территории Российской Федерации и распространенных геновариантов вируса, но и выявлять нетипичные для СЗФО мутации в субтипах ВИЧ, редко встречающихся и не встречающихся на территории РФ.

Молекулярно-генетическая характеристика штаммов ВИЧ-1, полученных от пациентов из Гвинейской Республики, дала возможность оценить особенности первичной лекарственной устойчивости ВИЧ, относящегося к CRF02_AG, относительно часто встречающегося на территории РФ, но слабо представленного в Северо-Западном федеральном округе.

Генетическое разнообразие ВИЧ, выявленное в Гвинее, соотносится с тем, что обычно наблюдается в странах Западной Африки – в подавляющем большинстве случаев встречается CRF_02AG.

Высокая встречаемость первичной лекарственной устойчивости, обнаруженная в Гвинейской Республике, может повлечь частые случаи неэффективности терапии и, как следствие, смены схем лечения. Интересно отметить, что более чем в половине случаев (58,06 %) были встречены замены в двадцатой позиции. Среди мутаций, ассоциированных с устойчивостью ВИЧ к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы, показана относительно редкая неполиморфная мутация V179T, которая иногда проходит отбор у пациентов, получающих ННИОТ.

Сравнительно высокой оказалась встречаемость мутаций, ассоциированных с устойчивостью ВИЧ к АРП в Северо-Западном федеральном округе. С учетом увеличивающегося числа пациентов, которые начинают принимать АРТ, высокая встречаемость первичной лекарственной устойчивости может повлечь частые случаи неэффективности терапии и, как следствие, смены схем лечения. Для назначения эффективных схем лечения необходимо внедрение исследований на наличие первичной устойчивости у впервые выявленных пациентов.

Выводы

1. Изучена структура мутаций, ассоциированных с ЛУ ВИЧ у пациентов с неэффективностью АРТ в СЗФО. В подавляющем большинстве исследованных изолятов (61 %) встречались мутации ЛУ к препаратам классов НИОТ+ННИОТ, мутации, ассоциированные с устойчивостью к ингибиторам протеазы встречены лишь в 6 % случаев. В 4 % случаев встречены МЛУ сразу к трем классам препаратов. Наиболее часто встречающимися мутациями лекарственной устойчивости к НИОТ являлись: M184V – 57,4 %; L74V – 14,1 %; K65R – 13,3 %; к ННИОТ – G190S – 26,6 %; K103N – 19,8 %; K101E – 19,3 %.

2. В результате изучения структуры и разнообразия МЛУ ВИЧ у пациентов без опыта терапии отмечается тенденция увеличения встречаемости первичной ЛУ ВИЧ. Высокая распространенность передающейся лекарственной устойчивости указывает на необходимость проведения исследования на наличие устойчивых вариантов ВИЧ до начала терапии. Сравнительный анализ результатов исследования на наличие лекарственной устойчивости у пациентов из Гвинейской Республики без опыта АРТ указывает на преобладание роли передающейся лекарственной устойчивости в формировании группы пациентов с первичной ЛУ ВИЧ.

3. Основным фактором, влияющим на формирование мутационного профиля у пациентов с неэффективностью АРТ являются препараты последней использовавшейся схемы АРТ, однако значительное влияние на формирование мутаций оказывает субтип вируса, в связи с наличием у некоторых субтипов и рекомбинантных форм часто встречающихся полиморфных мутаций, влияющих на устойчивость вируса к АРП.

4. На протяжении всех лет проведения исследования преобладали мутации лекарственной устойчивости к НИОТ к ННИОТ. Наиболее распространенными мутациями являлись M184V, G180S, K103N. Тем не менее, за изученный период встречаемость мутаций ЛУ к ингибиторам протеазы и аналогам тимидина сократилась 2 и 1,5 раза соответственно.

5. Зарегистрированная для применения на территории Российской Федерации отечественная тест-система для диагностики ЛУ ВИЧ валидна при выявлении

мутаций лекарственной устойчивости к АРП на территориях с высокой генетической гетерогенностью вируса, в том числе для субтипов, редко встречающихся или не встречающихся на территории РФ, и позволила установить распространенность первичной лекарственной устойчивости ВИЧ в Гвинейской республике.

6. Разработанная база данных результатов лабораторных исследований успешно применена в работе лаборатории база данных пациентов с неэффективностью АРТ. БД позволила систематизировать имеющиеся сведения о пациентах, обращавшихся для диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ, и повысить эффективность обработки и анализа массива данных.

Практические рекомендации

1. Лечащим врачам, врачам инфекционистам рекомендуется обследовать на наличие фармакорезистентных вариантов вируса всех пациентов с неэффективностью АРТ, особое внимание необходимо уделить пациентам с субоптимальным уровнем приверженности.

2. Лечащим врачам, врачам – инфекционистам рекомендуется назначать исследование на наличие у пациента вариантов ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью, перед назначением АРТ.

3. Специалистам КДЛ, лечащим врачам, врачам – инфекционистам рекомендуется использовать современное программное обеспечение для оптимизации работы с данными об изолятах ВИЧ, обладающих лекарственной устойчивостью.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Полученные данные дополняют сведения о генетическом разнообразии ВИЧ в России и мире и позволяют оценить частоту встречаемости лекарственной устойчивости вируса на территориях с разной генетической структурой вирусной популяции. Разработанная база данных позволяет усовершенствовать алгоритмы диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ.

Дальнейшее совершенствование инструментов для хранения и обработки массивов данных о пациентах с неэффективной АРТ даст возможность оптимизировать назначение схем АРТ с учетом предшествующего опыта лечения у пациента, что позволит снизить частоту образования мутаций ЛУ.

Список используемых сокращений

- CD — кластер дифференциации лейкоцитов (cluster designation);
- CRF — циркулирующая рекомбинантная форма (Circulating Recombinant Form);
- CXCR4 – C – X – C рецептор хемокина 4 – го типа (CXC chemokine receptor type 4);
- CCR5 – C – C рецептор хемокина 5 – го типа (C – C chemokine receptor type 5);
- CRF – циркулирующая рекомбинантная форма (circulating recombinant form)
- Env – оболочка (envelope);
- Gag – группоспецифический антиген (group specific antigen);
- GenBank Accession Numbers – номера доступа к базе GenBank
- Pol – полимеразы (polymerase).
- SIV — вирус иммунодефицита обезьян (Simian Immunodeficiency Virus);
- TAM – мутация устойчивости к аналогам тимидина (Thymidine analog mutation);
- URF — уникальная рекомбинантная форма (unique recombinant form);
- АРТ — антиретровирусная терапия;
- АРП – антиретровирусный препарат
- ВИЧ — вирус иммунодефицита человека;
- ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения;
- ВП — вирусная протеаза;
- ВН – вирусная нагрузка
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота;
- ИН — интегразы;
- ИП — ингибиторы протеазы;
- КСР — работники коммерческого секса;
- ЛЖВ — люди, живущие с ВИЧ;
- ЛУ – лекарственная устойчивость
- МЛУ – мутации лекарственной устойчивости

МСМ — мужчины, имеющие секс с мужчинами;

НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы;

ННИОТ — ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы;

ОТ — обратная транскриптаза;

ПИН — потребители инъекционных наркотиков;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

РНК – рибонуклеиновая кислота;

Список литературы

1. *Бартлетт, Д.* Клинические аспекты ВИЧ-инфекции / Д. Бартлетт, Д. Талант, П. Фам. – М.: Р. Валент, 2012. – 528 с.
2. *Беляков, Н. А.* Эпидемия ВИЧ-инфекции / Н.А. Беляков, Г.В. Волкова, С.И. Дворак, В.Е. Жолобов // Вирус иммунодефицита человека – медицина. Под ред. Н.А. Белякова и А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. – С. 573 – 592.
3. *Беляков, Н.А.* Фармакоэкономический анализ высокоактивной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции. Цена фармакорезистентности / Н.А. Беляков, Н.В. Сизова, С.Э. Торопов, Н.Г. Захарова, В.В. Рассохин, Е.В. Степанова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2010. – Т. 2. – № 4. – С. 7 – 17.
4. *Беляков, Н. А.* Моделирование и общие закономерности циркуляции субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ / Н.А. Беляков, В. В. Розенталь, Н.Е. Дементьева, Т.Н. Виноградова, Н.В. Сизова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2012. – № 2, – Т. 4. – С. 7 – 18.
5. *Беляков, Н. А.* Формирование приверженности к лечению у больных с ВИЧ-инфекцией / Н.А. Беляков, О С. Левина, В.Ю. Рыбников // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2013. – Т. 5. – № 1. – С. 7 – 33.
6. *Бобкова, М.Р.* Иммунитет и ВИЧ-инфекция /М.Р. Бобкова. – Олимпия Пресс, 2006. – 240 с.
7. *Бобкова, М.Р.* Лекарственная устойчивость ВИЧ / М.Р. Бобкова // – М.: Человек, 2014. – 288 с.
8. *Бобкова, М.Р.* Лекарственная устойчивость к ингибиторам интегразы ВИЧ (часть 2) // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – СПб., 2011. – Т. 3. – № 3. – С. 13 – 23.
9. *Бобкова, М.Р.* Биология ВИЧ / М.Р. Бобкова // Вирус иммунодефицита человека – медицина. Под ред. Н.А. Белякова и А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. – С. 17 – 70.

10. *Бурбелло, А.Т.* Неблагоприятные побочные реакции лекарственных средств: пособие для врачей / Бурбелло А.Т. (ред.), 2 – е изд., перераб. и доп. – СПб.: Стикс, 2009. – С. 8 – 9.
11. *Вазкез, де Парга Е.* Анализ мутаций, связанных с лекарственной резистентностью, у не леченных пациентов, зараженных различными генетическими формами ВИЧ 1 типа, распространенными в странах бывшего Советского Союза / Е. Вазкез де Парга, А.Г. Рахманова, Л. Перез Альварез // ВИЧ – инфекция и иммуносупрессии. – 2009. – Т. 1. – № 2. – С. 50 – 56.
12. Вирус иммунодефицита человека – медицина. Руководство для врачей / Под ред. А.Г. Рахмановой и Н.А. Беякова. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. – 752 с.
13. *Дементьева, Н.Е.* Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции в Санкт-Петербурге / Н.Е. Дементьева, Н.В. Сизова, З.Н. Лисицина, Н.А. Беяков // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т. 12. – №2. – С. 97 – 104.
14. *Дементьева, Н.Е.* Этапы лабораторной диагностики и организации мониторинга ВИЧ-инфекции / Н.Е. Дементьева, Л.И. Крутицкая, З.Н. Лисицина // Вирус иммунодефицита человека – медицина. Под ред. Н.А. Беякова и А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. – С. 489 – 522.
15. *Дементьева, Н.Е.* Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга / Н.Е. Дементьева, Н.В. Сизова, З.Н. Лисицина и др. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – СПб., 2011. – Т. 3. – № 4. – С. 34 – 43.
16. Женщина, ребенок и ВИЧ / Под общ. ред. Н.А. Беякова, Н.Ю. Рахманиной, А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. – 600 с.
17. *Ингабире, Т.* Первичная лекарственная устойчивость среди впервые выявленных пациентов с ВИЧ-1 в Санкт-Петербурге. / Т. Ингабире, А.В. Семенов, Е.В. Есауленко, Е.В. Зуева, А.Н. Щемелев, А.Д. Бушманова // ВИЧ-инфекция и

иммуносупрессии. 2021;13(1):70 – 79. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-1-70-79>

18. Информационный бюллетень №44 Федерального бюджетного учреждения науки Центральный научно – исследовательский институт эпидемиологии, Федерального научно – методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом, г. Москва. 2019 г.

19. Информационный бюллетень центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Государственного автономного учреждения здравоохранения Архангельской области «Архангельский клинический кожно-венерологический диспансер» г. Архангельск. 2018. Попова Е.С., Сорокина Т.А. №1(38). Режим доступа: 16.08.2019 http://www.kotlasgb.ru/news/1331/?sphrase_id=951

20. *Казеннова, Е.В.* Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в северных портовых городах России / Е.В. Казеннова, В.Ю. Лага, К.Б. Громов, М.Н. Санков, Е.С. Попова, Е.Г. Игумнова, Е.Н. Опарина, Т.А. Сорокина, М.Р. Бобкова // Вопросы вирусологии. 2017. 62. № 4. – С. 154 – 161.

21. *Казеннова, Е.В.* Проблемы субтипирования ВИЧ-1 на основе анализа гена *pol* и способы их разрешения. / Е.В.Казеннова, А.В. Лаповок, А.В. Васильев // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2010. Т. 2. № 3. С. 42–48.

22. *Калинина, Н.М.* Иммунология ВИЧ-инфекции / Н.М. Калинина, С.А. Кетлинский // Иммунодефицитные состояния / Под ред. В.С. Смирнова, И.С. Фрейдлин. – СПб.: Фолиант, 2000. – С. 411 – 445.

23. *Калинина, Н.М.* Новое в патогенезе ВИЧ-инфекции / Н.М. Калинина, А.Г. Рахманова // «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции»: материалы конф. – СПб.:ССЗ, 1997. – С. 30 – 33.

24. *Кириченко, А.А.* Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в России (2013–2021 гг.) / А.А. Кириченко, Д.Е. Киреев, А.В. Шлыкова, А.Э. Лопатухин, И.А. Лаповок, Д.В. Салеева, А.В. Кравченко, В.В. Покровский // Эпидемиол. инфекц. болезни. Актуал. вопр. – 2021 – №11(3) – С. 53–62 – DOI: 10.18565/epidem.2021.11.3.53–62

25. *Кольцова, О.В.* Повышение приверженности к ВААРТ у ВИЧ-инфицированных женщин и детей с учетом социальных и психологических факторов. Новые подходы / О.В. Кольцова, П.В. Сафонова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2012. – Т. 4. – № 1. – С. 69 – 76.
26. *Котова, В.О.* Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в регионах Дальневосточного федерального округа. / В.О. Котова, Л.А. Балахонцева, О.Е. Троценко // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2016; 8(3) – С.53 – 58. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2016-8-3-53-58>
27. Клинические рекомендации «ВИЧ-инфекция у взрослых». Министерство здравоохранения РФ. — 2020 г. — доступно по адресу — <http://rushiv.ru/wpcontent/uploads/2019/03/kr79.pdf>
28. Клинические рекомендации «Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ» – Москва – 2017 – 28 стр. – doi: <https://doi.org/10.17116/labs201763217-237>
29. *Кравченко, А.В.* Антиретровирусная терапия инфицированных взрослых / А.В. Кравченко // Медицинская кафедра. – 2002. – № 4. – С. 20 – 31.
30. *Кравченко, А.В.* Высокоактивная антиретровирусная терапия у больных ВИЧ-инфекцией с множественной резистентностью ВИЧ к антиретровирусным препаратам / А.В. Кравченко, Е.Л. Голохвастова, Л.Ю. Волова, Б.Н. Виноградова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 3. – С. 51 – 54.
31. *Кравченко, А.В.* Монотерапия – возможность упрощения режима антиретровирусной терапии / А.В. Кравченко, У.А. Куимова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 5. – С. 48 – 50.
32. *Кравченко, А.В.* Факторы, определяющие эффективность высокоактивной антиретровирусной терапии у больных ВИЧ-инфекцией / А.В. Кравченко, В. В. Беляева, Ю.Р. Ситдыкова, Е.В. Богославская // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2005. – № 5. – С. 53 – 58.
33. *Кравченко, А.В.* Современные схемы антиретровирусной терапии / А.В. Кравченко // Медицинский совет. 2016. №17. с. 84 – 89.

34. *Лаповок, И.А.* Исследование частоты встречаемости двойной ВИЧ-инфекции в России / И.А. Лаповок, Д.В. Салеева, А.А. Кириченко, А.В. Мурзакова, А.Э. Лопатухин, Д.Е. Киреев // *Инфекционные болезни.* 2020; 18(4) – С. 138–148. DOI: 10.20953/1729 – 9225 – 2020 – 4 – 138 – 148

35. *Лаповок, И.А.* Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987 – 2015 гг. / И.А. Лаповок, А.Э. Лопатухин, Д.Е. Киреев, Е.В. Казеннова, А.В. Лебедев, М.Р. Бобкова, А.Н. Коломеец, Г.И. Турбина, Г.А. Шипулин, Н.Н. Ладная, В.В. Покровский // *Терапевтический архив.* 2017. 89(11). С.44 – 49.

36. *Лебедева, Н.Н.* Индикаторы раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ и их оценка в некоторых регионах России. / Н.Н. Лебедева, С.Я. Зверев, В.В. Кулагин, Н.В. Курина, А.Ю. Пронин, О.Е. Микова, И.И. Милованова, Н.И. Половица, Т.П. Сандырева, Н.В. Сизова, Л.Ф. Скляр, Ю.Н. Тертышная, Н.С. Белкина, А.Б. Шемшура, М.Р. Бобкова // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2018; 10(4):67 – 75. <https://doi.org/10.22328/2077 – 9828 – 2018 – 10 – 4 – 67 – 75>

37. *Леви, Д.Э.* ВИЧ и патогенез СПИДа / Д.Э. Леви / Под ред. Г.А. Игнатъевой. – М.: Научный мир, 2010. – 734 с.

38. Лечение и помощь при ВИЧ/СПИДе (Клинические протоколы для Европейского региона ВОЗ) / Под ред. И. Ерамовой и др. // Женева, ВОЗ. – 2007. – С. 525.

39. *Мазус, А.И.* Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых. – М., 2013. – 68 с.

40. О неотложных мерах по противодействию распространения ВИЧ – инфекции в Российской Федерации / Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.03.2012 № 23584 // Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [электронные ресурсы] // <http://rospotrebnadzor.ru>

41. О предупреждении распространения в РФ заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции) / Федеральный закон РФ от 30.03.1995 № 38 – ФЗ // Сборник нормативных актов и методических документов

Российской Федерации и Санкт-Петербурга по профилактике СПИДа. – 2 – е изд., доп. – СПб.: Изд – во НИИХ СПбГУ, 2007. – С. 8 – 10.

42. Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) / Приказ Минздравсоцразвития РФ № 612 от 17.08.2006 // Сборник нормативных актов и методических документов Российской Федерации и Санкт-Петербурга по профилактике СПИДа. – 2 – е изд., доп. – СПб.: Изд – во НИИХ СПбГУ, 2007. – С. 157 – 164.

43. *Пасечник, О.А.* Распространенность рекомбинантных форм ВИЧ-1 в регионах Российской Федерации и стран СНГ: систематический обзор и метаанализ / О.А. Пасечник, А.И. Блох // *Инфекция и иммунитет*. 2018. Т. 8, № 2. С. 127–138. doi: 10.15789/2220 – 7619 – 2018 – 2 – 127 – 138.

44. *Покровский, В.В.* ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / Под ред. акад. РАМН В.В. Покровского. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. – 608 с.

45. *Покровский, В.В.* ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В.В. Покровский, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, О.Г. Юрин / Под общ. ред. В.В. Покровского. – 2 – е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР – МЕДИА, 2003. – 485 с.

46. *Покровский, В.В.* Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией. Национальное общество инфекционистов / В.В. Покровский, О.Г. Юрин, А.В. Кравченко и др. // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2012; – № 6, приложение – 48 с.

47. *Покровский, В.В.* Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией. Национальное общество инфекционистов / В.В. Покровский, О.Г. Юрин, А.В. Кравченко и др. // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2012; – № 6, приложение – 48 с.

48. Постановление Правительства РФ от 1 декабря 2004 г. N 715

49. *Рахманина, Н.Ю.* Терапевтический мониторинг действия антиретровирусных препаратов при лечении ВИЧ-инфекции / Н.Ю. Рахманина, Ч. Ла Порте // *Женщина, ребенок и ВИЧ*. Под редакцией Н.А. Белякова, Н.Ю. Рахманиной,

А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. – С. 462 – 484.

50. *Рахманина, Н.Ю.* Фармакогеномные аспекты высокоактивной антиретровирусной терапии / Н.Ю. Рахманина, Дж. Ван Ден Анкер // Женщина, ребенок и ВИЧ. Под ред. Н.А. Белякова, Н.Ю. Рахманиной, А.Г. Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. – С. 485 – 500.

51. *Рахманова, А.Г.* Антиретровирусная терапия ВИЧ-инфекции в Санкт-Петербурге и перспективы ее совершенствования / А.Г. Рахманова, Н.Г. Захарова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2011. – Т. 3 – № 4. – С. 44 – 50.

52. *Рахманова, А.Г.* ВИЧ-инфекция / А.Г. Рахманова, Е.Н. Виноградова, Е.Е. Воронин, А.А. Яковлев. – СПб., 2004. – 696 с.

53. *Рахманова, А.Г.* Основы антиретровирусной терапии: руководство / А.Г. Рахманова, Ю.Б. Белоусов, К.Г. Гуревич и др. – М.: МГСУ, 2006. – 138 с.

54. *Самарина, А.В.* Эффективность химиопрофилактики и исследование фармакорезистентности ВИЧ у инфицированных беременных женщин / А.В. Самарина, М.М. Мартиросян, Н.В. Сизова, Н.Е. Дементьева, Н.А. Беляков // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2012. – Т. 4. – № 3. – С. 28 – 34.

55. *Сизова, Н.В.* Назначение антиретровирусной терапии женщинам в различные периоды жизни / Н.В. Сизова, А.В. Самарина, Г.А. Ефимов // ВИЧ – инфекция и иммуносупрессии. – 2013.—№3. – Т. 5. – С. 34 – 41.

56. *Сизова, Н.В.* Особенности антиретровирусной терапии и эволюция лекарственной устойчивости ВИЧ у больных в условиях мегаполиса: дисс. докт. мед. наук 16.12.14/ Сизова Наталия Владимировна. – СПб., 2014. – 318 с.

57. *Софронов, А.Г.* Распространенность социально – значимых инфекционных заболеваний у трудовых мигрантов в Санкт-Петербурге / А.Г. Софронов, А.Е. Добровольская, В.Э. Пашковский, В.П. Чащин, М.В. Чащин, Л.П. Зуева, Б.И. Асланов, А.Е. Гончаров // Медицинский Академический Журнал. 2014. 14(4). с.79 – 83.

58. Справка. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2021 г. Федеральный центр по борьбе со СПИД. [http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2022/03/Spravka – VICH – v – Rossii – na – 31.12.2021 – g..pdf](http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2022/03/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2021-g..pdf)
59. Указ Президента Российской Федерации от 06.06.2019 г. № 254
60. Федеральный центр по борьбе со СПИД. Российская база данных, ЛУ ВИЧ у наивных пациентов, 2020 г. URL: [http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2020/12/2020 – Rossijskaya – baza – dannyh – LU – VICH – u – naivnyh – patsientov.pdf](http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2020/12/2020-Rossijskaya-baza-dannyh-LU-VICH-u-naivnyh-patsientov.pdf)
61. *Хоффман, К.* Лечение ВИЧ-инфекции / К. Хоффман, Ю.К. Рокштро (ред.). – М.: Р. Валент, 2012. – 736 с.
62. *Abecasis, A.B.* Comparative performance of the REGA sub typing tool version 2 versus version 1 / A.B. Abecasis, Y. Wang, P. Libin et al. // *Infect. Genet. Evol.* – 2010. – Vol. 33. – P. 380 – 385.
63. *Agwu, A.* Substantial multi-class transmitted drug resistance and drug-relevant polymorphisms among treatment-naïve youth: a multicenter adolescent medicine trials network for HIV/AIDS interventions (ATN) study / A. Agwu, J. Bethel, L. Weidman et al. // 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention – Roma, 2011 – Abstract MOPE238. URL: <http://pag.ias2011.org/Abstracts.aspx?AID=2979>
64. *Aibekova, L.* Molecular epidemiology of HIV – 1 subtype A in former Soviet Union countries / L. Aibekova, B. Foley, G. Hortelano, M. Raees, S. Abdramimov, R. Toichuev, S. Ali // *PLoS One*. 2018. 13(2). e0191891.
65. *Alexaki, A.* Cellular Reservoirs of HIV 1 and their Role in Viral persistence / A. Alexaki, Y. Liu, B. Wigdahl // *Curr. HIV Res.* – 2008. – Vol. 6. – N 5. – P. 388 – 400.
66. *Archer, R.H.* The Y181C mutant of HIV – 1 reverse transcriptase resistant to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors alters the size distribution of RNase H cleavages / R.H. Archer, M. Wisniewski, R.A. Bambara, L.M. Demeter // *Biochemistry*. 2001 Apr 3; 40(13) – P. 4087 – 4095. doi: 10.1021/bi002328a. PMID: 11300789.
67. *Bangsberg, D.R.* Adherence to protease inhibitors, HIV-1 viral load, and development of drug resistance in an indigent population / D.R. Bangsberg, F.M. Hecht, E.D. Charlebois et al. // *AIDS*. – 2000. – Vol. 14. – P. 357 – 366.

68. *Barnard, J.* Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Hypersusceptibility and Resistance by Mutation of Residue 181 in HIV – 1 Reverse Transcriptase / J. Barnard, K. Huber, N. Sluis – Cremer. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Jul 2019, 63 (8); DOI:10.1128/AAC.00676 – 19
69. *Barrios, A.* Predictors of virological response to atazanavir in protease inhibitor – experienced patients / A. Barrios, A.L. Rendon, O. Gallego et al. // *HIV Clin Trials*. – 2004. – N 5. – P. 201 – 205.
70. *Bartlett, J.A.* Minimizing resistance consequences after virologic failure on initial combination therapy: a systematic overview / J.A. Bartlett et al. // *J. Acquir Immune Defic. Syndr.* – 2006. – N 41. – P. 322 – 331.
71. *Beck, E. J. (Editor)* The HIV pandemic: Local and global implications / E.J. Beck, N. Mays, A.W. Whiteside, J.M. Zuniga (*Editors*). – Oxford – New York: Oxford University Press, 2006. – 799 c.
72. *Beerenwinkel, N.* Estimating HIV evolutionary pathways and the genetic barrier to drug resistance / N. Beerenwinkel, M. Daumer, T. Sing et al. // *J. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 191. – P. 1953 – 1960.
73. *Bennett, D.E.* Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV1 Drug Resistance: 2009 Update / D.E. Bennett, R.J. Camacho, D. Otelea et al. // *PLoS ONE*. – 2009. – Vol. 4 (3). – P. 4724.
74. *Bennett, D.E.* Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment / D.E. Bennett, M. Myatt, S. Bertagnolio et al. // *Antivir. Ther.* – 2008. – Vol. 13; Suppl. 2. – P. 25 – 36.
75. *Bennett, D.E.* Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment / D.E. Bennett, M. Myatt, S. Bertagnolio et al. // *Antivir. Ther.* – 2008. – Vol. 13; Suppl. 2. – P. 25 – 36.
76. *Bentwich, Z.* Concurrent infections that rise the HIV viral load / Z. Bentwich // *J. HIV Ther.* – 2003. – Vol. 8. – P. 72 – 75.
77. *Boasso, A.* Chronic innate immune activation as a cause of HIV – 1 immunopathogenesis / A. Boasso, G.M. Shearer // *Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 126. – № 3. – P. 235 – 242.

78. *Bobkov, A.F.* Temporal Trends in the HIVI Epidemic in Russia: Predominance of Subtype A / A.F. Bobkov et al. // *J. Med. Virol.* – 2004. – Vol. 74. – P. 191 – 196.
79. *Boden, D.* HIV – 1 drug resistance in newly infected individuals / D. Boden, A. Hurley, L. Zhang et al. // *JAMA.* – 1999. – N 282. – P. 1135 – 1141.
80. *Braithwaite, R.S.* Estimating the rate of accumulating drug resistance mutations in the HIV genome / R.S. Braithwaite, S. Shechter, C.C. Chang et al. // *Value Health.* – 2007. – N 10. – P. 204 – 213.
81. *Brenner, B.G.* Selective acquisition of G190S in HIV – 1 subtype A from Russia leading to efavirenz and nevirapine treatment failure/ B.G. Brenner // *AIDS.* 2014 Nov 13; 28(17) P. 2619 – 2621. doi: 10.1097/QAD.0000000000000404. PMID: 25574962.
82. *Buchbinder, S.P.* Long – term HIV – 1 infection without immunologic progression / S.P. Buchbinder, M.H. Katz, H.A. Hessel et al. // *AIDS.* – 1994. – Vol. 8. – P. 1123 – 1128.
83. *Bushman, F.D. (Editor)* HIV: From biology to prevention and treatment / F.D. Bushman, G.J. Nabel, R. Swanstrom (*Editors*) // Cold Spring Harbor, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 2012. – 572 c.
84. *Campbell, T.B.* Aitiviral activity of lamivudine in salvage therapy for multidrug – resistant HIV – 1 infection /T.B. Campbell, N.S. Shulman, S.C. Johnson et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2005. – N 143. – P. 714 – 721.
85. *Clifford, D.B.* Impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms of HIV – infected individuals / D.B. Clifford, S. Evans, Y. Yang et al. // *Ann. Intern. Med.* – 2005. – N 143. – P. 714 – 721.
86. *Clotet, B.* Clinical management of treatment – experienced, HIV infected patients with the fusion inhibitor enfuvirtide: consensus recommendations / B. Clotet, F. Raffi, D. Cooper et al. // *AIDS.* – 2004. – Vol. 18. – P. 1137 – 1146.
87. *Coffin, JM.* HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy / J.M. Coffin // *Science.* – 1995. – Vol. 267. – P. 483 – 489.

88. *Connors, M.* HIV infection induces changes in CD4+ T – cell phenotype and depletions within the CD4+ T – cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune – based therapies / M. Connors, J.A. Kovacs, S. Krevat et al. // *Nat. Med.* – 1997. – Vol. 5. – P. 533 – 540.
89. *Davis, C.W.* HIV Transmission: closing all the doors / C.W. Davis, R.V Doms // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 199. – № 8. – P. 1037 – 1040.
90. *De Jesus, E.* Abacavir versus zidovudine combined with lamivudine and efavirenz, for the treatment of antiretroviral – naive HIV – infected adults / E. De Jesus, G. Herrera, E. Teofilo et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 39. – P. 1038 – 1046.
91. *De Lazzari, E.* Hepatotoxicity of nevirapine in virologically suppressed patients according to gender and CD4 cell counts / E. De Lazzari, A. Leyn, J. A. Arnaiz et al. // *HIV Med.* – 2008. – N 9. – P. 221 – 226.
92. *De Luca, A.* Improved interpretation of genotypic changes in the HIV – 1 reverse transcriptase coding region that determine the virological response to didanosine / A. De Luca, S.D. Giambenedetto, M.P. Trotta, M. Colafigli, M. Prosperi, L. Ruiz, J. Baxter, P. Clevenbergh, R. Cauda, C.F. Perno, A. Antinori // *J Infect Dis.* 2007 Dec 1;196(11) – P. 1645 – 53.
93. *de Oliveira, T.* An Automated Genotyping System for Analysis of HIV – 1 and other Microbial Sequences. / T de Oliveira, K Deforche, S Cassol, M Salminem, D Paraskevis, C Seebregts, J van Rensburg EJ Snoeck, AMJ Wensing, DA van de Vijver, CA Boucher, R Camacho, A – M Vandamme. // *Bioinformatics* 2005; 21 (19), – P. 3797 – 3800.
94. *Deeks, S.G.* Interruption of treatment with individual therapeutic drug classes in adults with multidrug – resistant HIV – 1 infection / S.G. Deeks, R. Hoh, T.B. Neilands et al. // *J. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 192. – P. 1537 – 1544.
95. *Diouara, A.A.* Antiretroviral treatment outcome in HIV – 1 – infected patients routinely followed up in capital cities and remote areas of Senegal, Mali and Guinea – Conakry. / A.A. Diouara, H.D. Ndiaye, I. Guindo, N. Bangoura, M. Cissé, T. Edmond, F. Bougoudogo, S. Mboup, M. Peeters, A. Ayouba, N. C. Kane // *J.Int.AIDS.Soc.* – 2014 Dec. – Vol. – 18;17(1) – N19315. – doi: 10.7448/IAS.17.1.19315.

96. *Edward, M.* Antiretroviral medication adherence and the development of class – specific antiretroviral resistance / M. Edward, Gardner // AIDS. – 2009, June 1. – N23 (9). – P. 1035 – 1046.
97. *Emery, S.* Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART) – naive participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART Study / S. Emery, J.A. Neuhaus, A.N. Phillips et al. // J. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 197. – P. 1133 – 1144.
98. *Fanales – Belasio, E.* HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. / E. Fanales – Belasio, M. Raimondo, B. Suligoj, S. Buttò // Ann Ist Super Sanita – 2010 – 46(1) – P. 5 – 14. – doi: 10.4415/ANN_10_01_02
99. *Fauci, A. S.* HIV and AIDS: 20 years of science. / A. S. Fauci // Nature medicine. — 2003. — Vol. 9, no. 7. — P. 839—843. — doi:10.1038/nm0703 – 839
100. *Finzi, D.* Latent infection of CD4+T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV – 1, even in patients on effective combination therapy / D. Finzi, J. Blankson, J.D. Siliciano et al. // Nat. Med. – 1999. – N 5. – P. 512 – 517.
101. *Flor-Parra, F.* The HIV type 1 protease L10I minor mutation decreases replication capacity and confers resistance to protease inhibitors. / F. Flor – Parra, A.J. Pérez – Pulido, J. Pachón, P. Pérez – Romero // AIDS Res Hum Retroviruses. 2011. 27(1):65 – 70. doi: 10.1089/aid.2010.0072.
102. *Fraser, C.* HIV recombination: what is the impact on antiretroviral therapy? / C. Fraser // J. R. Soc. Interface. – 2005 – № 22;2(5) – P. 489 – 503. – doi: 10.1098/rsif.2005.0064
103. *Freed, E.O.* The cell biology of HIV – 1 and other retroviruses / E.O. Freed, A. J. Mouland // Retro virology. – 2006. – Vol. 3. – P. 77 – 87.
104. *Galetto, R.* The structure of HIV – 1 genomic RNA in the gp120 gene determines a recombination hot spot *in vivo* / R. Galetto, A. Moumen, V. Giacomoni, M. Veron, P. Charneau, M. Negroni. // J Biol Chem – 2004. – № 279 – P.36625 – 32.
105. *Gottfried, B.* A comparative study of linear and region-based diagrams / B. Gottfried // JOSIS. – 2015. – DOI: 10. 10.5311/JOSIS.2015.10.187.

106. *Goujard, C.* Impact of a patient education program on adherence to HIV medication: a randomized clinical trial / C. Goujard, N. Bernard, N. Sohier et al. // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. – 2003. – Vol. 34 (2). – P. 191 – 194.
107. *Gratton, S.* Highly restricted spread of HIV – 1 and multiply infected cells within splenic germinal centers / S. Gratton, R. Cheynier, M. J. Dumaurier, E. Oksenhendler, S. Wain – Hobson // *Proc Natl Acad Sci USA* – 2000. – №97. – P.14566 – 71.
108. *Greener, R.* AIDS and macroeconomic impact / R. Greener // *State of The Art; AIDS and Economics, IAEN, 2002*. – P. 49 – 55.
109. *Guatelli, J. C.* Interactions of viral protein U (Vpu) with cellular factors. (АНГЛ.)/ J. C. Guatelli // *Current topics in microbiology and immunology*. — 2009. — Vol. 339. — P. 27—45. — doi:10.1007/978 – 3 – 642 – 02175 – 6_2. — PMID 20012522.
110. *Hauser, A.* Emergence of Minor Drug Resistant HI VI Variants after Triple Antiretroviral Prophylaxis for Prevention of Vertical HIV1 Transmission/ A. Hauser, J. Sewangi, P. Mbezi et al. // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7 (2). – P. 32 055. URL: [http, doi: 10.1371/journal.pone.0032055](http://doi:10.1371/journal.pone.0032055)
111. *Hellinger, F.J.* Antiretroviral therapy and health care utilization: a study of privately insured men and women with HIV disease / F.J. Hellinger, W.E. Encinosa // *Health Serv. Res* 2004. – Vol. 19. – P. 949 – 967.
112. *Hellinger, F.J.* Estimating the national cost of treating people with HIV disease: patient, payer, and provider data / F.J. Hellinger, J.A. Fleishman // *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* – 2000. – Vol. 24. – P. 182 – 188.
113. *Hendershot, C.S.* Alcohol use and antiretroviral adherence: review and meta – analysis / C.S. Hendershot, S.A. Stoner, J.M. Simoni et al. // *J. AIDS*. – 2009. – Vol. 52. – P. 180 – 202.
114. *Ho, S. K.* Drug – associated changes in amino acid residues in Gag p2, p7(NC), and p6(Gag)/p6(Pol) in human immunodeficiency virus type 1 (HIV – 1) display a dominant effect on replicative fitness and drug response. (АНГЛ.)/ S. K. Ho, R. M. Coman, J. C. Bunger, S. L. Rose, P. O'Brien, I. Munoz, B. M. Dunn, J. W. Sleasman, M. M.

Goodenow // *Virology*. — 2008. — Vol. 378, no. 2. — P. 272—281. — doi:10.1016/j.virol.2008.05.029

115. *Hoffmann, C.* HIV 2009 A textbook – free available / C. Hoffmann, J.K. Rockstroh. – Hamburg: Medizin Focus Verlag, 2009. – 670 p.

116. *Holguín, A.* Natural polymorphisms in the protease gene modulate the replicative capacity of non – B HIV – 1 variants in the absence of drug pressure / A Holguín, C Suñe, F Hamy, V Soriano, T. Klimkait // *J Clin Virol*. 2006;36(4) – P. 264 – 271. DOI:10.1016/j.jcv.2006.05.001

<http://ivo.garant.ru/#/document/12137881/paragraph/1:0>

<http://ivo.garant.ru/#/document/72264534/paragraph/1:0>

117. *Hu, Z.* Fitness comparison of thymidine analog resistance pathways in human immunodeficiency virus type 1 / Z Hu, F Giguel, H Hatano, P Reid, J Lu, DR. Kuritzkes // *J Virol*. 2006 Jul;80(14):7020 – 7. doi: 10.1128/JVI.02747 – 05.

118. *Hughes, C.A.* Abacavir hypersensitivity reaction: an update / C.A. Hughes, M.M. Foisy, N. Dewhurst et al. // *Ann. Pharmacother.* – 2008. – N 3. – P. 387 – 396.

119. *Hung, M.* Elucidating molecular interactions of L – nucleotides with HIV – 1 reverse transcriptase and mechanism of M184V – caused drug resistance / M. Hung, E.J. Tokarsky, L. Lagpacan, L. Zhang, Z. Suo, E.B. Lansdon // *Commun Biol*. 2019 Dec 13; № 2:469. doi: 10.1038/s42003 – 019 – 0706 – x. PMID: 31872074; PMCID: PMC6910994.

120. *Ibe, S.* Clinical significance of HIV reverse – transcriptase inhibitor – resistance mutations / S. Ibe, W. Sugiura // *Future Microbiol*. 2011 Mar; 6(3). – P. 295 – 315. doi: 10.2217/fmb.11.7. PMID: 21449841.

121. *Idemyor, V.* The 2004 International AIDS Conference and how to globally counter HIV/AIDS / V. Idemyor // *HIV Clin. Trials*. – 2005. – Vol. 6. – N 1. – P. 43 – 49.

122. *Jetzt, A. E.* High rate of recombination throughout the human immunodeficiency virus type 1 genome / A. E. Jetzt, H. Yu, G. J. Klarmann, Y. Ron, B. D. Preston, J. P. Dougherty // *J Virol*. – 2000. – №74 – P. 1234 – 40

123. *Johnson, V.A.* Update of the drug resistance mutations in HIV1: December 2009 / V.A. Johnson, F. Braun Vezinet, B. Clotet et al. // *Top. HIV. Med.* – 2009. – Vol. 17(5). – P. 138 – 145.

124. *Jung, A.* Recombination: Multiply infected spleen cells in HIV patients / A. Jung, R. Maier, J. P. Vartanian, G. Bocharov, V. Jung, U. Fischer // *Nature* – 2002. – №418. – P.144.
125. *Kazennova, E.* HIV – 1 Genetic Variants in the Russian Far East./ E. Kazennova, V. Laga, I. Lapovok, N. Glushchenko, D. NeshumaeV, A. Vasilyev, M. Bobkova // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014. №8. – Pp. 742–752.
126. *Keiffer, T.L.* Genotypic analysis of HIV – 1 drug resistance at the limit of detection: virus production without evolution in treated adults with undetectable HIV loads / T.L. Keiffer, M.M. Finucane, R.E. Nettles et al. // *J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 189. – P. 1452 – 1465.
127. *Myers, G.* A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. / G. Myers, B. Foley, B. Korber, J. W. Mellors, K. T. Jeang, S. Wain-Hobson // *Human Retroviruses and AIDS*. — 1999.
128. *Kumar, S.* MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7) – P. 1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
129. *Kuritzkes, D.R.* HIV resistance: Frequency, testing, mechanisms / D.R. Kuritzkes // *Top HIV Med.* – 2007. – Vol. 15. – P. 150 – 154.
130. *Lanier, E. R.* Effect of concurrent zidovudine use on the resistance pathway selected by abacavir – containing regimens / E. R. Lanier, N Givens, C Stone, P Griffin, D Gibb, S Walker, M Tisdale, D Irlbeck, M Underwood, M St Clair, M. Ait – Khaled // *HIV Med.* 2004 Nov;5(6):394 – 9. doi: 10.1111/j.1468 – 1293.2004.00243.x. PMID: 15544690.
131. *Lazzarin, A.* Efficacy of enfuvirtide in patients infected with drug – resistant HIV – 1 IN Europe and Australia / A. Lazzarin, B. Clotet, D. Cooper et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 2186 – 2195.
132. *Le Moing, V.* Predictors of long – term increase in CD4+ cell counts in human immunodeficiency virus – infected patients receiving a protease inhibitor – containing antiretroviral regimen / V. Le Moing, R. Thiebaut, G. Chene et al. // *J. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 185. – P. 471 – 480.

133. *Lebedev, A.* Prevalence and spatiotemporal dynamics of HIV – 1 Circulating Recombinant Form 03_AB (CRF03_AB) in the Former Soviet Union countries. / A. Lebedev, O. Pasechnik, E. Ozhmegova, A. Antonova, A. Blokh, L. Grezina, T. Sandyreva, N. Dementeva, E. Kazennova, M. Bobkova // *PloS one*, 2020 – 15(10), e0241269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241269>
134. *Lewis, M.A.* Social control in personal relationships: Impact on health behaviors and psychological distress / M.A. Lewis, K.S. Rook // *Health Psychology*. – 1999. – Vol. 18. – P. 63 – 71.
135. *Liitsola, K.* HIV – 1 genetic subtype A/B recombinant strain causing an explosive epidemic in injecting drug users in Kaliningrad. / K Liitsola, I Tashkinova, T Laukkanen // *AIDS* 1998; 12 – P. 1907–1919.
136. *Lucas, G.M.* Longitudinal assessment of the effects of drug and alcohol abuse on HIV1 treatment out comes in an urban clinic / G.M. Lucas, K.A. Gebo, R.E. Chaisson et al. // *AIDS*. – 2002. – Vol. 16 (5). – P. 767 – 774.
137. *Madruga, J.V.* Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment – experienced HIV – 1 – infected patients DUET – 1: 24 – week results from a randomized, double – blind, placebo – controlled trial / J.V. Madruga, P. Cahn, B. Grinsztejn et al. // *Lancet*. – 2007. – Vol. 9581. – P. 29 – 38.
138. *Maillard, A.* The use of drug resistance algorithms and genotypic inhibitory quotient in prediction of lopinavir – ritonavir treatment response in human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor – experienced patients / A. Maillard, J.M. Chapplain, O. Tribut et al. // *J. Clm. Virol*. – 2007. – Vol. 38. – P. 131 – 138.
139. *Malim, M. H.* HIV – 1 accessory proteins – – ensuring viral survival in a hostile environment. (АНГЛ.)/ M. H. Malim, M. Emerman // *Cell host & microbe*. — 2008. — Vol. 3, no. 6. — P. 388—398. — doi:10.1016/j.chom.2008.04.008. — PMID 18541215.
140. *Mamatkulov, A.* Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations among pre – treatment and ART – failed HIV patients in Uzbekistan / A. Mamatkulov, E. Kazakova, N. Ibadullaeva, E. Joldasova, A. Bayjanov, E. Musabaev, N. Kan, D. Mustafaeva, A. Lebedev, M. Bobkova, E. Kazennova, L. Zohrabyan // *AIDS Research and Human Retroviruses*. – 2020 – № 37. – doi 10.1089/AID.2020.0096.

141. *Mannheimer, S.* The consistency of adherence to antiretroviral therapy predicts biologic outcomes for human immunodeficiency virus infected persons in clinical trials / S. Mannheimer, G. Friedland, J. Matts et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 34 (8). – P. 1115 – 1121.

142. *Marlowe, N.* Genetic Characterization of Diverse HIV1 Strains Circulating in Russia / N Marlowe, P. Swanson, L. Fang et al. // 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. – San Francisco, 2010. – Poster 439. URL: <http://retroconference.org/2010/PDFs/439.pdf>

143. *Matthews, G.V.* Virological suppression at 6 months is related to choice of initial regimen in antiretroviral – naive patients: a cohort study / G.V. Matthews, C.A. Sabin, S. Mandalia et al. // *AIDS.* – 2002. – N 16. – P. 53 – 61.

144. *Mbange, A. E.* Surveillance of transmitted HIV – 1 antiretroviral drug resistance in the context of decentralized HIV care in Senegal and the Ebola outbreak in Guinea. / A.E. Mbange, D. Kaba, A. A. M. Diouara, H. Diop – Ndiaye, N. F. Ngom – Ngueye, A. Dieng, S. Lo, K. N. Toure, M. Fall, W. F. Mbacham, M. S. Diallo, M. Cisse, S. Mboup, C. T. Kane // *BMC Res Notes.* – 2018 Oct – Vol.12;11(1). – P 723. – doi: 10.1186/s13104 – 018 – 3804 – 9. PMID: 30309385; PMCID: PMC6182815.

145. Migration Between CIS Countries: Trends and Policy. Search Working Paper (January). Choudinovskikh O., Denissenko M. WP3/06. Available from: http://www.ub.edu/searchproject/wp – content/uploads/2013/02/WP_3_6.pdf

146. *Montagnier, L.* Human Immunodeficiency Viruses (Retroviridae). Encyclopedia of Virology (2nd Ed.) / L. Montagnier // Elsevier, 1999 – P. 763—774

147. *Moore, R.D.* An improvement in virologic response to highly active antiretroviral therapy in clinical practice from 1996 through 2002 / R.D. Moore, J.C. Keryly, K.A. Gebo, G.M. Lucas // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* – 2005. – N 39. – P. 195 – 198.

148. *Myers, R.E.* A statistical model for HIV1 sequence classification using the subtype analyser (STAR) / R.E. Myers, C.V. Gale, A. Harrison et al. // *Bioinformatics* – 2005. – Vol. 21 (17). – P. 3535 – 3540.

149. *Nettles, R.E.* Intermittent HIV – 1 viremia (Blips) and drug resistance in patients receiving HAART / R.E. Nettles, T.L. Keiffer, P. Kwon et al. // JAMA. – 2005. – N293. – P. 817 – 829.
150. *Nii-Trebi, N. I.* Dynamic HIV – 1 genetic recombination and genotypic drug resistance among treatment – experienced adults in northern Ghana / N.I. Nii – Trebi, J.A.M. Brandful, S. Ibe // J Med Microbiol. — 2017. — 66:1663 – 1672.
151. *Niu, M.T.* Summary of the National Institutes of Health workshop on primary human immunodeficiency virus type 1 infection / M.T. Niu, J.A. Jernano, P. Reichelderfer, S.M. Schnittmann // AIDS Res. Hum. Retroviruses. – 1993. – N 9. – P. 913 – 924.
152. *Nkeze, J.* Molecular characterization of HIV – 1 genome in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* / J. Nkeze, L. Li, Z. Benko, G. Li, R. Y. Zhao // Cell Biosci – 2015. – №5:47 – doi: 10.1186/s13578 – 015 – 0037 – 7
153. *Nomaguchi, M.* Role of HIV-1 Vpu protein for virus spread and pathogenesis / M. Nomaguchi, M. Fujita, A. Adachi // Microbes and infection / Institut Pasteur. — 2008. — Vol. 10, no. 9. — P. 960—967. — doi:10.1016/j.micinf.2008.07.006. — PMID 18672082.
154. *Nosik, M.* Genotypic analyses of HIV in antiretroviral drugnaive patients from Moscow and Moscow region, Russia / M. Nosik, R. Ryzhov, A. Kravtchenko et al. // 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention – Rome, 2011. Abstract CDA002. URL:<http://pag.ias2011.org/Abstracts.aspx?AID=555>
155. *Okonechnikov, K.* Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit/ K. Okonechnikov, O. Golosova , M. Fursov // Bioinformatics 2012 28: 1166 – 1167. doi:10.1093/bioinformatics/bts091
156. *Orkiri, C.* An epidemiologic study to determine the prevalence of the HLA – B*5701 allele among HIV – positive patients in Europe / C. Orkin, J. Wang, C. Bergin et al. // Pharmacogenet Genomics. – 2010. – Vol. 20. – P. 307 – 314.
157. *Palmer, S.* Low – level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy / S. Palmer, F. Maldarelli, A. Wiegand et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 3879 – 3884.

158. *Paredes, R.* Predictors of virological success and ensuing failure in HIV – positive patients starting highly active antiretroviral therapy in Europe: results from the Euro SID A study / R. Paredes, A. Mocroft, O. Kirk et al. // Arch. Intern. Med. – 2000. – N 160. – P.1123 – 1132
159. *Parienti, J.J.* Average adherence to boosted protease inhibitor therapy, rather than the pattern of missed doses, as a predictor of HIV RNA replication / J.J. Parienti, K. Ragland, F. Lucht et al. // Clin. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 50. – P. 1192 – 1197.
160. *Patel, A.K.* Future implications: Compliance and failure with antiretroviral treatment / A.K. Patel, K.K. Patel // J. Postgrad. Med. – 2006. – Vol. 52. – P. 197 – 200.
161. *Perno, C.F.* Overcoming resistance to existing therapies in hiv – infected patients: The role of new antiretroviral drugs / C.F. Perno, G. Moyle, C. Tsoukas et al. // J. Med. Virol. – 2008. – Vol. 80. – P. 565 – 76.
162. *Prasad, V.R.* HIV protocols / V.R. Prasad, G.V. Kalpana (*Editors*). – Humana Press, 2009. – 457 c.
163. *Quinn, T.C.* HIV epidemiology and the effects of antiviral therapy on long – term consequences / T.C, Quinn // AIDS. – 2008. – Vol. 22 (Suppl. 3). – S7 – S12.
164. *Rhee, S.* Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database./ S. Rhee, M. Gonzales, R. Kantor, B. Betts, J. Ravela, R. Shafer // Nucleic Acids Research, 2003 – 31(1) – P. 298 – 303.
165. *Richman, D.D.* The challenge of finding a cure for HIV infection /D. D. Richman, D.M. Margolis, M. Delaney et al. // Science. – 2009. – Vol. 323. – P. 1304 – 1307.
166. *Rodgers, P.* Visualizing Sets with Linear Diagrams. / P. Rodgers, G. Stapleton, P. Chapman // ACM Trans. Comput. – Hum. Interact. – 2015. – Vol.22(6). – 27:1 – 27:39. – <https://doi.org/10.1145/2810012>
167. *Saag, M.S.* The Sanford guide to HIV/AIDS therapy 2012 / M.S. Saag, H.F. Chambers, G.M. Eliopoulos, D.N. Gilbert, R.C. Moellering (*Editors*). – Sperryville, VA, USA: Antimicrobial Therapy Inc., 2012. – 214 c.
168. *Sacktor, N.* HIV subtype D is associated with dementia, compared with subtype A, in immunosuppressed individuals at risk of cognitive impairment in Kampala,

Uganda / N. Sacktor, N. Nakasujja, R.L. Skolasky et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 49 (5). – P. 780 – 786.

169. *Samri, A.* Immunogenicity of mutations induced by nucleoside reverse transcriptase inhibitors for human immunodeficiency virus type 1 specific cytotoxic T cells / A. Samri, G. Haas, J. Duntze et al. // *J. Virol.* – 2000. – Vol. 74 (19). – P. 9306 – 9312.

170. *Schwalm, D.U.* Effects of war on compliance / D.U. Schwalm // *Curare.* – 1997. – Vol. 20 (1). – P. 101 – 107. 85. Epstein H. AIDS: the lesson of Uganda, New York Review of Books. – 2001. – P.18 – 23.

171. *Sen, S.* Antiretroviral drug resistance testing / S. Sen, S.P. Tripathy, R.S. Paranjape // *J. Postgrad. Med.* – 2006. – Vol. 52. – P. 187 – 93.

172. *Shafer, R.W.* Hiv – 1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance / R.W. Shafer, S.Y. Rhee, D. Pillay et al. // *AIDS.* – 2007. – Vol. 21. – P. 215 – 23.

173. *Schultz, A. K.* jpHMM: Improving the reliability of recombination prediction in HIV – 1 / A. – K. Schultz, M. Zhang, I. Bulla, T. Leitner, B. Korber, B. Morgenstern, M. Stanke // *Nucleic Acids Research*, Vol. 37 – 2 – 1 July 2009 – P. 647–651 – <https://doi.org/10.1093/nar/gkp371>

174. *Simon – Lorie, E.* RNA structures, genomic organization and selection of recombinant HIV / E. Simon – Lorie, P. Rossolillo, M. Negroni // *RNA Biology* – 2011, 8:2 – P. 280 – 286, DOI: 10.4161/rna.8.2.15193

175. *Sterling, T.R.* Improved outcomes with earlier initiation of highly active antiretroviral therapy among human immunodeficiency virus – infected patients who achieve durable virologic suppression: longer follow – up of an observational cohort study / T.R. Sterling, R.E. Chaisson, J. Keruly, R.D. Moore // *J. Infect. Dis.* – 2003. – N 188. – P. 1659 – 1665.

176. *Tambuyzer, L.* Compilation and prevalence of mutations associated with resistance to non – nucleoside reverse transcriptase inhibitors. / L. Tambuyzer, H. Azijn, L. T. Rinsky, J. Vingerhoets, P. Lecocq, G. Kraus, G. Picchio, M. P. de Bethune. // *Antivir. Ther.* – 2009, 14 – P. 103 – 109

177. *Taylor, B.S.* The challenge of HIV – 1 subtype diversity / B.S. Taylor, M.E. Sobieszczyk, F.E. McCutchan et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358. – P. 1590 – 1602.
178. *Trover, KM.* Changes in human immunodeficiency virus type 1 fitness and genetic diversity during disease progression / R.M. Trover, K.R. Collins, A. Abhara et al. // *J. Virol.* – 2005. – Vol. 79. – P. 9006 – 9018.
179. *Turner, B. G.* Structural biology of HIV. (АНГЛ.)/ B. G. Turner, M. F. Summers // *Journal of molecular biology.* — 1999. — Vol. 285, no. 1. — P. 1—32. — doi:10.1006/jmbi.1998.2354
180. *Turner, D.* Hiv transmission and primary drug resistance / D. Turner, M.A. Wainberg // *AIDS Rev.* – 2006. – N 8. – P. 17 – 23.
181. UNAIDS data 2020 URL:
<https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/unaids-data>
182. *Vandamme, A.M.* European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing: 2011 update; European HIV Drug Resistance Guidelines Panel / F.M. Vandamme, R.J. Camacho, F. Ceccherini – Silberstein et al. // *AIDS Rev.* – 2011. – Vol. 13(2). – P. 77 – 108.
183. *Vingerhoets, J.* An update of the list of NNRTI mutations associated with decreased virological response to etravirine: multivariate analyses on the pooled DUET – 1 and DUET – 2 clinical trial data [abstract 24] / J. Vingerhoets, M. Peeters, H. Azijn, L. Tambuyzer, A. Hoogstoel, S. Nijs, M – P. de Bethune, G. Picchio // *Antiviral Therapy.* 2008; 13 Suppl 3:A26.
184. *Votteler, J.* Human Immunodeficiency Viruses: Molecular Biology. Encyclopedia of Virology. (3rd ed.)/ J. Votteler, U. Schubert // 2008. – P. 517—525
185. *Walker, N.* Estimating the global burden of HIV/AIDS: What do we really know about the HIV pandemic? / N. Walker, N.C. Grassly, G.P. Gamett et al. // *Lancet.* – 2004. – N 363. – P. 2180 – 2185.
186. *Weinberg, A.* Resistance to antiretrovirals in HIVinfected pregnant women // *J. Clin. Virol.* – 2009. – Vol. 45 (1). – P. 39 – 42.

187. *Weiss, R.A.* How does HIV cause AIDS? / R.A. Weiss // *Science*. — 1993. — May (vol. 260, no. 5112). — P. 1273—1279. — doi:10.1126/science.849357
188. World Health Organization (WHO). Antiretroviral Therapy for HIV Infection in Adults and Adolescents: Recommendations for a Public Health Approach: 2010 Revision. — 2010. — P. 14, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138528/>
189. World Health Organization (WHO) HIV drug resistance report // URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255896/9789241512831-eng.pdf;jsessionid=357205E46C93CE9C7673C36EF2B82CDF?sequence=1> — 2017.
190. *Xu, H.T.* Role of the K101E substitution in HIV – 1 reverse transcriptase in resistance to rilpivirine and other nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors/ H.T.Xu, S.P. Colby – Germinario, W. Huang, M. Oliveira, Y. Han, Y. Quan, C.J. Petropoulos, M.A. Wainberg // *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Nov; 57(11) P.5649 – 5657. doi: 10.1128/AAC.01536 – 13. Epub 2013 Sep 3. PMID: 24002090; PMCID: PMC3811317.
191. *Yendewa, G.A.* Prevalence of drug resistance mutations among ART – naive and – experienced HIV – infected patients in Sierra Leone / G.A. Yendewa, F. Sahr, S. Lakoh, M. Ruiz, L. Patiño, A. Tabernilla, G.F. Deen, M. Sesay, R.A. Salata, E. Poveda // *J. Antimicrob. Chemother.* 2019; 74(7) – P. 2024–9. DOI: 10.1093/jac/dkz134.
192. *Zhang, L.* Quantifying residual HIV – 1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy / L. Zhang, B. Ramratnam, K. Tenner – Racz et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – N 340. – P. 1605 – 1613.
193. *Zhuang, J.* Human immunodeficiency virus type 1 recombination: rate, fidelity and putative hot spots / J. Zhuang, A. E. Jetzt, G. Sun, H. Yu, G. Klarmann, Y. Ron // *J Virol* – 2002. – №76 – P.11273 – 82.