

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА»
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

На правах рукописи

ИНГАБИРЕ ТЪЕРРИ

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВИЧНО
ДИАГНОСТИРОВАННОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ С УЧЕТОМ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИРУСА
И ОПТИМИЗАЦИЯ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ**

3.1.22. – Инфекционные болезни

1.5.10. – Вирусология

Диссертация

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научные руководители

доктор медицинских наук профессор

Эсауленко Елена Владимировна

доктор биологических наук

Семёнов Александр Владимирович

Санкт-Петербург – 2021г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РАЗВИТИИ ПЕРВИЧНЫХ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	12
1.1 Клиническое течение и особенности первичной диагностики ВИЧ-инфекции.....	12
1.2 Структура вируса иммунодефицита человека.....	18
1.3 Встречаемость первичных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ и их клиническая значимость.....	22
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
2.1 Общая характеристика пациентов.....	49
2.2 Клинико-лабораторное обследование.....	52
2.3 Молекулярно-генетическое исследование.....	55
2.4 Статистический анализ данных.....	56
ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКАЯ СИМПТОМАТИКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНО ВЫЯВЛЕННОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ	57
3.1 Клиническая симптоматика пациентов с первично выявленной ВИЧ-инфекцией.....	57
3.2 Лабораторные проявления ВИЧ-инфекции у обследованных пациентов....	67
ГЛАВА 4 АНАЛИЗ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У ПЕРВИЧНО ДИАГНОСТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ	70
4.1 Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ у пациентов.....	70
4.2 Клинико-лабораторные показатели с учетом мутаций ВИЧ.....	72
4.3 Частота первичной резистентности к антиретровирусным препаратам.....	75
4.4 Оценка распространенности ВИЧ-протективных аллелей среди обследованных пациентов.....	77

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	78
ВЫВОДЫ	83
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	84
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	85
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	86
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	89

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Инфекция, вызываемая вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция) с конца 1990-х годов стала хроническим заболеванием благодаря антиретровирусным молекулам, которые позволяют контролировать репликацию вируса. В развивающихся странах, на территории которых проживает большинство из 37,6 миллионов инфицированных, ВИЧ по-прежнему остается одной из основных проблем глобального здравоохранения. Заболевание ежегодно приводит к 33 млн смертей, хотя в последние годы был достигнут значительный прогресс по снижению заболеваемости и увеличению охвата терапии ВИЧ-инфицированных [16, 163].

В Российской Федерации (РФ) эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции остается тревожной, хотя в последние три года наблюдается приостановление темпов роста заболеваемости. На 31 декабря 2020 года зарегистрировано более 1,4 млн случаев ВИЧ-инфекции, из которых умерло 25,3% за весь период наблюдения. Снижение в 2020 году количества новых случаев связано вероятно с сокращением скрининга во время пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 [21].

В настоящее время применение комбинированной антиретровирусной терапии (АРВТ) является единственным способом эффективного подавления репликации вируса, гарантируя отсутствие прогрессирования заболевания до стадии синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Терапия значительно снижает риски передачи инфекции, а также появление мутантных форм вируса, ответственных за лекарственную резистентность [116], приводя к быстрому снижению уровня РНК ВИЧ, улучшению функций иммунной системы [82], регрессу трудно поддающихся лечению оппортунистических инфекций, таких как саркома Капоши (СК), [50] и прогрессированию мультифокальной

лейкоэнцефалопатии (ПМЛ), и как следствие снижению смертности [59]. С 2016 года Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) рекомендует назначать АРВТ всем пациентам с ВИЧ-инфекцией сразу же после обнаружения вируса, независимо от количества CD4 и наличия клинических проявлений [73].

Число случаев развития лекарственной устойчивости (ЛУ) постепенно растет в следствие увеличения числа пациентов, принимающих антиретровирусные препараты (АРВП). Хорошо известно, что сохранение репликации вируса в присутствии АРВП приводит к развитию устойчивости к противовирусным препаратам. У пациентов с опытом АРВТ устойчивая репликация связана с трудностями, связанными с лечением – недостаточными дозами применяемых препаратов, проблем лекарственного взаимодействия или с возникновением мутаций устойчивости. Однако, у пациентов без опыта предыдущей терапии, ЛУ может встречаться в результате их инфицирования мутантными вариантами ВИЧ-1 [45, 154].

Согласно литературным данным, распространенность резистентности, обусловленная инфицированием пациентов, имеющих опыт применения АРВТ, в различных популяциях ВИЧ-инфицированных, составляет от 5% до 30% и более [80]. В РФ, в отличие от других стран, не проводят тест на резистентность ВИЧ к АРВП на этапах диагностики и планирования этиотропной терапии. Хотя, данный тест позволяет убедиться, что пациент не инфицирован устойчивым штаммом к препаратам (первичная резистентность), и может служить эталоном в случае последующей вирусологической неудачи, чтобы определить существующие мутации устойчивости [10]. Исследования некоторых авторов указывают, что в последние годы наблюдается постепенный рост уровня первичной резистентности, обусловленной широкомасштабным использованием АРВП, и в 2019 году он уже достиг 5,5% [6].

В данных условиях необходимо регулярно отслеживать уровень ЛУ ВИЧ (первичной, как и вторичной) в РФ, планировать и своевременно принимать меры по предотвращению циркуляции резистентных штаммов, а также

оптимизировать стратегию назначения АРВТ для повышения ее эффективности [34].

Степень разработанности темы исследования

Высокая скорость генетической изменчивости ВИЧ-1, активная репликация вируса, в том числе сохраняющаяся на фоне АРВТ, приводят к развитию лекарственной устойчивости. Появление той или другой мутации резистентности зависит от фармакологических факторов (субоптимальные концентрации АРВП в плазме крови, низкая приверженность пациентов к приему препаратов или лекарственные взаимодействия), эффективности противовирусной терапии и генетического барьера вируса по отношению к различным АРВП, т. е. от количества вирусных мутаций. Устойчивость ВИЧ потенциально развивается ко всем АРВП и может возникнуть уже через 2-4 недели после начала терапии, снижая эффективность и приводя к росту смертности от ВИЧ-ассоциированных заболеваний [14].

В условиях увеличения охвата терапией представляется чрезвычайно актуальным и перспективным проведение постоянно действующего мониторинга за появлением мутантных штаммов ВИЧ, обладающих первичной ЛУ к препаратам ВАРТ для выбора наиболее эффективных схем АРВТ. В отдельных лабораториях существует подобный опыт – лаборатория иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера проводит исследования на отдельных территориях Северо-Западного федерального округа. Однако, в реальной клинической практике отсутствует обязательное определение мутантных штаммов перед стартом терапии и нормативные документы. Все вышесказанное определяет актуальность проблемы и позволило сформулировать цель и задачи исследования.

Цель исследования

Оптимизировать подбор терапевтических схем антиретровирусной терапии у первично диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией на основе результатов клинико-лабораторного обследования и молекулярно-генетической характеристики вируса.

Задачи исследования

1. Продемонстрировать трудности и несвоевременность диагностики ВИЧ-инфекции на этапах медико-санитарной помощи.
2. Изучить клиническое течение ВИЧ-инфекции с учетом данных лабораторного обследования у первично диагностированных пациентов.
2. Определить спектр и встречаемость мутаций ВИЧ-1 у первично диагностированных пациентов, приводящих к развитию резистентности к препаратам антиретровирусной терапии.
3. Оценить приверженность и эффективность антиретровирусной терапии у пациентов, подобранной с учетом молекулярно-генетической характеристики вируса.
4. Обосновать необходимость разработки алгоритма назначения антиретровирусной терапии для повышения эффективности и профилактики развития вторичной резистентности.

Научная новизна

Впервые получены данные о распространенности мутаций ВИЧ-1, циркулирующего в Санкт-Петербурге в период 2018-2021гг. у первично выявленных пациентов с диагнозом ВИЧ-инфекция.

Определены встречаемость и спектр мутаций, приводящих к первичной резистентности к антиретровирусным препаратам, а также их клиническая значимость в эффективности терапии при разной степени приверженности пациентов к ней.

Оценена распространённость ВИЧ-протективных аллелей у первичных ВИЧ-инфицированных пациентов на территории Санкт-Петербурга по сравнению с неинфицированной популяцией.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные о распространенности мутаций, о молекулярно-генетических особенностях и о структуре лекарственной чувствительности штаммов ВИЧ у первично диагностированных пациентов расширяют представление о правилах назначения АРВТ.

Учет, как первичной, так и вторичной резистентности ВИЧ, позволяет оптимизировать назначение АРВТ путем подбора оптимальной схемы лечения для каждого больного.

Обоснована необходимость разработки алгоритма выявления рисков, позволяющий с высокой точностью определять вероятность развития резистентности для пациентов, получающих АРВТ, и прогнозировать его на этапе старта терапии для повышения эффективности и профилактики развития вторичной резистентности.

Основные положения и результаты исследования используются в практической работе Государственного казенного учреждения здравоохранения Ленинградской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», в учебный процесс кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого» и в

педагогический процесс кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Методология и методы исследования

В диссертационной работе применена общенаучная методология с использованием системного подхода, основанного на методах доказательной медицины. Методы исследования: клинический, лабораторные (серологический, биохимический, молекулярно-биологический, вирусологический и др.); использованы методы описательной, сравнительной непараметрической и многофакторной статистики с определением выраженности взаимосвязей изучаемых факторов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У первично диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией доля госпитализированных пациентов составила 91,2%, а наблюдавшихся амбулаторно – 9,8%. Наибольшее число пациентов (86,3%) с ВИЧ-инфекцией первично диагностируется на поздней стадии заболевания. Наличие коморбидности у ВИЧ-инфицированных пациентов и многообразие клинических проявлений этого заболевания приводят к длительному диагностическому процессу, ошибочным диагнозам с поздней диагностикой.
2. У обследованных пациентов доминирует инфицирование ВИЧ субтипа А6 составляющий 97%, встречается ВИЧ субтипа В – 2%, а также рекомбинантная форма CRF03_AB – лишь 1%.
3. Встречаемость первичной резистентности составляет 11%, что служит обоснованием обязательного тестирования на ЛУ всех первично-выявленным пациентам с ВИЧ-инфекцией перед назначением АРВТ.

4. В настоящем исследовании не установлена взаимосвязь между наличием различных мутаций ВИЧ в популяции с уровнем показателей, характеризующих тяжесть течения заболевания (вирусная нагрузка, количество CD4+). Наиболее часто встречающаяся-А62V, характерна для образцов с субтипом А6.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом выполненных наблюдений, использованием современных методов исследования: клинико-лабораторных, инструментальных, серологических, иммунологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических.

Основные результаты диссертационного исследования доложены на АНО "БНИМЦ" Школа-семинаре «Избранные вопросы хронических вирусных инфекций в клинической практике» (Санкт-Петербург, 2020 г.), XX Российско-Итальянской конференции «Актуальные вопросы социально-значимых инфекционных и паразитарных заболеваний» (Великий Новгород, 2020 г.), XII Ежегодном Всероссийском интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: диагностика, лечение и профилактика». Награжден Дипломом 2 степени как победитель конкурса молодых ученых, прошедшего в рамках конгресса (Москва, 2020 г.), XIII Всероссийской научно-практической виртуальной конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке. Качество жизни» (Казань, 2021 г.), Международной конференции «Эпидемиологическое благополучие» (Москва, 2021 г.), Национальном конгрессе с международным участием «Здоровые дети — будущее страны» (Санкт-Петербург, 2019, 2021 г.).

По теме диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 в журналах, рекомендованных Высшей Аттестационной

Комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автор совместно с научными руководителями провел определение темы исследования, целей и задач. Автором самостоятельно проведен подбор и анализ отечественных и зарубежных литературных источников по изучаемой проблеме. Автор самостоятельно проводил клиническое обследование и наблюдение пациентов, принимал участие в иммунологическом обследовании пациентов, провел ретроспективный анализ историй болезней, амбулаторных карт пациентов. Автор полностью сформировал базу данных, выполнил статистическую и графическую обработку материала, обобщил полученные результаты.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 110 страницах компьютерного набора, состоит из введения, 4 глав (обзора литературы, описания материалов и методов, двух глав результатов собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, включающего 22 отечественных и 148 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 2 рисунками.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РАЗВИТИИ ПЕРВИЧНЫХ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Клиническое течение и особенности первичной диагностики ВИЧ-инфекции

Первичная инфекция включает все клинические и биологические проявления, возникающие в течение 2-6 недель после заражения. У 50-80% инфицированных наблюдаются различные симптомы (лихорадка, увеличение лимфатических узлов, сыпь, головная боль, диарея, продолжающиеся от 1 до 6 недель). Эта стадия характеризуется наибольшей концентрацией вируса в крови и представляет наибольший риск инфицирования.

Первичная инфекция ВИЧ охватывает первые 3-6 месяцев после инфицирования и проявляется симптоматически у 23-92% впервые инфицированных лиц. В клинической практике и при отсутствии специфических клинических подозрений на этой стадии ВИЧ-инфекция диагностируется в очень редких случаях в связи с тем, что чаще всего признаки и симптомы, возникающие вовремя сероконверсии, неспецифичны и изменчивы (ретровирусный синдром) [124]. Неспецифический характер симптомов, связанных с первичной ВИЧ-инфекцией, представляет собой серьезную диагностическую проблему и в значительной степени способствует продолжающейся передаче вируса. Поэтому раннее распознавание первичной ВИЧ-инфекции важно для того, чтобы прервать цепь передачи и максимизировать потенциальную эффективность ранней АРВТ [124]. Сообщалось о тяжелых клинических проявлениях и пораженных системах органов во время первичной ВИЧ-инфекции. Однако остается открытый вопрос о том, влияет ли доля и характер атипичных клинических проявлений при первичной ВИЧ-инфекции во время постановки диагноза.

Во время первичной инфекции цели раннего лечения заключаются в ограничении распространения, вирусной изменчивости и создания резервуаров, снизить активацию иммунной системы и предотвращении быстрого формирования тяжелого иммунодефицита. Лечение позволяет быстро контролировать вирусную нагрузку как в крови, так и в генитальном тракте, тем самым снижая контагиозность, которая очень высока на этой стадии инфекции. Для того чтобы обеспечить все эти преимущества, лечение следует начинать в течение первых двух месяцев после заражения [19].

Таблица 1 – Клинико-лабораторные показатели и диагностика первичной ВИЧ-инфекции

Клинические признаки	<ul style="list-style-type: none"> – Гриппоподобный синдром, сохраняющийся более 7 дней (лихорадка, миалгия, головная боль); – Генерализованная макулопапулезная сыпь; – Фарингит; – Полиаденопатия; – Боль в животе, диарея; – Менингит, моно- или полирадикулоневрит; – Оппортунистическая инфекция, особенно кандидоз полости рта;
Лабораторные показатели	<ul style="list-style-type: none"> – Лейконейтропения; – Тромбоцитопения; – Цитолиз печени; – Лимфопения или гиперлимфоцитоз с моноклеозоподобным синдромом;
Диагностика	<ul style="list-style-type: none"> – Вирусная нагрузка ВИЧ: обнаруживается через 7-10 дней после контакта, вначале очень высокая, затем снижается с достижением равновесия через 3-6 месяцев; – Комбинированные тест-системы ИФА позволяют обнаружить анти-ВИЧ антитела и p24 Ag (обнаруживаются с 15 дня после контакта); – Экспресс-тесты с ответом в течение нескольких минут в настоящее время получили более широкое распространение;

После острой фазы наступает фаза хронической инфекции, которая является клинически латентной, но биологически активной. Это самая длительная фаза в естественном течении болезни. Вирусная репликация происходит постоянно, особенно в лимфоидных органах, даже на ранней стадии инфекции. Бессимптомная фаза длится в среднем 10 лет. Она характеризуется стабилизацией вирусной нагрузки плазмы крови и постепенным уменьшением количества циркулирующих CD4 + Т-лимфоцитов. Во время латентной клинической фазы вирус продолжает реплицироваться в лимфоидных органах, даже если вирусная нагрузка в плазме может быть низкой. Существует динамический баланс между скоростью репликации вируса, элиминацией инфицированных CD4 + Т-клеток и восстановлением этих клеток [124].

Симптоматическая фаза характеризуется увеличением вирусной нагрузки плазмы и падением количества CD4 + Т-лимфоцитов. ВИЧ-инфекция является хронической персистирующей инфекцией из-за раннего создания вирусных резервуаров и постоянной репликации вируса *in vivo*, что позволяет появление вирусных вариантов, способных ускользнуть от иммунной системы. Различные клинические или лабораторные проявления могут наблюдаться задолго до клинической фазы СПИДа и должны быть известны врачам первичного звена здравоохранения, и врачам стационаров, в частности, тем врачам чья профессиональная деятельность прямо не связана с инфекционной патологией.

Они разнообразны: – Генерализованная лимфаденопатия без общих или функциональных признаков (20-50%), обычно симметричная, часто шейная, подмышечная, подчелюстная или затылочная. Гистологически это доброкачественная неспецифическая фолликулярная гиперплазия;

– Клинические проявления иммуноактивации или умеренной иммуносупрессии, не соответствующие определению СПИДа, свидетельствующие о тем не менее значительном раннем поражении иммунной системы;

– Кожно-слизистые проявления: это часто грибковые или вирусные инфекции, развитие которых в сторону хронизации или рецидива регулируется

(себорейный дерматит, поражающий лицо, кожу головы, реже туловище, зуд хронического или рецидивирующего течения, фолликулит, опоясывающий лишай, бородавки, кондиломы, контагиозный моллюск, кандидоз полости рта или половых органов, волосатая лейкоплакия, вызванное Вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), с беловатыми полосками на боковых краях языка, распространенный псориаз).

- Гематологические проявления: тромбопения, анемия, лейкопения;
- Общие проявления, свидетельствующие о прогрессировании ВИЧ-инфекции (ухудшение общего состояния с потерей веса; умеренная, постоянная лихорадка; обильное ночное потоотделение; диарея, продолжающаяся более месяца без установленной причины).

Прежде чем связывать эти проявления только с ВИЧ, рекомендуется поискать оппортунистическую инфекцию (в частности, микобактериоз) или опухолевую причину (лимфома).

Несмотря на активацию пораженного организма, возбудитель ВИЧ-инфекции может сохраняться долгие годы в организме хозяина и проявляться вторичными поражениями, возникающими как следствие нарушения иммунной регуляции после значительного времени инфекционного процесса.

СПИД – это группа оппортунистических инфекционных или опухолевых проявлений, являющихся следствием клеточной иммунодепрессии, которые более часто встречаются, когда количество CD4 T-клеток ниже 200/мм³. Уровень иммуносупрессии обуславливает риск возникновения и тип оппортунистических проявлений. Эти оппортунистические инфекции или опухоли могут возникать у пациента одновременно или следовать одна за другой с течением времени, при сохранении иммунодефицита.

Диагностика ВИЧ в настоящее время привлекает много внимания и ресурсов. Чем раньше будет поставлен диагноз, тем раньше начнется лечение и тем оно эффективнее [17]. Согласно опубликованным данным, в Европе менее

40% ВИЧ-инфицированных не знают о своем ВИЧ-статусе и 20-70% всех людей, живущих с ВИЧ-инфекцией (ЛЖВ), остаются не диагностированными [54, 64].

Кроме того, около 40-60% ВИЧ-положительных пациентов выявляются на поздней стадии заболевания. В первую очередь это пациенты, которые обращаются за медицинской помощью из-за тяжелых клинических проявлений, связанных с оппортунистическими инфекциями, которые имеют тяжелое и часто атипичное течение на фоне иммунодефицита. Лица, подвергающиеся наибольшему риску поздней диагностики, имеют худшие результаты и более высокое потребление ресурсов после постановки диагноза. У тех, кто не осведомлен о своем ВИЧ-статусе, меньше вероятность предпринять меры для предотвращения дальнейшей передачи инфекции другим [91]. Однако многие из поздно обращающихся за медицинской помощью считают свой риск заражения ВИЧ низким, например, из-за того, что у них мало половых партнеров и иногда могут скрывать анамнестические данные о наличии ВИЧ-инфекции [18].

Показатели поздних обращений за медицинской помощью среди впервые выявленных ВИЧ-положительных людей в любых условиях служат показателем для разработки эффективных стратегий тестирования на ВИЧ. Такие стратегии должны обеспечить людям соответствующее медицинское обслуживание для начала АРВТ [164]. Однако, по данным результатов, которые были опубликованы в START (Strategic Timing of Antiretroviral Treatment) лечение теперь рекомендуется всем людям, инфицированным ВИЧ [83].

Ранняя диагностика ВИЧ является важнейшим первым шагом к успешному лечению ВИЧ потому что она позволяет своевременно назначить АРВТ [74]. Значительные терапевтические достижения в лечении ВИЧ с появлением высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) кардинально изменили прогноз по СПИДу снизив смертность и заболеваемость, связанные с ВИЧ-инфекцией более чем на 80%, и тем самым минимизируя дальнейшую передачу вируса среди популяции и позволяя увеличить продолжительность жизни ЛЖВ. Однако поздняя диагностика и, следовательно, позднее лечение

являются причиной повышенной смертности по сравнению с пациентами, начинающими АРВТ на ранней стадии заболевания [26]. В случае устойчивой репликации или подтвержденного вирусного отскока, при лечении АРВП, следует провести анализ на генотипическую устойчивость ВИЧ с измерением концентраций в плазме различных используемых препаратов. Оценка приверженности лечению (основная причина неудач) важна для определения природы вирусологической неудачи. В случае вирусной резистентности выбор нового лечения должен включать активные молекулы, идентифицированные путем интерпретации результатов генотипического теста на устойчивость к ВИЧ.

Существует ряд программ и инициатив, направленных на повышение уровня тестирования на ВИЧ; они включают тесты с учетом индикаторных условий и национальные стратегии тестирования на ВИЧ, установление связей и удержание в системе наблюдения тех, кому уже поставлен диагноз. Кроме того, существуют инициативы специально направленные на сокращение передачи ВИЧ, такие как снижение вреда, использование презервативов, начало АРВТ и до-контактная профилактика [147].

Согласно приказу Минздравсоцразвития России от 17 марта 2006 г. №166, в настоящее время в Р.Ф используется клиническая классификация, предложенная В.И. Покровским в 2001 году [20]. Также широко используется международная классификация ВИЧ-инфекции, разработанная Центрами по контролю и профилактике заболеваний (CDC) от 1993 года [125]. Российская классификация отличается от классификации ВОЗ и CDC отсутствием иммунологических критерий прогрессирования ВИЧ-инфекции, возможностью отражения текущего состояния пациента (фаза прогрессирования и ремиссии) и наличием терминальной стадии.

1.2 Структура вируса иммунодефицита человека

ВИЧ делится на 2 группы, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, которые происходят от двух разных случаев межвидовой передачи – от шимпанзе и сажистого мангабея соответственно. Наиболее распространен в мире и на территории РФ является ВИЧ-1.

ВИЧ-1 имеет сферическую форму, от 100 до 110 нм в диаметре [131]. Оболочка ВИЧ построена из фрагментов мембраны клетки хозяина, в которой формируются вновь образованные вирионы. Такой путь морфогенеза вирусов называется почкованием (budding) [148]. Наружная мембрана вириона включает два собственных и связаны между собой нековалентной связью белки вируса: трансмембранный гликопротеин (gp41), и внешний гликопротеин (gp120). Высота их составляет 9-10 нм, диаметр ножки отростков — 8 нм, диаметр внешней головки — 15 нм [52]. Белок gp120 связывается с рецептором CD4 и отвечает вместе с белком gp41 за процесс слияния вирусного суперкапсида и клеточной мембраны [104].

При отпочковывании вирусной частицы от клетки капсид принимает продолговатую форму, вытягиваясь вдоль диаметра вириона. До заключения в оболочку он имеет округлую форму. Оболочка капсида построена из молекул белка p24. Между наружной оболочкой вириона и капсидом существует каркас толщиной 5-7 нм, который включает матриксный белок p17. Матриксный белок окружает внутреннюю структуру вириона – нуклеокапсид или сердцевину, которая объединяет капсидный белок p24, две молекулы геномной РНК и ферменты (обратная транскриптаза, интегразы и протеаза) и имеет в своем составе остаток миристиновой кислоты, который участвует в связи данного белка с липидными компонентами плазматической мембраны [47].

В процессе обратной транскрипции участвуют две молекулы геномной РНК, связанные 5'-концами между собой вместе с нуклеокапсидом, который обеспечивает упаковку вирионной РНК и состоит из генома вируса (в виде двух

цепочек РНК, связанных белками p7 и p9), комплекса ферментов (обратная транскриптаза, РНКазы H, интегразы, протеазы) и затравочной тРНК [57].

Геном ВИЧ-1 представлен двумя молекулами одноцепочечной плюс-РНК. Своими 5'-концами молекулы РНК связаны с нуклеокапсидным белком p7. В геноме ВИЧ-1 выделяют 3 структурных гена (*gag*, *pol*, *env*) и 6 регуляторных генов (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, *vpu*). Геном вируса кодирует 9 структурных и 6 регуляторных белков [52]. Гены *env*, *gag*, *pol* называют структурными, так как кодируемые ими белки входят в состав зрелого вириона и являются либо его структурными компонентами, либо ферментами.

Ген *gag* (англ. group antigen - групповой антиген) кодирует белок-предшественник p55 который в ходе процессинга расщепляется протеазой до структурных белков p17 (матриксный), p24 (капсидный), p7 (нуклеокапсидный) и p6 (также относится к нуклеокапсиду) [169]. Ген *env* (англ. envelope - оболочка) кодирует белок gp160, который в свою очередь расщепляется на функционально зрелые вирусные продукты – gp120 и gp41, которые распознают и связывают вирус с рецепторами клетки-хозяина [53]. Ген *pol* (англ. polymerase - полимеразы) кодирует ферменты, участвующие в вирусной репликации, включая обратную транскриптазу (p66/51, интегразы (p31) и протеазы (p10). Обратная транскриптаза обладает РНК-зависимой и ДНК-зависимой полимеразной активностью [52]. Ген *tat* (transactivator of transcription) отвечает за синтез активатора транскрипции (p14), усиливающего опосредованную РНК-полимеразой II элонгацию интегрированной вирусной ДНК, стимулирует транскрипцию провирусной ДНК и осуществляет транспорт РНК из ядра в цитоплазму клетки ; ген *rev* (regulator of virus) детерминирует синтез регулятора экспрессии вирусных генов (p19), который ускоряет выход вирусных РНК из ядра в цитоплазму клетки и переключает синтез регуляторных белков на синтез структурных протеинов; ген *vif* (viral infectivity factor) отвечает за синтез вирусного инфекционного фактора (p23), который способствует репликации вируса. Штаммы, лишённые гена *vif*, проникают в клетки-мишени, но не реплицируются в них, так как синтез

вирусной ДНК остается незавершенным; ген *nef* (negative early factor) определяет синтез белкового эффектора (p27/25), который усиливает инфекционные свойства вирионов; ген *vpr* (virus protein R) детерминирует синтез вирусного белка R (p15), повышающего репликацию вируса. Этот белок участвует в переносе вирусной ДНК в ядро инфицированной клетки; ген *vpu* (virus protein U) у ВИЧ-1 или *vpx* (virus protein X) у ВИЧ-2 кодирует синтез вирусного белка U (p16), способствующего деградации CD4 и повышающего высвобождение вирионов из клетки.

ВИЧ-1 разнообразен. Однако влияние вирусного подтипа на риск передачи недостаточно изучено, хотя существуют несколько аргументов в пользу подтипа С. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 влияет на генетические пути, используемые вирусом для развития устойчивости к АРВП. Новые данные о вариантах ВИЧ-1, циркулирующих в различных уязвимых регионах и группах населения, могут быть использованы для разработки стратегий специфической профилактики и лечения ВИЧ, а также для оценки диагностической эффективности новых молекулярно-диагностических тестов.

В настоящее время ВИЧ-1 делят на три независимые группы – М (main), О (outlier) и N (non-M/non O). В 2009 году была проанализирована последовательность ВИЧ, имеющая большее сходство с вирусом иммунодефицита обезьян, обнаруженным у диких горилл (SIVgor), чем с вирусом иммунодефицита шимпанзе (SIVcpz). Ученые поместили его в предполагаемую группу Р в ожидании выявления новых случаев у людей [1, 117]. Около 90% случаев заражения ВИЧ-1 относятся к группе М, и выделяют несколько субтипов (А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K), суб-субтипов (А1—А6 и F1—F2), многочисленные циркулирующие рекомбинантные формы (CRFs) и огромное количество уникальных рекомбинантных форм (URFs) распространены по всему миру [79,109].

Группа О является эндемичной для нескольких Западно-центрально-африканских стран и составляет от 1 до 5% всех случаев инфицирования ВИЧ-1

в этих районах. Группа N была выявлена лишь у небольшого числа лиц в Камеруне и других странах центральной Африки [137]. Согласно литературным данным, наиболее часто встречающиеся подтипы ВИЧ-1 в группе M являются A, B, C и в меньшей степени D, F, G. Подтипы H, J и K встречаются гораздо реже [60].

Распределение подтипов группы M соответствует следующим географическим закономерностям: Подтип A доминирует в центральной и восточной Африке, а также в странах восточной Европы, ранее входивших в состав Советского Союза. Подтип доминирует в странах Америки, Австралии, Южной Америки западной и центральной Европы, несколько стран Юго-Восточной Азии (Таиланд и Япония), Северной Африки и Ближнего Востока. Подтип C широко распространен в странах Африки к югу от Сахары, Индии и Бразилии. В странах Северной Африки и Ближнего Востока преобладал подтип D, подтип F в Южной и Юго-Восточной Азии. Подтип G преобладает в странах Западной и Центральной Африки, и вирусы подтипов H, J и K сосредоточены в Африке и Ближнем Востоке [63].

Рекомбинантные формы CRF01_AE наиболее распространены в странах Юго-Восточной Азии и Таиланде и BF-рекомбинанты в Бразилии [137]. В РФ в настоящее время преобладает подтип A1 (более 80% случаев инфекции). Встречается также подтип B и рекомбинантные формы AB, AG и CRF06_crx [7].

1.3 Встречаемость первичных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ и их клиническая значимость

Вирусная устойчивость – это способность вируса размножаться в присутствии противовирусной молекулы в концентрациях, подавляющих репликацию чувствительного вируса. Она возникает в результате компромисса между положительным эффектом мутаций в присутствии ингибитора и отрицательным влиянием этих мутаций на функцию фермента или

противовирусной мишени. Отбор мутаций включает гены, кодирующие антиретровирусные белки-мишени, обратную транскриптазу, протеазу, gp41 или интегразу. Модифицированные таким образом белки становятся нечувствительными к соответствующим АРВП. Появление мутаций связано с ошибками, вносимыми произвольным образом обратной транскриптазой, при этом в среднем на каждый произведенный вирион приходится одна мутация, а также с рекомбинацией. Затем эти устойчивые варианты возникают под давлением отбора.

С функциональной точки зрения вносимые мутации могут быть нескольких типов. Они нейтральны, когда они не влияют на репликативную способность вируса, и вредны, если они приводят к нарушению вирусной последовательности или изменению последовательности белков, которые больше не позволяют вирусу нормально реплицироваться. И наконец, эти мутации могут давать вирусу селективное преимущество, снижая его чувствительность к АРВП, не предотвращая его размножения, это мутации резистентности. Высокая степень рекомбинации ВИЧ-1 еще больше повышает способность к появлению вариантов, несущих мутации резистентности. Эти явления могут привести к неудаче лечения и к появлению вариантов с множественной лекарственной устойчивостью [138].

Таким образом, противовирусное средство не несет прямую ответственность за мутации, а осуществляет отбор на ранее существовавшие популяции мутантов. Комбинированная терапия, позволяющая одновременно воздействовать на несколько мишеней, снижает вероятность выбора вирусной популяции, которая с самого начала несет мутации, придающие устойчивость к различным молекулам, используемым в комбинации. Однако одна и та же мутация может придать устойчивость в большей или меньшей степени к нескольким молекулам одного класса: это называется перекрестной устойчивостью. Отсюда важность комбинирования молекул из разных терапевтических классов, обычно 2 НИОТ + 1 ИП или 2 НИОТ + 1 ННИОТ.

Установлено, что даже при эффективной тройной терапии, когда вирусная нагрузка в плазме крови ниже порога выявляемой, продолжает происходить более или менее значительная остаточная репликация. Одной из причин этого процесса является то, что не все молекулы могут проникать во все части организма в эффективных концентрациях [138]. Эти компартменты, которые являются убежищами для вируса, могут представлять собой преддверие резистентности, где субоптимальные концентрации позволяют более или менее быстро отбирать варианты, которые будут постепенно накапливать мутации резистентности.

Эта резистентность приведет к появлению штаммов, все более способных реплицироваться в присутствии молекул, пока не будет получен генотипический профиль резистентности, достаточно значимый для достижения соответствующего уровня репликации и, следовательно, детектируемой вирусной нагрузки в плазме крови и, таким образом, определения терапевтической неудачи. Скорость этого процесса будет зависеть от потенции используемых молекул, их способности к диффузии, а также от приверженности пациента и лекарственных взаимодействий. Наконец, лекарственная устойчивость может быть либо приобретена в результате давления отбора (приобретенная устойчивость), либо передаваться от человека к человеку (передаваемая устойчивость или первичная устойчивость).

Распространение лекарственной устойчивости ВИЧ-1 (первичной и вторичной) резко снижает эффективность АРВТ, что приводит к ограниченному выбору схем лечения, увеличению смертности, связанной с ВИЧ-инфекцией и её осложнениями [2].

Лекарственная устойчивость наблюдалась практически во всех странах, где проводилось тестирование [126]. Частоты её распространения существенно варьируются во времени и в зависимости от страны. В экономически развитых странах уровень первичной резистентности составляет от 12 до 23% (США: 19-23%, Франция: 14%, Нидерланды: 13%, Испания: 12%), и временные тенденции

кажутся довольно стабильными, за исключением Великобритании, где уровень передаваемой ЛУ достигла пик в 2002 году на уровне 14% и снизилась до 8-9% в 2009 году [106] и до 6,6% в 2013 году [152]. В проведенных исследованиях в Швейцарии у недавно ВИЧ-инфицированных пациентов, уровень передаваемой ЛУ составил от 2,2% до 15,5% с 2000 по 2013 год, что частично объяснялось введением новых лекарств, после чего произошло значительное снижение [167].

В странах с низким и средним уровнем дохода, уровень ЛУ возросла, учитывая широкое использование АРВТ [75]. Зимбабве, Никарагуа, Гватемала и Аргентина оказались выше критически определенного порога первичной ЛУ в 10% [165]. Исследования, которые проводились на выборке из 56 044 взрослых с ВИЧ-инфекцией из 64 стран с низким и средним уровнем дохода показали ежегодный рост передаваемой ЛУ на 23% в Южной Африке, 17% в Восточной Африке, 17% в Западной и Центральной Африке, 11% в Латинской Америке и Карибском бассейне и 11% в Азии [81]. Абсолютный прирост распространенности первичной ЛУ в период с 2015 по 2016 год рассчитывается от 0,3% в Азии до 1,8% в Южной Африке.

В РФ в настоящее время уровень первичной устойчивости ВИЧ к АРВП уже превышает 5% [10]. Для оценки уровня и структуры мутаций ЛУ ВИЧ был проведен анализ лекарственной устойчивости ВИЧ по различным регионам страны. На 01.12.2019 г. были изучены 2189 образцов от пациентов без опыта АРВТ [6]. Наиболее часто надзорные мутации и ЛУ были выявлены к препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) с низким генетическим барьером (NVP, EFV) [4, 5].

У пациентов с лекарственно-устойчивыми вариантами ВИЧ наблюдается прогрессирующее увеличение вирусной нагрузки и снижение количества клеток CD4+. Эта группа пациентов является источником распространения ЛУ ВИЧ за счет передачи устойчивых штаммов вируса среди населения и, таким образом, ЛУ постепенно становится серьезной проблемой общественного здравоохранения. Очевидно, что основной проблемой первичной резистентности

к ВИЧ является его потенциальное негативное влияние на лечение. Однако современные схемы лечения и препараты могут эффективно подавлять даже тот вирус, который устойчив к одному классу АРТВ.

Согласно рекомендациям ВОЗ, следует проводить тестирование на ЛУ ВИЧ у всех первично диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией, перед началом АРВТ в регионах, где уровень показателя первичной ЛУ ВИЧ превышает 5%. Выявление устойчивых вирусов позволяет оптимизировать эффективные схемы лечения [134].

В некоторых экономически развитых странах рекомендуется проводить тестирование на генотип ВИЧ всем пациентам сразу после постановки диагноза и перед назначением АРВТ [72]. В РФ этот тест не входит в перечень обязательных тестов, за исключением случаев острой ВИЧ-инфекции, если ВИЧ-инфекция произошла от партнера с резистентным штаммом [10].

Таким образом, на фоне широкомасштабного использования АРВП классов ингибиторов протеазы (ИП), нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) и ННИОТ и возрастающего уровня устойчивости к ним, необходимо проводить регулярный мониторинг за уровнем распространения первичной лекарственной устойчивости ВИЧ среди пациентов с ВИЧ-инфекцией, направленный на ограничения ее последствий для здоровья населения РФ (передача резистентных штаммов ВИЧ, неэффективности схем АРВТ и т.д.).

НИОТ делятся на группы с учетом нуклеозидных аналогов, на основе которых они получены: аналоги тимидина (зидовудин AZT, ставудин d4T); аналоги цитидина (эмтрицитабин FTC, ламивудин 3TC); аналоги аденозина (диданозин DDI); аналоги гуанозина (абакавир ABC).

Существует два биохимических механизма устойчивости к НИОТ. Первый механизм заключается в эксцизии нуклеозидов (разблокировка праймера), в результате которого осуществляется усиленное фосфоролитическое удаление терминальной цепи НИОТ с 3'-конца праймера после его встраивания в

вирусную ДНК за счёт реакции фосфорилирования, что приводит к разблокированию синтеза цепи. Мутации усиливающие такую активность разблокировки праймеров обеспечивают резистентность к зидовудину (AZT) и ставудину (d4T). Раньше известны как мутации тимидиновых аналогов (МТА), сейчас называются мутациями нуклеозидной эксцизии: M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y / F и K219Q / E. МТА участвуют в устойчивости ко всем НИОТ, за исключением ламивудина (ЗТС), но степень перекрестной устойчивости зависит от рассматриваемого НИОТ и количества накопленных мутации тимидиновых аналогов [68, 70].

Другой механизм устойчивости к НИОТ является дискриминацией, при которой фермент обратной транскриптазы (ОТ) избегает связывание НИОТ, сохраняя при этом способность распознавать аналогичный природный субстрат дезоксинуклеозидтрифосфат (дНТФ). K65R, L74V, Q151M и M184V вызывают снижение сродства ОТ к конкретным НИОТ без или с небольшим изменением сродства к соответствующему природным нуклеозидам [68, 70]. Следует отметить, что K70E связан с дискриминацией НИОТ, тогда как K70R связан с разблокировкой праймера.

Существует определенное взаимодействие между различными механизмами резистентности. Две дополнительные группы мутаций (Q 151 M-комплекс и инсерционные мутации в кодоне 69) обеспечивающие мультинуклеозидную резистентность действуют путем снижения интенсивности встраивания НИОТ в ДНК [31, 56], также многие облегчают разблокирование синтеза ДНК [25, 133]. Однако эти мутации встречаются реже, чем мутации тимидиновых аналогов (у 2-6% резистентных штаммов).

Нетимидиновые аналоги обеспечивают мутации с ограниченной перекрестной резистентностью: ABC и TDF вызывают мутацию K65R, которая обеспечивает резистентность к DDI, но не к AZT и d4T. Аналогично DDI и ABC вызывают мутацию L74V, обеспечивающую резистентность к зальцитабину, но не к TDF и тимидиновым аналогам. ABC вызывает мутацию M184V, которая

способствует резистентностью к ЗТС и FTC, снижает устойчивость к DDI и ABC, увеличивает чувствительность к AZT, d4T и TDF и замедляет возникновение резистентность к AZT, d4T и TDF [92]. При ранее проведенных клинических исследованиях было показано, что эффективность ABC незначительно снижается при наличии только мутации M184V [113]. Однако при сочетании M184V с K65R или L74V возможно существенное увеличение резистентности к ABC и DDI. При этом, наблюдается высокая устойчивость к тем же препаратам при комбинации M184V с не менее чем 3 МТА [80].

Мутации тимидиновых аналогов (МТА): Данные мутации отбираются во время лечения аналогами тимидина – AZT и d4T [77], снижая чувствительность к AZT и d4T, и, в меньшей степени, к ABC, DDI и TDF. Они снижают чувствительность к НИОТ, облегчая разблокировку праймера (механизм известный также как удаление нуклеотидов, пирофосфоролиз) [24, 41, 132, 168]. Классические МТА - M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F и K219Q/E - впервые были описаны у пациентов, получавших монотерапию AZT [42, 140].

Мутации тимидиновых аналогов встречаются в виде двух типов: Тип I включает в себя M41L, L210W и T215Y; и Тип II: D67N, K70R, T215F и K219Q/E [23, 51, 58, 111]. D67N также часто встречается с МТА I типа, между тем K70R и L210W сочетаются редко. МТА I типа оказывают большее негативное влияние на вирусологический ответ на схему, содержащую ABC, DDI или TDF, чем МТА II типа [37, 62, 67].

Несколько добавочных мутаций (полиморфизмы), включая ревертантные мутации T215, другие замены аминокислот в ряде позиций, соответствующих МАТ и добавочные мутации в других позициях, облегчают разблокировку праймера и способствуют снижению чувствительности к НИОТ. Селекция происходит на фоне приема аналогов тимидина (AZT и d4T).

У пациентов, первично инфицированных штаммами, содержащими T215Y/F, часто развиваются вирусы со следующими реверсивными мутациями [42]: T215C/D/S, от мутации нуклеотида TAT/C (Y) в TGT/C (C), GAT/C (D) или

ТСТ /С (S); Т215I/V, от мутации ТТТ/А (F) в АТТ/А (I) или GTT/A (V); и Т215Е от добавочной ревертантной мутации GAT/C (D) в GAA/G (D) [166]. Некоторые АРВ-наивные пациенты с ревертантами Т215 могут подвергаться повышенному риску развития вирусологической неудачи на схемах первого ряда, содержащих AZT или d4T, поскольку, в отличие от треонина дикого типа (Т), большинство ревертантов требуют только одна замена пары нуклеотидов для развития Т215Y/F. Однако наличие ревертанта при секвенировании образца от первично диагностированного пациента с ВИЧ-инфекцией обозначает что, пациент исходно был инфицирован вирусом, содержащим Т215Y/F [119]. D67G / E и K219N / R также отбираются вовремя лечения тимидиновыми аналогами (AZT и d4T) и, по-видимому, обеспечивают снижению чувствительности к НИОТ при сочетании с другими МТА. В отличие от K70R, K70E/G/Q/T/N/S способствуют повышению чувствительности к AZT и снижению к остальным НИОТ [76, 127].

E40F, E44D/A и V118I— добавочные мутации, которые обычно образуются в сочетании с МТА I типа, способствуют снижению чувствительности к большинству НИОТ [87, 101]. V118I является полиморфным и встречается у 2–3% пациентов, ранее не получавших АРВ; E40F и E44D/A не являются полиморфными.

K43Q/N, E203K, H208Y, D218E, K223Q/E и L228H/R - это плохо охарактеризованные неполиморфные мутации [38], которые обычно возникают в сочетании с множеством других МТА.

Прочие индивидуальные мутации тимидиновых аналогов (МТА): M41L обычно встречается в сочетании с Т215Y. Вместе M41L и Т215Y придают высокий уровень устойчивости к AZT и d4T и от низкого до среднего уровня чувствительности к АВС, DDI и TDF. D67N снижает в первую очередь устойчивость к AZT и d4T. Он также связан со сниженной устойчивостью к АВС, DDI и TDF, когда присутствует с другими МТА. K70R придает устойчивость среднего уровня к AZT и устойчивость низкого уровня к d4T и TDF. L210W обычно встречается в сочетании с M41L и Т215Y. Вместе M41L, L210W и Т215Y

обеспечивают высокий уровень устойчивости к AZT и d4T и средний или высокий уровень устойчивости к ABC, DDI и TDF. T215Y/F обеспечивает средний уровень устойчивости к AZT и d4T и низкий уровень устойчивости к ABC, DDI и TDF. K219Q/E снижает чувствительность к AZT и d4T, когда присутствует с другими TAM.

Мутации, возникающие при отсутствии аналогов тимидина: Наиболее распространенными мутациями, встречающимися у пациентов с вирусологической неудачей, получающих АРВТ, в которой применяется комбинация НИОТ, но не тимидиновых аналогов, является одна M184V или M184V в сочетании с K65R или L74V [69, 85]. M184V увеличивает чувствительность к AZT, d4T и TDF [88] и замедляет появление устойчивости к AZT, d4T и TDF. K65R снижает чувствительность к TDF, ABC и DDI почти в 2 раза, к ЗТС и ФТС примерно в 5-10 раз и чувствительность к d4T почти в 1,5 раза. K65R увеличивает чувствительность к AZT, за исключением случаев, когда это находится в комбинации с Q151M и редко встречается в комбинации с МТА. L74V вызывает резистентность умеренного уровня к DDI и ABC. L74V незначительно увеличивает чувствительность к AZT и TDF, и лечение AZT предотвращает развитие этой мутации. Напротив, лечение TDF не оказывает селективного воздействия на L74V [71]. M184V в сочетании с K65R встречается преимущественно у пациентов, принимающих схемы на основе TDF/ЗТС, и реже - схемы на основе ABC/ЗТС и TDF/ФТС. M184V в сочетании с L74V встречается преимущественно у пациентов, принимающих ABC/ЗТС или DDI/ЗТС/ФТС [118]. Это сочетание снижает чувствительность к ABC более чем в 5 раз и к DDI более чем в 2 раза. L74I снижает чувствительность ABC и DDI менее эффективно, чем L74V [71].

Реже выявляются мутации K65N, K65E, Y115F: K65N снижает чувствительность к TDF, ЗТС / ФТС, ABC и DDI [55]. Об этом сообщалось в основном у пациентов, получавших d4T или TDF плюс ЗТС / ФТС [149, 156]. Она также увеличивает чувствительность к AZT. K65E - чрезвычайно редкая и

крайне непригодная мутация [68]. Y115F снижает устойчивость к АВС примерно в 3 раза, но оказывает незначительной перекрестной резистентностью к TDF. В комбинации с K65R или Q151M, Y115F снижает чувствительность к АВС и TDF. Также встречаются редкие неполиморфные мутации K70E/G/Q/T/N/S. Они обнаружены у пациентов, получающих схемы, содержащие d4Т, TDF и АВС [139]. K70E / G и, K70Q/T/N/S вызывают снижение чувствительности к этим НИОТ, потенциально снижают устойчивость к ЗТС / FTC и повышают чувствительность к AZT [76].

Мутации множественной устойчивости к НИОТ: Q151M-комплекс наиболее часто возникает у пациентов, получающих аналогов тимидина плюс DDI, но может развиваться и при лечении AZT, d4Т с зальцитабином. Обычно возникает в сочетании с двумя или более мутациями, такими как A62V, V75I, F77L и F116Y [145]. Q151M повышает устойчивость к AZT, d4Т, DDI и АВС и приводит к низкому уровню устойчивости к ЗТС, FTC и TDF. В сочетании с двумя или более добавочными мутациями он вызывает резистентность среднего уровня к ЗТС, FTC и TDF [96].

Q151L – крайне редкая неполиморфная мутация, иногда предшествует возникновению Q151M [140,144]. Q151M обеспечивает среднюю / высокую устойчивость к AZT, DDI, d4Т и АВС и устойчивость низкого уровня к TDF, ЗТС и FTC. В комбинации с другими мутациями, такими как A62V, V75L, F77L и F116Y, Q151M вызывает высокую устойчивость к AZT, DDI, d4Т и АВС и промежуточную устойчивость к TDF, ЗТС и FTC.

Вставки аминокислот в 69 кодоне часто возникают на фоне нескольких МТА, что приводит к умеренной устойчивости к ЗТС и FTC и высокой устойчивости к другим МТА. Удаления аминокислот в 69 кодоне обычно происходят в сочетании с K65R и/или Q151M и способствуют снижению чувствительности ко всем НИОТ, кроме AZT [149].

Прочие мутации: T69D, неполиморфная мутация, которая в первую очередь снижает устойчивость к DDI и, возможно, к d4Т. Mutation T69N в

сочетании с МТА, позволяет снизить устойчивость к AZT, DDI и d4T. Мутация T69G встречается редко. V75T/M/A/S, неполиморфные мутации, которые отбираются при терапии НИОТ [136]. V75T снижает чувствительность к d4T и DDI [155]. V75M обнаруживается у пациентов, получающих схему, содержащую d4T и ЗТС, особенно у вирусов CRF01_AE субтипа [149] и снижает чувствительность к DDI, d4T и, возможно, AZT. Данных о значении V75S/A немного. N348I представляет собой неполиморфную добавочную мутацию которая приводит к 3-кратному снижению чувствительности к AZT и NVP, 2-кратному снижению чувствительности к EFV. Она встречается у 10% пациентов, получающих лечение схемами на основе НИОТ [98]. Она облегчает разблокирование праймера, снижая скорость деградации матрицы РНК [145]. G333E/D, A360T и A371V имеют сходные фенотипические характеристики, но встречаются примерно у 5% нелеченых и 10% пациентов, получавших НИОТ [7, 99, 115, 158]. Мутации K43E/Q/N, E203D/K, H208Y, D218E, H221Y, K223Q и D228H/R являются неполиморфными мутациями, которые отбираются вовремя лечения НИОТ, обычно сопровождают МТА, но оказывают слабое влияние на чувствительность и репликацию вируса [97]. Основные мутации устойчивости к нуклеозидным ингибиторам приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Мутации устойчивости ВИЧ к основным НИОТ [160]

	Другие мутации НИОТ					МТА						МЛУ	
	184	65	70	74	115	41	67	70	210	215	219	69	151
Consensus	M	K	K	L	Y	M	D	K	L	T	K	T	Q
ЗТС	VI	R										Ins	M
FTC	VI	R										Ins	M
ABC	VI	R	E	VI	F	L			W	FY		Ins	M
DDI	VI	R	E	VI		L			W	FY		Ins	M
TDF	***	R	E		F	L		R	W	FY		Ins	M
D4T	***	R	E			L	N	R	W	FY	QE	Ins	M
V	***	***	*	*		L	N	R	W	FY	QE	Ins	M

Примечания:

* – Увеличение чувствительности.

МТА – мутации тимидиновых аналогов.

МЛУ – Множественная лекарственная устойчивость.

Мутации, выделенные жирным красным шрифтом, ассоциированы с самыми высокими уровнями снижения чувствительности или вирусологического ответа на соответствующие НИОТ.

Мутации, выделенные жирным шрифтом, снижают чувствительность к НИОТ или вирусологический ответ.

Мутации, выделенные обычным шрифтом, способствуют снижению чувствительности только в сочетании с другими мутациями.

Добавочные мутации: K65N, K65R, K70GQ, K70E, T69D, V75MT, T215SCDEIV, T215YF, E40F, E44DA, D67GE, V118I, K219NR, K65R, Q151M, K65R.

В отличие от конкурентных НИОТ, ННИОТ являются неконкурентными ингибиторами обратной транскриптазы, связываясь с неферментативным гидрофобным карманом белка в непосредственной близости от участка присоединения к ней нуклеозидов., тем самым замедляя синтез цепочки кДНК [85]. Устойчивость возникает вследствие точечных мутаций, несколько изменяющих конформацию обратной транскриптазы в ННИОТ-связывающем карманом [28]. ННИОТ обладают низким генетическим барьером, поэтому одна точечная мутация достаточна для развития высокого уровня перекрестной резистентности к препаратам первого поколения этой группы (EFV, NVP) [66, 122].

Генетический барьер устойчивости к ННИОТ первого поколения низкий, что означает, что мутации устойчивости приобретаются быстро, как только обнаруживается вирусная нагрузка. Устойчивость к ННИОТ обусловлена отбором точечных мутаций, расположенных на краях их сайта связывания, который является гидрофобным карманом обратной транскриптазы. Эти мутации расположены в двух разных регионах (между кодонами 100–108 и 179–190). Некоторые мутации являются общими для ННИОТ первого поколения (NVP и EFV), за некоторыми исключениями, и для второго поколения (ETV и RPV). Мутации сильно снижают связывание ННИОТ с обратной транскриптазой и приводят к очень высокому уровню перекрестной резистентности с более чем 100-кратным увеличением 50% ингибирующей концентрации (IC50) к ННИОТ

1-го поколения (эфавиренз и невирапин). мутаций Y181C и Y188C сильно снижает связывание ННИОТ за счет изменения размера и формы связывающего кармана [102].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что отдельные точечные мутации, такие как 103N, оказывают ограниченное влияние на приспособленность вируса, но обеспечивают высокий уровень устойчивости и сохраняются в отсутствие лекарственного давления [102]. Низкий генетический барьер этих молекул приводит к быстрому отбору этих мутаций, которые, скорее всего, уже присутствуют в вирусной популяции до начала лечения. Все эти данные свидетельствуют о бесполезности сохранения этого класса при наличии мутаций или при отсутствии достаточно мощного лечения для поддержания вирусной нагрузки на недетектируемом уровне.

Этравирин и рилпивирин, две молекулы второго поколения, близки на структурном уровне которые обладают меньшей перекрестной устойчивостью с соединениями первого поколения. В то время как этравирин имеет высокий генетический барьер, рилпивирин, как считается, быстро отбирает мутации резистентности.

Мутации устойчивости к ННИОТ можно разделить на следующие категории [135, 161]:

1. Первичные мутации устойчивости к ННИОТ вызывают высокий уровень устойчивости к одному или нескольким ННИОТ и прежде всего развиваются на фоне терапии АРВ-препаратами класса ННИОТ;
2. Вторичные мутации устойчивости к ННИОТ обычно возникают в комбинации с первичными;
3. Малые неполиморфные мутации, возникают в сочетании с другими мутациями устойчивости к ННИОТ или изолированно и вызывают снижение чувствительности к ННИОТ;
4. Полиморфные дополнительные мутации, влияющие на эффективность других мутаций устойчивости к ННИОТ.

Первичные мутации устойчивости к ННИОТ: K103N/S/H/T/R/Q/E, V106A/M/I, Y181C/I/V, Y188L/C/H и G190A/S/E/Q – вызывают высокий уровень устойчивости к NVP и переменную выраженность устойчивости к EFV в диапазоне от примерно в 2 раза для V106A и Y181C, 6 раз для G190A, до 20 раз для K103N и более чем 50 раз для Y188L и G190S [35, 89]. В отличие от EFV, пациенты с какой-либо одной из первичных мутаций устойчивости к ННИОТ, терапия на основе этравирин является эффективной, за исключением от мутаций в 181 и, в меньшей степени, 190 позициях которые могут вызывать высокую устойчивость и таким образом снижать его терапевтический ответ [32, 78].

Вторичные мутации резистентности к ННИОТ: L100I, K101P, P225H, F227L/C/I/V, M230L/I и K238T/N возникают в сочетании с одной из первичных мутаций. L100I и K101P в сочетании только с K103N снижают чувствительность к NVP и EFV в 20 раз и к ETV примерно в 10 раз [100, 108, 150]. P225H и K238T/N обычно развиваются на фоне K103N, что приводит к снижению чувствительности к NVP и EFV [27]. F227L в основном развивается в сочетании с V106A, вызывая высокий уровень устойчивости к NVP и EFV [100]. F227C отбирается у лиц, получающих DOR, и редко у лиц, получающих ETR и RPV. Это обычно происходит в сочетании с другими мутациями. В зависимости от мутаций, с которой она встречается, вызывает умеренное или более высокое снижение чувствительности к NVP, EFV, ETR и RPV [36, 128]. F227I/V были отобраны на основе DOR *in vitro* [65]. V179F, F227C, L234I и L318F - редкие мутации. V179F встречается исключительно в сочетании с Y181C/I/V и вызывает увеличение уровня устойчивости к ETV с 5 до 10 раз с одним Y181C/I/V до более чем 100 раз [90]. Крайне редкая мутация F227C снижает чувствительность к ETV в 10-20 раз [115,128]. L234I в сочетании с Y181C вызывает пониженную чувствительность к ETV, DOR [65].

Малые мутации устойчивости к ННИОТ: A98G, K101E/H/R/N, V108I и V179D/E/F/I/L/T — наиболее распространенные мутации, приводящие к

снижению чувствительности к NVP и EFV в 2-5 раз [40]. K103R встречается примерно у 1% пациентов без опыта терапии в анамнезе. В изолированной форме он не приводит к устойчивости к ННИОТ, но в комбинации с V179D способствует снижению чувствительности к NVP и EFV в 15 раз [93]. V179D, A98G и V108I встречаются у ННИОТ-наивных пациентов [155]. Однако низкая исходная резистентность не влияет на вирусологический ответ на схемы первой линии терапии, содержащие ННИОТ первого ряда. [33]. В этом случае EFV и ETV предпочтительнее NVP [130].

Другие мутации устойчивости к ННИОТ: K101Q, I135T/M, V179I и L283I вызывают снижение чувствительности к NVP и EFV в 2 раза и иногда действуют в сочетании с первичными мутациями устойчивости к ННИОТ [102, 161]. Мутации L74V, H221Y, K223E/Q, Y234I, P236L, Y318F, I132M/L, E138K/A/G/Q/R, L228H/R и N348I возникают на фоне терапии ННИОТ, что приводит к небольшому снижению чувствительности к ним [113, 120]. Мутации V90I и V106I снижают вирусологический ответ на ETV, когда сочетаются с другими мутациями устойчивости к ННИОТ [153]. При этом существует мнение о том, что МТА I типа способствуют повышению чувствительности к ННИОТ [61]. Основные мутации устойчивости к ННИОТ приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Основные мутации устойчивости к ННИОТ [160]

	100	101	103	106	138	181	188	190	230
Consensus	L	K	K	V	E	Y	Y	G	M
DOR	I	EP		AMI		CIV	LHC	SE	L
EFV	I	EP	NS	AM		CIV	LCH	ASE	L
ETR	I	EP			AGKQ	CIV	L	ASE	L
NVP	I	EP	NS	AM		CIV	LCH	ASE	L
RVP	I	EP			AGKQ	CIV	L	ASE	L

Примечания: Мутации, выделенные жирным красным шрифтом, ассоциированы с самыми высокими уровнями снижения чувствительности или вирусологического ответа на соответствующие ННИОТ.

Мутации, выделенные жирным шрифтом, снижают чувствительность к ННИОТ или вирусологический ответ.

Мутации, выделенные обычным шрифтом, способствуют снижению чувствительности в сочетании с другими мутациями.

Добавочные мутации: V90I (ETR), A98G (NVP, EFV, ETR, RPV), V108I, V179T (ETR), V179L (RPV), P225H (EFV), K238T (NVP, EFV), L318F (NVP).

Все ИП вызывают отбор мутаций резистентности. Эти мутации в основном расположены в области субстрат-связывающего сайта протеазы. Изменения, вызванные этими мутациями, снижают сродство связывания между ферментом и ИП и/или субстратом, что приводит к снижению активности протеазы, а также к изменению репликативной способности.

В целом, резистентность к ИП является прогрессирующим явлением, требующим накопления нескольких мутаций. Поэтому генетический барьер для этого класса АРВП высок. Под давлением отбора ИП могут возникать два типа мутаций: первичные (большие) мутации и вторичные (малые) мутации. Основные мутации, такие как D30N, G48V, I50L/V, V82A/F/L/S/T и I84V [143], отбираются первыми и располагаются на активном сайте фермента. Большая мутация изменит конформацию активного сайта протеазы, препятствуя тем самым закреплению ИП. Они, как правило, оказывают пагубное влияние на способность к репликации резистентного вируса. Незначительные мутации возникают вторично и располагаются за пределами активного сайта. Эти мутации сами по себе не вызывают резистентности, но в сочетании с основными мутациями повышают уровень резистентности и частично компенсируют репликативную способность вируса.

В то время как первичные мутации достаточно специфичны для конкретного ингибитора, вторичные мутации являются общими для различных ИП. Например, отобрана I50L атазанавиром (ATZ) у наивных пациентов, *in vitro* не приводит к перекрестной резистентности с другими ИП. У пациентов, ранее получавших другие ИП, ATZ будет отбирать другие мутации, в частности мутацию I84V, ответственную за перекрестную резистентность к ИП. Другие ингибиторы протеазы, такие как индинавир (IDV), саквинавир (SQV) и лопинавир (LPV), могут отбирать мутации перекрестной резистентности, в

частности V82A/F/S/T, I84V/A и L90M, которые в сочетании друг с другом затрудняют выбор заместительной терапии [123].

Многие исследования показывают, что существует большая разница между ингибиторами протеазы, усиленными ритонавиром (RTV), и небустированными ингибиторами протеазы, с точки зрения частоты отбора мутаций резистентности у наивных пациентов [84]. Типранавир (TPV) отбирает у предварительно пролеченных пациентов мутации, также отобранные многими другими ингибиторами протеазы (например, V82L/T и I84V), ответственные за перекрестную резистентность [29].

Существует также некоторая степень перекрестной резистентности между фосампренавиром (FPV) и дарунавиром (DRV): DRV может отбирать мутации у предварительно пролеченных пациентов, которые также отбираются FPV (V32I, I47V, I50V, I54M/L, L76V, I84V), из-за их близкой химической структуры. Другое исследование показало, что использование FPV было связано, с более частым отбором мутаций, с более частым отбором мутаций, действующих на ответ к DRV [146].

Исследования показали, что существуют мутации в гене gag в сайтах расщепления или рядом с ними, которые, по-видимому, придают устойчивость к ИП в виде множественных мутаций; однако они не подвергаются систематическому анализу с помощью обычных генотипических тестов, которые определяют последовательность только вирусной протеазы. В некоторых случаях наличие одной мутации способствует неэффективности одного препарата из ИП, даже при его усилении ритонавиром [151].

Мутации, возникающие в позициях 30, 32, 33, 46, 47, 48, 50, 54, 76, 82, 84, 88 и 90 являются наиболее частыми и клинически значимыми позициями первичных мутаций резистентности к ИП. Они вызывают снижение чувствительности к одному или нескольким ИП [136]. В то время как многие мутации снижают чувствительность к нелфинавиру (NFV), применение NFV относительно противопоказано при лечении пациентов с вирусом содержащийся

следующие мутации: L23I, D30N, M46I / L, G48V / M, I84V, N88D / S и L90M из-за низкий уровень ожидаемого вирусологического ответа по сравнению с другими ИП [143]. I50L и N88S, и, в меньшей степени, I84V относительно противопоказаны для применения бустированого ATZ [90, 103]. G48V/M, I84V и L90M – относительное противопоказание к применению бустированого SQV [39, 155]. V32I, I47V/A, I54L/M и I84V – относительное противопоказание для использования бустированого FPV [162]. Мутации в позиции 82 и I84V – относительное противопоказание для применения бустированого IDV. V47A и V82L/T – противопоказание для применения усиленного LPV и бустированного TPV соответственно [29, 123]. В 6 из 13 позиций, ассоциирован отдельный вариант мутаций устойчивости к ИП, такие как L23I, L24I, D30N, V32I, L76V и L90M. В 11 положениях могут быть замены на различные аминокислоты, при этом особенно значительными являются изменения чувствительности к ИП в положениях 50, 54, 82 и 88, в зависимости от конкретной замена аминокислоты [135]. Не представлены в таблице 3 дополнительные мутации, такие как L33I, M46V, F53Y, I54S, G73C/A, V82M/C и N88T/G23,41,185.

Мутация 150L приводит к повышенной чувствительности ко всем ИП, кроме ATZ, 150V и I54L повышают чувствительность к TPV, N88S увеличивает чувствительность к FPV, а L76V увеличивает чувствительность к ATZ, SQV и TPV [157].

Мутации в позициях 10, 20, 36, 63 и 71 ассоциированы с повышением активности протеазы и таким образом компенсируют ее снижение в результате влияния первичных мутаций устойчивости [110]. Некоторые мутации, такие как L10F/R и A71I/L не встречаются в отсутствие терапии ИП [155]. К дополнительным мутациям устойчивости к ИП также относятся высоко полиморфные мутации I13V, D60E, I62V, V77I, I93L и множество более редких не полиморфных мутаций, таких как V11I, E34Q, E35G, K43T, K45I, K55R, Q58E, T74P/A/S, V75I, N83D, P79A/S, I85V, L89V, T91S, Q92K и C95F [49, 159].

Основные мутации устойчивости к ингибиторам протеазы приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Мутации устойчивости к ИП [160]

	30	32	33	46	47	48	50	54	76	82	84	88	90
Consensus	D	V	L	M	I	G	I	I	L	V	I	N	L
ATV/r		I	F	IL	V	VM	L	VTALM		ATFS	V	S	M
DRV/r		I	F		VA		V	LM	V	F	V		
FPV/r		I	F	IL	VA		V	VTALM	V	ATSF	V		M
IDV/r		I		IL	V			VTALM	V	AFTS	V	S	M
LPV/r		I	F	IL	VA	VM	V	VTALM	V	AFTS	V		M
NFV	N		F	IL	V	VM		VTALM		AFTS	V	DS	M
SQV/r						VM		VTALM		AT	V	S	M
TPV/r		I	F	IL	VA			VAM		TL	V		

Примечание: Мутации, выделенные жирным красным шрифтом, ассоциированы с самыми высокими уровнями снижения чувствительности или вирусологического ответа на соответствующие ИП.

Мутации, выделенные жирным шрифтом, снижают чувствительность к ИП или вирусологический ответ.

Мутации, выделенные обычным шрифтом, способствуют снижению чувствительности в сочетании с другими мутациями.

Добавочные мутации: L10F, V111, K20TV, L23I, K43T, F53L, Q58E, A71IL, G73STCA, T74P, N83D, L89V, L10RY, V11L, L24F, M46V, G48ASTLQ, F53Y, I54S, V82CM, I84AC, N88TG.

Для ралтегравира (RAL) описаны две различные основные профили, включающие либо мутацию N155H, либо мутацию Q148K / R / H, связанную с одной или несколькими вторичными мутациями. Другие менее частые профили также могут быть связаны с устойчивостью. Мутация Q148, по-видимому, встречается чаще и приводит к очень высокому уровню устойчивости. N155 встречается реже и также приводит к высокому уровню устойчивости с изменением репликативной способности вируса. Добавление вторичных мутаций к первичным мутациям частично восстанавливает инфекционность. Элвитегравиром (EVG) можно отбирать разные мутации, включая E92Q или

N155H. Между RAL и EVG наблюдается очень значительная перекрестная резистентность. Генетический барьер этого класса слаб, и одна мутация может сразу вызвать полную устойчивость к этим молекулам. Следовательно, необходимо быть очень бдительным и не допускать какую-либо остаточную репликацию при лечении ингибитором интегразы первого поколения.

При исследовании оценки долутегравира (DTG), предварительные результаты, полученные у неуспешно получавших предварительное лечение пациентов с генотипической устойчивостью как минимум к двум классам АРВП и ралтегравиру, показали эффективность после 11 дней лечения. Однако противовирусная эффективность снижается у пациентов, несущих вирус с мутацией Q148, по сравнению с вирусами с N155H или Y143C. 24-недельные результаты этого исследования показали очень хорошую эффективность долутегравира у пациентов, инфицированных вирусом, устойчивым к RAL и / или EVG [48].

Таблица 5 – Основные мутации устойчивости к ИИ [160]

	66	92	118	138	140	143	147	148	155	263
Consensus	T	E	G	E	G	Y	S	Q	N	R
BIC	K	Q	R	KAT	SAC			HRK	H	K
DTG	K	Q	R	KAT	SAC			HRK	H	K
EVG	AIK	Q	R	KAT	SAC		G	HRK	H	K
RAL	AIK	Q	R	KAT	SAC	RCH		HRK	H	K

Примечание: Мутации, выделенные жирным красным шрифтом, ассоциированы с самыми высокими уровнями снижения чувствительности или вирусологического ответа на соответствующие ИИ.

Мутации, выделенные жирным шрифтом, снижают чувствительность к ИИ или вирусологический ответ.

Мутации, выделенные обычным шрифтом, способствуют снижению чувствительности в сочетании с другими мутациями.

Мутации устойчивости к энфувиртиду (T20) были выявлены в области HR2 gp41, области связывания T20. Первые исследования *in vitro* выявили

мутации в трех кодонах 36, 37 и 38, затем клинические исследования у пациентов, не получавших T20, выявили другие мутации устойчивости в этом же регионе между аминокислотами 36 и 45 [121].

Таблица 6 – Основные мутации устойчивости к ингибиторам слияния [160]

	G	I	V	Q	Q	N	N
Enfuvirtide	36	37	38	39	40	42	43
	D	V	A	R	H	T	D
	S		M				
			E				

Устойчивость к ВИЧ может быть обусловлена индивидуальными генетическими особенностями пациента, то есть аллельное состояние генов влияет на устойчивость к ВИЧ и развитие СПИДа. Резистентность к ВИЧ-1 связана с полиморфизмами в гене CCR5, которые влияют на передачу и/или прогрессию заболевания. Наиболее значимой является делеция 32 пар оснований (CCR5del32). Рецептор хемокина 5 (CCR5) экспрессируется Т-клетками, макрофагами, дендритными клетками и клетками микроглии и участвует в процессе проникновения ВИЧ в клетки. в качестве ко-рецепторов, которые ВИЧ-1 использует для присоединения к клеткам до слияния вирусов и проникновения в клетки хозяина во время первичной передачи и на ранних стадиях инфекции [12]. Согласно данным ученых, гомозиготная мутация D32 в гене CCR5 предотвращает экспрессию CCR5 на поверхности клеток, обеспечивая устойчивость к инфекции CCR5-тропными штаммами ВИЧ.

С 1996 года было показано, что CCR5 служит ко-рецептором для наиболее часто передаваемого штамма ВИЧ-1, R5. Этот тип вируса преобладает на ранних стадиях инфекции и остается доминирующей формой у более чем 50% пациентов, инфицированных ВИЧ-1 на поздней стадии, однако штаммы R5 могут со временем эволюционировать в X4 (CXCR4-тропный штамм) по мере

прогрессирования заболевания. [30]. Таким образом, антагонисты этого рецептора являются ингибиторами проникновения и имеют потенциальное терапевтическое применение в лечении ВИЧ-инфекции. Эта информация способствовала разработке нового класса АРПВ, называемых антагонистами CCR5.

Ранние данные о резистентности к антагонистам CCR5 показывают, что ВИЧ-1 может развить резистентность путем отбора мутаций, вызывающих фенотипические и генотипические изменения (мутации в цикле V3 GP 120), без изменения тропизма вируса, который продолжает использовать корецептор CCR5. Было также показано, что в процессе лечения могут возникать популяции вирусов с тропизмом CXCR4, которые в меньшинстве и не обнаружены при введении лечения.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток от донора с CCR5D32/D32 в гомозиготном состоянии существенно устраняет ВИЧ-инфекции, передаваемой половым путем, при контакте с инфицированной кровью или при вертикальной передаче от матери к ребенку, предполагая, что целенаправленное разрушение CCR5 может привести к излечению от ВИЧ [142]. В начале 2007 года в Германии ученым удалось добиться ремиссии у ВИЧ-инфицированного пациента с острым миелоидным лейкозом после трансплантации стволовых клеток от донора, обладающего мутацией CCR5 Del32 (известен как Берлинский пациент) [43]. В 2020 г. так называемый «Лондонский пациент» присоединился к «Берлинскому пациенту» в качестве второго человека в истории, излечившегося от ВИЧ, что было достигнуто путем пересадки редких стволовых клеток, устойчивых к ВИЧ. Поэтому в настоящее время ведется интенсивная работа над инструментами редактирования генов CCR5 для разработки терапевтических методов лечения ВИЧ. Однако были также идентифицированы ВИЧ-инфицированные гомозиготные носители CCR5Del32. Далее было обнаружено, что инфекция у этих лиц была вызвана вирусом, связывающим корецептор CXCR4 [141]

Аллель CCR5 Del32 способствует полной или частичной резистентностью к ВИЧ-инфекции. Гетерозиготы по аллелю CCR5Del32 обладают только относительной резистентностью к фенотипу ВИЧ R5. У ВИЧ-инфицированных лиц, гетерозиготных по мутации CCR5Del32 прогрессирование заболевания развивается значительно медленно по сравнению с носителями гомозиготного генотипа по нормальному аллелю.

Мутации CCR5Del32 чаще встречаются у европеоидов, реже на Ближнем Востоке и в Индии и очень редко встречаются у коренных народов Африки, Дальнего Востока и американских индейцев. Мутация CCR5Del32 не была обнаружена среди населения Африки к югу от Сахары. В Северной Европе частота мутаций по этому гену составляет 15%, в Южной Европе – 4%. Гомозиготы по мутантному аллелю CCR5Del32 не были обнаружены у ВИЧ-1-инфицированных европеоидов, а частота гетерозигот на 35% ниже, чем у здорового населения. Частота встречаемости гетерозиготного генотипа значительно выше в подгруппе пациентов, живущих более 10 лет после заражения. Гомозиготный по мутации CCR5Del32 генотип часто обнаруживается среди некоторых групп лиц, контактировавших с ВИЧ, но не инфицированных. Носительство CCR5del32 оказывает немаловажное влияние на развитие ВИЧ-инфекции, в первую очередь снижая риска инфицирования ВИЧ, в том числе в дискордантных парах от 25 до 50% [86], способствуя снижению скорости прогрессирования ВИЧ-инфекции в СПИД на 30% и замедляя прогрессирование терминальной стадии СПИД на 40% [46].

Рецептор CCR2 наряду с рецептором CCR5 играет роль в ВИЧ-инфекции, преимущественно отвечает за специфический хемотаксис моноцитов под влиянием MCP-1 (CCL2). Наиболее распространённым генетическим вариантом гена CCR2 является rs1799864 (нуклеотидная замена G на A в позиции 190). Мутация CCR2-64I является ВИЧ-протективной, поскольку снижает риск проникновения ВИЧ в клетку, тем самым задерживая развитие СПИДа. Однако связь полиморфизма рецептора хемокина-2 (CCR2) с передачей ВИЧ или

прогрессированием заболевания остается спорной. Роль аллеля CCR2-64I в ВИЧ-инфекции может отличаться в разных популяциях из-за их генетического происхождения [13, 112]. Однако распространение аллельных вариантов CCR2 происходит независимо от генотипов CCR5del32

SDF-1 стимулирует активность гемопоэтических клеток, лимфоцитов, моноцитов и тимоцитов, а также опосредует адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов. Он экспрессируется стромальными, эндотелиальными, дендритными и другими клетками. Описано более медленное развитие ВИЧ-инфекции у гомозиготных носителей SDF1-A801 (A/A) но его протективный эффект носит рецессивный характер. Однако данные о влиянии SDF1-A801 на развитие заболевания противоречивы [11].

Полиморфизм C(-590)T в гене IL-4 усиливает продукцию IL-4. IL-4 который секретируется Th2-клетками снижает уровень CCR5 и повышает уровень CXCR4 на поверхности CD4+ клеток. Также было доказано что, мутантный аллель IL-4 C(-589)T TT, возможно, замедляет течение СПИД.

Ген SLC2A1 кодирует белок Glut1, белок, который благоприятствует переносу глюкозы через плазматическую мембрану клеток. У носителей доминантного генотипа GG (rs1385129) этого гена отмечается высокий риск негативного ответа на АРВТ по сравнению с гетерозиготными (GA) или рецессивными носителями (AA). Таким образом, этот полиморфизм может влиять на скорость развития СПИД у лечившихся и не лечившихся людей.

Ген APOBEC кодирует белок цитидилнуклеотиддезаминазы (APOBEC) который участвует в процессах модификации РНК, в противовирусном иммунитете. После проникновения ВИЧ-1 в организм человека белок APOBEC3G активируется и дезаминирует нуклеотиды цитидина, в результате чего цитидин превращается в урацил в составе мРНК/ДНК. Происходит накопление мутаций G/A и вирусная ДНК разрушается. Полиморфизмы этого гена не влияют на риск заражения ВИЧ-1. Однако, возможно, полиморфные аллели 186R/R связаны с прогрессированием СПИД и более ранней смертью.

Наряду перечисленных полиморфизмов существуют ряд других генов с протективным эффектом. Например, MIP1A+954, IL2+3896, ZNRD1 замедляют развитие СПИД. Также генами-кандидатами являются HLA-B*27, HLA-B*57, HLAB27, HLA-B57, DRB1*13, DQB1*6, MTHFRС677Т, MTHFR-A1298С, TNFα [8].

Генетический барьер, способность отбирать устойчивые вирусы, когда вирусная репликация не контролируется, является важным фактором в развитии резистентности и может сильно отличаться в зависимости от АРВП. На самом деле понятие генетического барьера включает в себя несколько понятий: количество нуклеотидных изменений, необходимых для получения мутации устойчивости, влияние этой мутации на уровень чувствительности к АРВ-препарату, влияние этой мутации на репликативную способность вируса, все это обуславливает скорость отбора устойчивых вариантов.

Также тип и количество нуклеотидных изменений могут влиять на отбор мутаций. Нуклеотидный переход (замена с А на G или с С на Т, т.е. пуриновое основание на другое пуриновое основание или пиримидиновое основание на другое пиримидиновое основание) происходит в 2,5 раза чаще, чем трансверсия нуклеотида (изменение с А на С или Т, от G на С или Т; то есть пуриновое основание на пиримидиновое основание и наоборот). Например, в положении 181, чтобы тирозин (Y) превратился в цистеин (C), требуется нуклеотидное изменение типа перехода TAT-TGT. С другой стороны, в положении 103 для превращения лизина (K) в аспарагин (N) требуется трансверсия AAA-AAC. Однако некоторые мутации требуют последовательного изменения двух нуклеотидов, как в случае мутации T215Y, которая обусловлена изменением первых двух оснований ACC на TAC, что соответствует двум трансверсиям. Речь также может идти о двух типах сопутствующих изменений: это случай мутации T215F ACC-TTC (трансверсия-переход) или T69N ACT-GAT (переход-трансверсия). Таким образом, все мутации не отбираются одинаково и с одинаковой частотой.

Высокая вариабельность между подтипами на нуклеотидном уровне также может оказывать значительное влияние на генетический барьер для резистентности. Влияние этой межсубтиповой генетической изменчивости хорошо иллюстрируется мутацией V106M, которая отбирается EFV. Хотя лечение с использованием схем, содержащих EFV широко распространено среди пациентов, инфицированных подтипом В, эта мутация никогда не была описана, пока не были проведены исследования подтипа С. Повышенная склонность подтипа С к приобретению мутации V106M обусловлена наличием дополнительного кодона Валина (GTG) в позиции 106 Т1 по сравнению с подтипом В (GTA). Генетический барьер ниже для подтипа С, поскольку количество мутаций, необходимых для приобретения V106M, составляет 2 перехода для подтипа В (GTA в ATG), в то время как для подтипа С (GTG в ATG) он составляет всего 1 переход.

Генетические вариации в мишени лечения могут влиять на чувствительность этого лечения, поэтому для данного АРВ-препарата генетический барьер является низким, если одной мутации в вирусном геноме достаточно, чтобы обеспечить высокий уровень фенотипической устойчивости к этой молекуле. Например, M184V для ЗТС или K103N и Y181C для ННИОТ первого поколения. С другой стороны, для АРВ-препарата с высоким генетическим барьером необходимо несколько последовательных мутаций, чтобы обеспечить высокий уровень резистентности. Это касается устойчивости к ИП/г и AZT (НИОТ), для которых требуется несколько мутаций в генах-мишенях, при условии достаточной концентрации в крови.

Поскольку АРВТ представляет собой комбинацию трех или более высокоактивных молекул, важно учитывать общий терапевтический барьер комбинации, а не генетический барьер каждой отдельной молекулы. Это защищает комбинацию от быстрого отбора мутаций устойчивости. Действительно, генетический барьер продукта может сильно зависеть от различных продуктов, связанных с ним.

Исследования показали превосходство некоторых терапевтических стратегий в отношении возникновения мутаций резистентности. В настоящее время многочисленные исследования показывают интерес к использованию ингибиторов интегразы (ИИ) в терапевтических стратегиях в северных странах. Действительно, несколько исследований показали неполноценность этих различных стратегий по сравнению с рекомендуемыми комбинациями для начала АРВ-терапии у наивных пациентов. Авторы частично объясняют эти результаты отсутствием быстрого развития резистентности в группах наивных пациентов, получавших ингибитор интегразы (ИИ), таких как DTG, с NVP и 3ТС [114]. Мета-анализ также продемонстрировал превосходство ингибиторов интегразы над другими терапевтическими схемами [105]. Однако при замене препарата с высоким генетическим барьером у пациентов, прошедших предварительную терапию с вирусологическим успехом, требуется осмотрительное использование.

Таким образом, изучение мутаций генома ВИЧ остается актуальной проблемой и поэтому вопрос о мутациях вызывающих лекарственную устойчивость требует дальнейшего изучения.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика пациентов

С целью изучения особенностей течения ВИЧ-инфекции, с учетом мутаций ВИЧ-1 проведено обследование 102 впервые диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией в период с 2018 по 2021 гг. Исследование проведено на кафедре инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Педиатрический Медицинский Университет» Минздрава России, клиническая база кафедры – СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина», СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 107» и ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.

В исследовании приняли участие 102 пациента (32 мужчины и 70 женщин) в возрасте от 22 до 81 года (средний возраст составил 41 ± 9 лет). Среди них 10 пациентов (7 мужчин и 3 женщины) наблюдались в СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 107» Красногвардейского района и 92 (25 мужчин и 67 женщины) пациента были госпитализированы и получали стационарное лечение в СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина». При анализе гендерной структуры пациентов, было отмечено, что различия по половому признаку в числе обследованных пациентов на амбулаторном и стационарном этапе наблюдения носили случайный характер ($p = 0.056$, тест χ^2).

Необходимые критерии для включения в исследование:

1. Пациенты с впервые диагностированной ВИЧ-инфекцией;
2. Заболевание вызвано ВИЧ первого типа;
3. Независимо от половой принадлежности;
4. Все стадии заболевания;
5. Пациенты в возраст от 18 лет;
6. Отсутствие приема АРВТ в анамнезе;

7. Уровень ВН >500 копий РНК/мл плазмы;
8. Письменное информированное согласие на участие в исследовании;

Для всех выявленных случаев с впервые диагностированной ВИЧ-инфекцией проведен клинический осмотр пациентов по всем системам и органам в динамике, определялась стадия ВИЧ-инфекции по Покровскому и по CDC с оценкой тяжести заболевания и выраженности клинических проявлений, а также сопутствующей патологии и осложнений.

Проведены общие лабораторные, иммунологические, вирусологические и молекулярно-биологические исследования с определением мутаций, ответственных за лекарственную устойчивость ВИЧ. Помимо лабораторных методов обследования, у всех пациентов уточнялись анамнестические, эпидемиологические данные заболевания и факторы риска заражения ВИЧ-инфекцией (пребывание в МЛС, внутривенная наркомания, злоупотребление алкоголем).

У всех обследованных пациентов отсутствовал в анамнезе опыт применения АРВТ. Все этапы исследования соответствуют законодательству РФ, международным этическим стандартам и нормативным документам исследовательских организаций, и были одобрены Этическим Комитетом при ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Таблица 7 – Распределение пациентов по полу и возрасту

Пол	Возраст (лет)					Всего
	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	>60	
Мужчины	5	10	13	4	0	32
Женщины	1	32	27	7	3	70
Итого	6	42	40	11	3	102

На до госпитальном этапе диагноз ВИЧ установлен у 40% обследованных пациентов. Среди них 30 больных (29,4%) были инфицированы парентерально при внутривенном введении наркотических веществ и 72 (70,6%) половым путем при гетеро и гомосексуальных контактах. Распределение путей заражения пациентов в зависимости от пола представлено в таблице таблица 8.

Таблица 8 – Распределение пациентов по полу и путям заражения

Пол	Путь заражения ВИЧ		
	Половой		Парентеральный
	Гетеросексуальный	Гомосексуальный	
Мужчины	19 (18,6%)	1(1%)	11 (10,8%)
Женщины	52 (51%)	0 (0%)	19 (18,6%)
Всего	71 (69,6%)	1 (1%)	30 (29,4%)

Среди обследованных пациентов, на первый план вышли пациенты выявлены по клиническим показаниям, с выраженным иммунодефицитом. Сроки заражения ВИЧ варьировались от нескольких месяцев до 19 лет (средний срок: $8,2 \pm 5,2$ лет). Выявлено что, 15,7% пациентов (n=16) заразились ВИЧ меньше года назад, у 7,8% пациентов (n=8) сроки инфицирования составили от 2 года до 3 лет, у 4,9% пациентов (n=5) – сроки инфицирования находились в диапазоне от 4 до 5 лет, у 10,8% пациентов (n=11) – от 6 до 7, у 8,8% пациентов (n=9) – от 8 до 9 лет и 52% (n=53) инфицировались более 10 лет назад. Данные о распределение пациентов по срокам и путям инфицирования представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Распределение пациентов по срокам и путям инфицирования

Путь инфицирования	Срок инфицирования (годы)						Всего
	≤1	2 – 3	4 – 5	6 – 7	8 – 9	≥10	
Гомосексуальный	0	1	0	0	0	0	1
Гетеросексуальный	11	6	3	7	4	40	71
Парентеральный	5	1	2	4	5	13	30
Итого	16	8	5	11	9	53	102

Все обследованные пациенты (n=102) подписали информированное согласие на участие в исследовании, составленное в соответствии со статьями 13, 19, 20, 22 Федерального Закона РФ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 г. № 323 – ФЗ.

2.2 Клинико-лабораторное обследование

Диагноз ВИЧ-инфекции был подтвержден при лабораторном обследовании методами ИФА и иммуноблота (ИБ) с использованием тест систем «Genscreen Ultra HIV Ag-Ab» (Bio-Rad, Франция), «Architect HIV Ag/Ab Combo» (Abbott Laboratories, Германия) «ИФА-БЛОТ ВИЧ-1» (ЗАО ЭКОЛАБ, РОССИЯ), «NEW LAV BLOT» («Diagnostics Pasteur», Франция).

При клиническом обследовании, у всех пациентов уточнялись анамнестические и эпидемиологические данные (сроки инфицирования, пути заражения и т.д.). Пациентам проводилось объективное обследование по всем системам и органам и измерение роста, веса и индекса массы тела (ИМТ). На основании данных клинико-лабораторного обследования, помимо врача-инфекциониста, пациентов также обследовали другие специалисты (невролог, офтальмолог, фтизиатр, гинеколог, дерматолог и др.) по показаниям.

Для оценки иммунного статуса обследованных пациентов определяли общее количество лимфоцитов, процентное и абсолютное числа CD3+, CD4+ и CD8+, а также индекс иммунорегуляции CD4/CD8. Исследования проводились методом проточной цитометрии на цитофлюориметре FACS Canto II (Becton, Dickinson, США).

Молекулярно-биологическое исследование проводили с целью выделения РНК ВИЧ с последующим определением уровня вирусной нагрузки методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью тест-системы АмплиСенс-ВИЧ-Монитор-FRT» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). Комплектом для экстракции РНК/ДНК из клинического материала (плазмы периферической крови) служил «РИБО-преп.» затем проводилась последующая реакция обратной транскрипции и количественное измерение её продукта.

Обследуемым пациентам также проводились следующие исследования:

1. Клинический и биохимический анализы крови;
2. Общий анализ мочи;
3. Молекулярно-биологические исследования, проведенные в плазме крови и в спинномозговой жидкости (СМЖ) (качественный и количественный методы ПЦР): ЦМВ, ВЭБ, ВПГ, токсоплазма, криптококк, микобактерия туберкулеза;
4. Бактериоскопические и культуральные исследования в биологических жидкостях (кровь, СМЖ, моча, мокрота, кал и др.)
5. Вирусологическое исследование плазмы крови для определения генотипа, мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ с помощью секвенирования и определения ВИЧ-протективных аллелей CCR5del32 и CCR2V64I методом пиросеквенирования.

По клиническим показаниям пациентам проводилось исследование на микроплазменный, орнитозный, хламидийный, листериозный антиген). Также был проведен скрининг других инфекционных заболеваний, который включал определение маркеров вирусных гепатитов В и С.

Клинический анализ крови с подсчётом форменных элементов (эритроциты, лейкоциты, кровяные пластинки) и измерением уровня гемоглобина проводился на гематологическом анализаторе PCE-90 («ERMA», Япония).

Исследование биохимических показателей крови включало определение уровней общего билирубина, общего белка, альбумина, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), проводилось фотометрическим и потенциометрическим способами на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbot Laboratories, США). Показатели коагулограммы (ПТИ) определяли на полуавтоматическом коагулометре Start 4 (Roche, Швейцария).

Антитела и антигены вируса гепатита В и С (HBsAg, anti-HBcore Ab (Ig M, Ig G) были выявлены методом ИФА с использованием тест-систем Вектогеп В – HBs – антиген и ВектоHBsAg-антитела (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Антитела к вирусу гепатита С определяли с помощью тест-системы Anti-HCVAb на иммунохимическом анализаторе Architect 2000 SR (Abbot Laboratories, США).

Инструментальное обследование пациентов стоял из следующих исследований:

1. Ультразвуковое обследование органов брюшной полости;
2. Рентгенография органов грудной клетки и придаточных пазух носа;
3. Фиброгастродуоденоскопию (ФГДС);
4. Электрокардиография (ЭКГ);

По клиническим показаниям выполнялись компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки и брюшной полости, магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга.

2.3 Молекулярно-генетическое исследование

Венозная кровь была взята у всех пациентов, по 8 мл у каждого. Цельную кровь помещали в вакуумные пробирки с антикоагулянтом К2ЭДТА (2 шт.) Кровь в пробирках подвергали центрифугированию при 1500 об/мин для отделения плазмы в течение 10 мин. Плазму для дальнейшего хранения замораживали при температуре -70°C .

Определение генотипа и мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ выполнялось с помощью секвенирования с использованием наборов для генотипирования. Материал от 100 больных исследовался в Лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИЭМ имени Пастера с помощью набора «АмплиСенс-HIV-Resist-Seq» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия).

Первым этапом было выделение РНК ВИЧ из плазмы крови пациентов, затем реакция обратной транскрипции и количественное определение ее продукта (эти этапы аналогичны процедуре определения вирусной нагрузки). Дополнительное тестирование проводилось только при обнаружении вирусной нагрузки более 500 копий/мл плазмы. Далее проводилась полимеразная цепная реакция (ПЦР), в ходе которой амплифицировался фрагмент ДНК (два раунда), состоящий из гена протеазы (кодоны 1-99) и двух третей гена обратной транскриптазы (кодоны 1-335). Продукты ПЦР секвенировали на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) методом капиллярного электрофореза в агарозном геле с использованием набора реагентов "ЭФ" вариант 200 (Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Россия). Концентрация ДНК в каждом исследуемом образце определялась путем сравнения интенсивности свечения полос маркера молекулярных масс. Количество ПЦР-продукта, вносимое в реакцию секвенирования, составляло 20 нг. Секвенирование гена

протеаза осуществлялось с 2-х праймеров и фрагмента обратной транскриптаза с четырех праймеров.

Анализ последовательности осуществлялся автоматически с использованием специального программного обеспечения «ДЕОНА» (АО «РМБит», Россия). Результатом проведенного анализа является информация о наличии обнаруженных мутаций, ассоциированных с возникновением лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к различным АРВП. Обследование всех пациентов на резистентность ВИЧ проводилось однократно.

Определение ВИЧ-протективных аллелей CCRΔdel32 и CCR2V64I проводили методом пиросеквенирования на пиросеквенаторе PyroMark Q24 (Qiagen, Германия), используя оригинальные праймеры.

2.4 Статистический анализ данных

Статистический анализ результатов проводился с использованием программных пакетов Microsoft Office Excel 2016, STATISTICA 10 и IBM SPSS Statistics 21.0 for Windows с последующим анализом результатов, включая одномерные и многомерные параметрические и непараметрические статистические методы.

Нормальность распределения непрерывных переменных в выборках проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилкса. Непрерывные переменные с нормальным распределением были представлены как "среднее ± стандартное отклонение", а когда распределение значений не было нормальным, уровни показателей описывались как «медиана (минимум - максимум)». Сравнение выборок проводилось с помощью непараметрического теста Манна-Уитни. Для всех статистических тестов значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Для оценки взаимосвязи между качественными признаками использовались точный тест Фишера и тест χ^2 .

ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКАЯ СИМПТОМАТИКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНО ВЫЯВЛЕННОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

3.1 Клиническая симптоматика пациентов с первично выявленной ВИЧ-инфекцией

Анализ клинических и лабораторных показателей у обследованных больных осуществлялся с учетом стадии ВИЧ-инфекции с использованием Российской классификации ВИЧ-инфекции В.И. Покровского (2001 г.), и классификации CDC (1993 г.)

У 6,9% пациентов (n=7) ВИЧ-инфекция впервые диагностирована в острой стадии заболевания (стадия 2Б и 2В) и 6,9% пациентов (n=7) в субклинической стадии (стадия 3). У оставшихся пациентов, ВИЧ-инфекция выявлена на стадиях вторичных заболеваний: у 23,5% пациентов (n=20) в стадии 4А, 8,8% пациентов (n=9) – в стадии 4Б, 51,9% (n=54) – в стадии 4В и у 2% пациентов (n=2) ВИЧ-инфекция впервые выявлена в терминальной стадии (стадия 5).

При распределении обследованных пациентов по классификации CDC 14,7% пациентов (n=15) относились к клинической стадии А, 43,1% пациентов (n=44) к стадии В и 42,2% пациентов (n=43) к стадии С. Установлено что 6,9% пациентов (n=7) соответствовали иммунологической категории 1; 19,6% пациентов (n=20) – категории 2 и 73,5% пациентов (n=75) – категории 3. Данные о распределении обследованных пациентов по классификации CDC представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Распределение обследованных пациентов по классификации CDC

Клиническая стадия	Иммунологическая категория			Итого
	1	2	3	
А	6 (5,9%)	5 (4,9%)	4 (3,9%)	15 (14,7%)
В	1 (1%)	14 (13,7%)	29 (28,4%)	44 (43,1%)
С	0 (0%)	1 (1%)	42 (41,2%)	43 (42,2%)
Всего	7 (6,9%)	20 (19,6%)	75 (73,5%)	102 (100%)

Среди пациентов с острой стадией (n=7), отмечалось что у части из них (n=4) ВИЧ-инфекции протекала мононуклеозоподобным синдромом (стадия 2Б), у оставшихся пациентов (n=3) зафиксированы герпетическая инфекция, кандидоз полости рта и пищевода (стадия 2В) [129].

В период субклинической стадии первично диагностированы 7 пациентов, которая протекала бессимптомно у 5, у остальных (n= 2) выявлена персистирующая генерализованная лимфаденопатия (ПГЛ) [17].

У большинства пациентов (n=) с 4А стадией наблюдался персистирующий орофарингеальный кандидоз (ОФК), иногда в сочетании с другими вторичными заболеваниями. У 9 больных в стадии 4Б развивались поражения внутренних органов (легкие, печень, почки) и периферической нервной системы (серозный менингит), наблюдалась распространенная форма опоясывающего герпеса (Herpes Zoster) чаще в сочетании с ОФК и снижением массы тела больше 10%. У пациентов в стадии 4В чаще всего было диагностировано кандидозное поражение внутренних органов, заболевания центральной нервной системы (ЦНС) (токсоплазмоз головного мозга, прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ), лимфома головного мозга (ГМ), ВИЧ-Энцефалопатия), пневмоцистная пневмония (ПЦП), туберкулез (ТБ), персистирующая цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ), рецидивирующая

герпетическая инфекция, реже всего выявилось генерализованный криптококкоз. У двух пациентов в стадии 5 было диагностировано ЦМВ-ретинит, ВИЧ-ассоциированный энцефалит и у одного - генерализованный туберкулез с поражением легких, головного мозга, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Обследование пациентов не выявило ни одного случая саркомы Капоши (СК), гистоплазмоза, кокцидиоидомикоза, криптоспоридиоза. Сведения о клинических проявлениях ВИЧ-инфекции у обследованных пациентов, приведены в таблице 11.

Таблица – 11 Клинические проявления, определяющие стадию ВИЧ-инфекции, у пациентов

Клиническая стадия ВИЧ-инфекции	Патология	Число пациентов	
		N	%
1	2	3	
		N	%
2 Б (n=4)	Мононуклеозоподобный синдром	4	3,9
2 В (n=3)	Простая герпетическая инфекция	1	1
	Кандидоз ротовой полости	1	1
	Микоз пищевода	1	1
3 (n=7)	Персистирующая генерализованная лимфаденопатия	2	2
4А (n=24)	Персистирующий орофарингеальный кандидоз	19	18,6
	Тромбоцитопения	4	3,9
	Рецидивирующая герпетическая инфекция (Herpes simplex)	2	2

1	2	3	
4Б (n=9)	Персистирующая цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ)	1	1
	Энцефалопатия	1	
	Herpes Zoster	1	1
	Орофарингеальный кандидоз	9	8,8
	Тромбоцитопения	3	2,9
	Туберкулез легких	2	2
	Тромбоцитопения	2	2
	Себорейный дерматит	1	1
	Лимфаденопатия неясного генеза	1	1
	Herpes Zoster	1	1
	Herpes simplex	1	1
	Серозный менингит, неустановленной этиологии	1	1
4В (n=53)	Орофарингеальный кандидоз	45	44
	Распространенный кандидоз ЖКТ	17	16,7
	Пневмоцистная пневмония (ПЦП)	13	12,7
	ВИЧ-Энцефалопатия	9	8,8
	Кахексия	8	7,8
	Токсоплазмоз головного мозга	8	7,8
	Прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ)	7	6,9
	Персистирующая ЦМВ-инфекция (ЦМВ-ретинит, ЦМВ-пневмонит)	7	6,9
	Бактериальная пневмония	6	5,9
	Лимфома	6	5,9
	Туберкулез легких (ТБЛ) и внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ)	6	5,9

1	2	3	
	Рецидивирующая герпетическая инфекция	5	4,9
	Криптококкоз	4	3,9
	Генерализованный атипичный микобактериоз (<i>Mycobacterium Avium</i>)	3	2,9
	ВИЧ-ассоциированная нефропатия	2	2
	Herpes Zoster, распространенная форма	2	2
	Менингоэнцефалит	1	1
	Серозный менингит	1	1
	Контагиозный моллюск	1	1
5 (n=2)	Орофарингеальный кандидоз	2	2
	Энцефалопатия	2	2
	Генерализованный туберкулез	1	1
	Пневмоцистная пневмония (ПЦП)	1	1
	Кахексия	1	1
	Кандидозный эзофагит	1	1
	ЦМВ-ретинит	1	1

У обследованных пациентов, сопутствующая патология была выявлена в 88,2% случаев (n= 90), у которых 4,9% пациентов (n=5) соответствовали острой стадии, 5.9% (n=6) клинической стадии 3, 22.5% (n=23) стадии 4А, 8.8% (n=9) стадии 4Б, 44% (n=45) стадии 4В и 2 % пациента (n=2) терминальной стадии. Сведения о сопутствующих заболеваниях у обследованных пациент представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Сопутствующие заболевания у пациентов

Заболевания	Количество пациентов	
	2	
	N	%
1		
Хронический вирусный гепатит С	45	44,1
Хронический вирусный гепатит В+С	8	7,8
Хронический вирусный гепатит В	2	2
Хронический гепатит неустановленной этиологии	3	3
Анемия смешанного генеза	28	27,5
Хронический гастрит	22	21,6
Хронический панкреатит	17	16,7
Желчнокаменная болезнь	8	7,8
Медикаментозная токсикодермия	7	6,9
Хронический дуоденит	6	5,9
Острый гастроэнтероколит	6	5,9
Хронический пиелонефрит	5	4,9
Гипертоническая болезнь	5	4,9
Острый отит, тубоотит	5	4,9
Токсическая нефропатия	4	3,9
Кардиомиопатия смешанного генеза	4	3,9
Токсический гепатит	4	3,9
Гнойный менингит, сепсис	3	2,9
Хронический холецистит	3	2,9
Язвенная болезнь	2	2
Нейросифилис	2	2
Спаечная болезнь толстой кишки	2	2
Миокардитический кардиосклероз	1	1
Метаплазия пищевода	1	1

1	2	
Псевдомембранозный колит	1	1
Хронический субатрофический ринит	1	1
Геморрагический цистит	1	1
Вторичный гнойный менингит	1	1
Флеботромбоз глубоких левой вен левой голени	1	1
Хронический бронхит	1	1
Инфекционный эндокардит	1	1
Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)	1	1
Сахарный диабет	1	1
Распространенный псориаз	1	1
Илеофemorальный тромбоз	1	1
Дисплазия шейки матки	1	1

Среди выявленных сопутствующих заболеваний, вирусные гепатиты (ВГ) оказались наиболее часто встречающимися, и были зарегистрированы у 57,8% пациентов (n=59). В этиологической структуре ВГ доминировал вирусный гепатит С (ВГС) у 76,3% пациентов (n=45), вирусный гепатит В (ВГВ) выявлен у 5% пациентов (n=3), вирусным гепатитом В+С у 13,7% пациентов (n=8) и этиология вирусного гепатита не установлена у 5% пациентов (n=3). Сведения о структуре вирусного гепатита представлены на рисунке 1.

Наблюдались 6,9% пациентов (n=7) с тремя коинфекциями (ВИЧ+ВГ+ТБ). Чаще всего пациенты с коинфекцией ВИЧ+ХВГ соответствовали 4В стадии. К остальным стадиям больные с коинфекцией распределялись следующим образом: 2Б стадия (1,9%), 2В (3,8%), бессимптомная (3 стадия): 7,7%, 4А (34,7%), 4Б (11,5%) и терминальная стадия: 1,9%.

Диагноз ВГС был подтвержден обнаружением антител к ВГС и лишь у одного пациента проведено обследование на РНК ВГС в сыворотке крови

методом ПЦР. Широкое распространение ко-инфицированных больных (ВИЧ+ВГ, ВИЧ+ВГ+ТБ) связано с различными социальными факторами, в том числе употреблением пациентами наркотических веществ (19,6%), и алкоголя (10,8%), также пребывание в местах лишения свободы (6,9%). Среди обследованных пациентов, доля неработающих лиц составила 63,7%. Социальные характеристики ко-инфицированных пациентов приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Социальные характеристики коинфицированных пациентов

Социальная характеристика	ВИЧ + ХВГ (n=59)		ВИЧ+ ХВГ+ ТБ (n=7)		Общая популяция больных (n=102)	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж
Пол	16 (27,1%)	43 (72,9%)	-	7 (100%)	30 (29,4%)	72 (70,6%)
Неработающие	42 (71,2%)		4 (57,1%)		65 (63,7%)	
Потребление инъекционных наркотиков (ПИН) в анамнезе	17 (28,8%)		2 (28,6%)		20 (19,6%)	
Злоупотребление алкоголем	7 (11,9%)		2 (28,6%)		11 (10,8%)	
Места лишения свободы (МЛС)	7 (11,9%)		-		7 (6,9%)	

При клиническом обследовании пациентов, коинфекция с гепатитом диагностирована в 57,8% случаев (n=59). У 52,5% пациентов (n=31) хронический вирусный гепатит протекал без специфических симптомов. При этом 27,1% пациентов (n=16) периодически жаловались на боли и тяжесть в правом

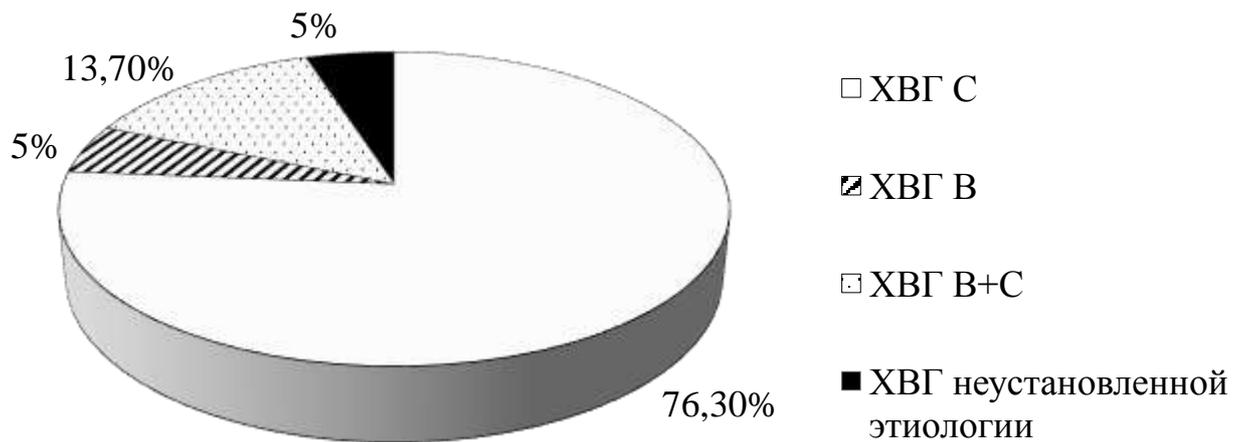


Рисунок 1– Этиологическая структура вирусного гепатита у обследованных пациентов (n=102)

подреберье, слабость, повышенная утомляемость. У 45,8% пациентов (n=27) отмечались признаки холецисто-панкреатита. Лишь у 3,4% пациентов (n=2) отмечалась иктеричность склер и кожных покровов, и доля пациентов с гепатоспленальным синдромом составила 66,1% пациентов (n=39). Следует отметить, что несколько клинических синдромов встречались одновременно у одних и тех же пациентов с коинфекцией ВИЧ+ХВГ. Сведения о клинических синдромах у обследованных коинфицированных пациентов с ВИЧ и ХВГ приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Клинические проявления у коинфицированных пациентов с ВИЧ и ХВГ

Клинические проявления	Число пациентов (n=59)
Болевой синдром	16
Астеновегетативный синдром	20
Диспепсический синдром	27
Желтуха	2
Выраженная гепатомегалия	18
Спленомегалия	21

В процессе наблюдения коинфицированных пациентов выявлено, что клинические проявления были более выраженными у пациентов с тремя коинфекциями (ВИЧ+ХВГ+ТБ) по сравнению с ВИЧ-инфицированными больными с ХВГ. Структура туберкулезного поражение у коинфицированных больных приведена с ВИЧ, ХВГ и ТБ в таблице 15.

Таблица 15 – Структура туберкулезного поражение у коинфицированных пациентов с ВИЧ, ХВГ и ТБ

	ТБ органов грудной клетки	Генерализованный ТБ
ВИЧ+ ХВГ+ ТБ (n=7)	5 (71,4%)	2 (28,6%)

Среди обследованных пациентов, выявлено прогрессирование заболевания вплоть до терминальной стадии. По данным клинико-лабораторного наблюдения в зависимости от исхода заболевания, зафиксирован летальный исход у 10,8% пациентов (n=11). Выявлено что все 11 пациентов с прогрессированием заболевания, закончившихся летальным исходом относились к клиническим стадиям 4В и 5 (9 и 2 пациентов соответственно). Для статистически верных

выводов проведен сравнительный анализ между полученными данными и данными полученными от пациентов, выписанных из стационара с улучшением – 43% (n=44) в стадии вторичных заболеваний (рисунок 2).

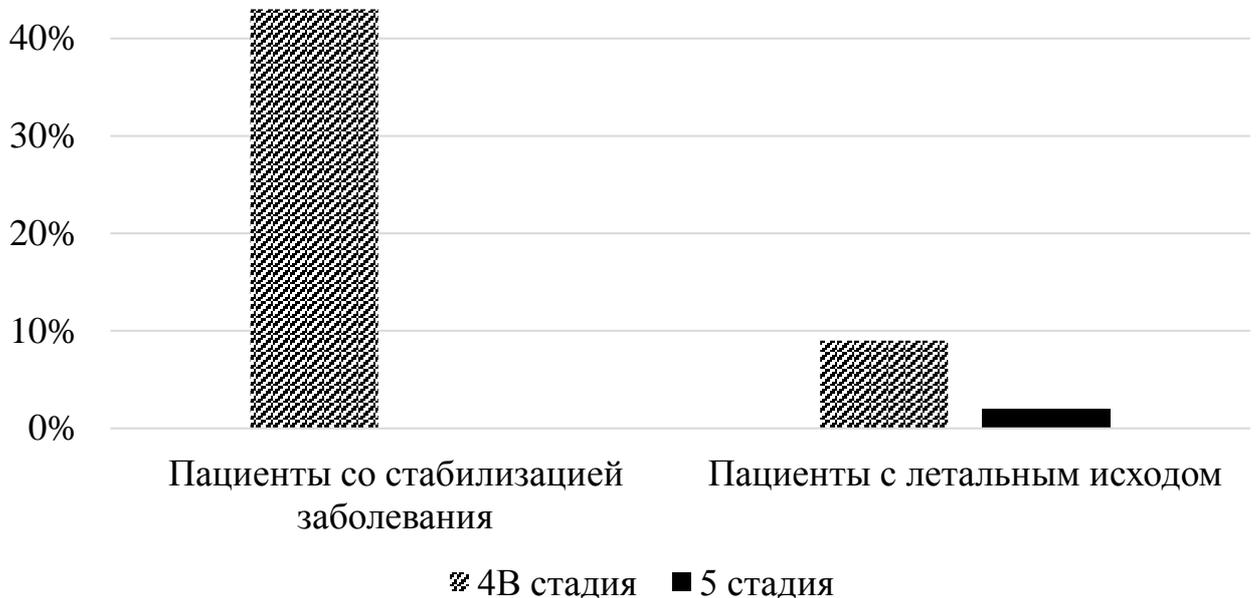


Рисунок 2 – Структура пациентов по стадиям в зависимости от исхода заболевания.

Согласно результатам исследования, большинство пациентов относилось к стадиям вторичных заболеваний (4 и 5 стадии), что доказывает позднюю диагностику у пациентов с ВИЧ-инфекцией. При этом, ВИЧ-инфекция в стадии 5 выявлялась достоверно реже по сравнению со стадией 4В ($p < 0,001$).

3.2 Лабораторные проявления ВИЧ-инфекции у обследованных пациентов

Результаты лабораторного обследования показали выраженное снижение уровня CD4+ клеток менее 200 кл/мкл крови (иммунологическая категория 3) у двух из больных в острой стадии (2Б и 2В). У трех остальных пациентов в этой стадии показатели относились к иммунологической категории 2 ($200 \text{ кл/мкл} < \text{CD4} < 500 \text{ кл/мкл}$). При этом у всех пациентов в этой стадии была отмечена

высокая вирусная нагрузка (средний уровень вирусной нагрузки составил $5244942,9 \pm 1626378$ копий/мл плазмы).

Среди пациентов, относившихся к латентной стадии ВИЧ-инфекции (стадия 3), у 2% (n=2) отмечалось выраженное снижение количества CD4+ клеток, у 2% (n=2) умеренное (среднее количество CD4+ клеток составило $402,3 \pm 96,2$ кл/мкл, а средний уровень вирусной нагрузки составлял $7899,2 \pm 3069,1$ копий/мл плазмы). У большинства пациентов, относившихся к стадиям 4 и 5 количество CD4+ клеток, составляло менее 500 кл/мкл крови. Серединными показателями или медиана составили 195,8 (8 – 1387) кл/мкл и 365299 (450 – 4779270) копий/мл для пациентов в стадии 4А, 29,7 (1 – 424) кл/мкл и 686044 (456 – 10000000) копий/мл плазмы для пациентов в стадии 4В вместе с 5.

Уровень вирусной нагрузки был выше почти в 5 раз у пациентов в стадии вторичных заболеваний, чем в подгруппе пациентов в субклинической стадии. Данные иммунологических показателей (CD4+ клеток, вирусная нагрузка) в зависимости от клинической стадии ВИЧ-инфекции внесены в таблице 16.

Таблица 16 – Иммунологические показатели (CD4+ клеток, вирусная нагрузка) в зависимости от клинической стадии ВИЧ-инфекции

Клиническая стадия ВИЧ-инфекции	CD4+ клетки		РНК ВИЧ-1
	среднее \pm стандартная ошибка или медиана (диапазон)		среднее \pm стандартная ошибка или медиана (диапазон)
	клеток/мкл	%	копий/мл плазмы
2Б+2В (n=7)	$495,3 \pm 186,2$	$32,1 \pm 7$	$5244942,9 \pm 1626378$
3 (n=7)	$402,3 \pm 96,2$	$17,4 \pm 4,6$	$7899,2 \pm 3069,1$
4А (n=24)	195,8 (8 – 1387)	$18,1 \pm 2,2$	365299 (450 – 4779270)
4Б (n=9)	$109 \pm 34,5$	$10 \pm 3,3$	1235695 (364918 – 10000000)
4В+5 (n=55)	29,7 (1 – 424)	5,74 (0,4 – 33,9)	686044 (456 – 10000000)

Генотип ВИЧ-1 был определен у 100 обследованных пациентов (были исключены из дальнейшего исследования 2 пациента с уровнем РНК ВИЧ менее 500 копий /мл плазмы согласно критериям включения). По результатам анализа подтип А6 доминирует и составляет 97% случаев выявления. На втором месте остался подтип В и составлял 2%, также 1% был связан с рекомбинантной формой CRF_03AB. Результаты определения генотипа ВИЧ-1 приведены в таблице 15.

Таблица 17 – Результаты определения генотипа в зависимости от путей инфицирования

Подтип ВИЧ	Путь инфицирования			Итого
	Половой		гемо- контактный	
	гетеро- сексуальный	гомо- сексуальный		
А6	67 (67%)	1 (1%)	29 (29%)	97 (97%)
В	1 (1%)	0 (0%)	1 (1%)	2 (2%)
CRF_03AB	1 (1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)

В результате исследования, вирусы 67% пациентов (n =67) заражавшихся половым путем при гетеросексуальных контактах относились к генотипу А6.

ГЛАВА 4 АНАЛИЗ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У ПЕРВИЧНО ДИАГНОСТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

4.1 Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ у пациентов

Для изучения характера, спектра и частоты распространенности мутаций ВИЧ-1 у обследованных пациентов, приводящих к развитию резистентности к АРВП было проведено секвенирование вируса, выделенного из плазмы у 100 пациентов (таблица 16). Чаще всего обнаружили мутации А62V (4% пациентов, n=4), К70R/Е (2% пациентов, n=2), Е138А (2% пациентов, n=2) и V106I/M (2% пациентов, n=2). Мутации в других сайтах встречались в единичных случаях. Все случаи выявленных мутаций ВИЧ соответствовали к вирусам подтипа ВИЧ-1 А6 (IDU-А).

Достоверная ассоциация мутаций в сайтах 62 и 179 гена ОТ не была выявлена ($p=0,1554$, точный тест Фишера). Мутация А62V встречалась изолированно у двух пациентов, инфицированных 1- гетеросексуальным путем и 1- парентеральным путем, также в сочетании с V179D у гомосексуала. Мутацию А62V имели всего 4 из 11 пациентов, а V179D - 1 из 11.

Мутации V106I/M и К70R/Е были обнаружены у больных с гетеросексуальным путем инфицирования ($p=0.2482$, тест χ^2). Согласно различным данным литературы, среды всех выявленных мутаций в нашем исследовании, M184V, T69T_I, L74I, V106I, G190S обладают более клиническую значимость.

Среди обнаруженных мутаций устойчивости к НИОТ, А62V является дополнительной мутацией и обычно встречается в сочетании с Q151M. D67N, К70R (Е), К219Q относятся к классическим мутациям тимидиновых аналогов и M18V, L74I возникают в отсутствие аналогов тимидина. Наличие ревертанта T215L предполагает, присутствие у пациента T215Y / F. как неосновного

варианта. Некоторые пациенты с ревертантами T215, ранее не принимавшие АРВП, могут иметь повышенный риск развития вирусологической неудачи при схемах первой линии.

Среди обнаруженных мутаций устойчивости к ННИОТ резистентности, V106I(M), G190S относятся к первичным мутациям устойчивости и V179D к малым мутациям устойчивости к ННИОТ.

Таблица 18 – Частота выявленных мутаций в гене обратной транскриптазы ВИЧ-1

Мутация	Количество (%) пациентов
A62V	4(4%)
T69T_I	1(1%)
T215L	1(1%)
K219Q	1(1%)
K70R(E)	2(2%)
D67N	1(1%)
L74I	1(1%)
M184V	1(1%)
E138A	2(2%)
V179D	1(1%)
V106I(M)	2(2%)
G190S	1(1%)

При исследовании гена протеазы ВИЧ-1 выявлен в единственном случае мутация M46I в комбинации с E138A (мутация устойчивости к ННИОТ). M46I относится к первичным мутациям устойчивости к ИП. Она представляет собой непалиморфная мутация которая и обычно встречается отдельно или в комбинации с другими мутациями. Результаты о выявленных мутаций в гене протеазы представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Частота выявленных мутаций в гене протеазы ВИЧ у обследованных пациентов

Мутация	Количество (%) пациентов
M46I	1(1%)

Проведен анализ уровня распространения выявленных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ в зависимости от характеристик пациентов (пол, путь заражения). Результаты исследования показали, что достоверной зависимости между распространением выявленных мутаций и полом ($p=0.2165$, тест χ^2), путем заражения ($p=0.6404$, тест χ^2) выявлено не было.

4.2 Клинико-лабораторные показатели с учетом мутаций ВИЧ

При сравнении уровней лабораторных показателей, у пациентов, имеющих и не имеющих отдельные мутации в гене обратной транскриптазы (A62V, K70R(E), E138A и V106I(M)), наблюдения были статистически не достоверны ($p>0,05$). Это обозначает что, не существует статистически значимое различие между лабораторными показателями (вирусная нагрузка, количества и процент CD4+ клеток,) в зависимости от присутствия выявленных мутаций.

Таблица 20 – Сравнение уровней лабораторных показателей в зависимости от наличия мутаций у пациентов

Показатель		Мутация Отсутствует	Мутация присутствует	Достоверность отличий (p)
1		2	3	4
A62V				
CD4+	клетки /мкл	161,2 ± 50,2 (N=96)	64 ± 29 (N=4)	0,423512
	%	20 ± 7,3 (N=96)	5,3 ± 2,1 (N=4)	0,170052
ВН, копий/мл		2641405,3±1069690,7 (N=96)	635969,3±251396,2 (N=4)	0,744861
K70R(E)				
CD4+	клетки /мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	17,4 (8,6-26,2) (N=2)	1,000000
	%	21,5 (12,8-30,2) (N=98)	4,7 (2-7,4) (N=2)	0,980357
ВН, копий/мл		5607647 (1215294-10000000) (N=98)	488239,5 (171108-8055371) (N=2)	0,467647
E138A				
CD4+	клетки /мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	361,4 (142,7-580) (N=2)	0,142938
	%	21,5 (12,8 – 30,2) (N=98)	37,6(34,2-41) (N=2)	0,075869
ВН, копий/мл		2161990 (1589596-2734384) (N=98)	792981.5 (23520-1562443) (N=2)	0,631143

1	2	3	4	
V106I(M)				
CD4+	клетки /мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	9(8,6-9,4) (N=2)	0,066617
	%	21,5 (12,8-30,2) (N=98)	1,6 (1,2-2) (N=2)	0,284168
ВН, копий/мл		2161990 (1589596-2734384) (N=98)	1158043,5 (761629-1554458) (N=2)	0,482872

Однако при сравнении пациентов в зависимости от клинических стадий ВИЧ-инфекции и наличия выявленных мутаций, достоверность различий уровня вирусной нагрузки не выявлена.

Таблица 21 – Вирусная нагрузка в зависимости от наличия мутаций А62V у пациентов в отдельных стадиях ВИЧ-инфекции (4А, 4Б и 4В)

Клиническая стадия	Есть мутация	Нет мутации	Достоверность отличий (p)
4А	657292.6±326864.8 (N=21)	250555 (N=1)	–
4Б	1395076.5 (364918-10000000) (N=8)	1038411 (N=1)	–
4В	2181790.6±563315.1 (N=50)	627455.5 (154300-1100611) (N=2)	0,523602

Мутация А62V была обнаружена у пациентов с 4 стадией заболевания (стадии 4А и 4В) и была характерна для образцов с подтипом А6.

Таблица 22 – Распределение мутации А62V по клиническим стадиям ВИЧ-инфекции и генотипам ВИЧ

Стадия ВИЧ-инфекции	Количество образцов с мутацией А62V	Генотип ВИЧ
Стадия 4А	1	А6
Стадия 4В	3	А6

Таким образом, результаты исследования не выявили мутации ВИЧ, ассоциированные с клинически значимой резистентностью к АРВП.

4.3 Частота первичной резистентности к антиретровирусным препаратам

Согласно рекомендациям ВОЗ, оценка структуры и уровня ЛУ осуществлялась с помощью базы данных Стэнфордского университета HIVDB Algorithm Version 8.9-1 (<https://hivdb.stanford.edu/>) у пациентов перед лечением [166]. Оценивалась ЛУ к препаратам первой линии терапии (ИП: DRV, LPV, ATV; НИОТ: ABC, AZT, D4T, DDI, FTC, 3TC, TDF; ННИОТ: NVP, EFV)

Пациентов хотя бы с одной мутацией устойчивости составили 11% (n=10). У 10% пациентов (n=10) были выявлены мутации, ассоциированные с устойчивостью хотя бы к одному АРВ-препарату из любого класса первой линии терапии. Мутации устойчивости к ННИОТ были обнаружены у 5% пациентов (n=5). Мутации устойчивости к НИОТ и ИП встречались реже и были обнаружены у 4% (n=4) и 1% (n=1) пациентов, соответственно. У 2% пациентов (n=2) были обнаружены мутации, ассоциированные с устойчивостью к нескольким классам АРВ-препаратов. Доля пациентов полностью не чувствительных к НИОТ и ННИОТ составила по 1% для каждой группы.

Результаты проведённой оценки частоты возникновения мутаций, ассоциированных с устойчивостью к АРВП показали, что чаще всего ЛУ присутствовала к препаратам класса ННИОТ — у 5 пациентов (5%) к этравирину

(ETV), у 5% к рилпивирину (RPV), у 3 (3%) к невирапину (NVP) и у 2 пациента (2%) к эфавирензу (EFV) и 2% к доравирину (DOR). Доранавир является новым препаратом класса ННИОТ выходящий в составе комбинированной АРВТ (таблетки "все в одном", режим приёма – раз в день), который разработан компанией Merck (Университет Томаса Джефферсона, Филадельфия, США). По словам его исследователя, доранавир имеет уникальный профиль резистентности и сохраняет активность при возникновении характерных для ННИОТ вирусных мутаций.

Меньшая частота возникновения резистентности была выявлена к препаратам класса НИОТ — у 4(4%) обследованных пациентов возникла ЛУ к зидовудину (AZT), у 3% к абакавиру (ABC), у 3% к тенофовиру (TDF), у 2% к эмтрицитабину (FTC), 1% к ламивудину (3TC), 1% к диданозину (DDI) и 1% к ставудину (D4T). Реже устойчивость была обнаружена к препаратам класса ИП. Так, ЛУ была выявлена к двумя препаратам из изученного перечня класса ИП — атазанавиру (ATV) и лопипавиру (LPV) у одного пациента. Полные сведения о выявленных мутациях с АРВП, к которым есть устойчивость представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Выявленные мутации с АРВП, к которым есть устойчивость
(n=100)

Мутация	%	Комментарий	АРВП, к которым есть устойчивость
Мутации устойчивости к ИП			
M46I	1%	Единственный случай, совместно с МУ к ННИОТ E138A	ATV, LPV
Мутации устойчивости к НИОТ			
A62V	4%	Не вызывает устойчивости сама по себе	
T69T_I	1%		ABC, AZT, TDF, FTC, DDI, D4I, 3TC
T215L	1%	Обе у одного пациента	ABC, AZT, TDF
K219Q	1%		
K70R(E)	2%	У одного пациента, совместно с МУ к ННИОТ V106M, G190S. Множественная устойчивость	AZT
D67N	1%		ABC, AZT, TDF, FTC, 3TC
L74I	1%		
M184V	1%		
Мутации устойчивости к ННИОТ			
E138A	2%		ETR, RPV
V179D	1%		EFV, ETR, NVP, RPV
V106I(M)	2%	У пациента с МУ к НИОТ D67N, K70E, L74I, M184V (множественная устойчивость)	DOR, ETR, NVP, RPV
G190S	1%		DOR, ETR, NVP, RPV, EFV

4.4 Оценка распространённости ВИЧ-протективных аллелей среди обследованных пациентов

При оценке распространённости ВИЧ-протективных аллелей среди обследованных пациентов по обоим протективным вариантам изучаемых генов (CCR5/CCR5del32 и CCR2/CCR2V64I), не обнаружено ни одного протективного аллеля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди обследованных пациентов 68,6% составили женщины и 31,4% - мужчин с наиболее пораженной возрастной группой: 30 – 39 гг. с преобладанием полового пути инфицирования в 70,6% пациентов и 29,4% – при внутривенно употреблении наркотических веществ. Данная эпидемиологическая картина соответствует с национальной эпидемиологической ситуацией по ВИЧ в Российской Федерации на 2020 г. [21].

Согласно распределению по стадиям ВИЧ-инфекции преобладала стадия вторичных заболеваний (4В и 5 стадии: 86,3%, n=88) на фоне умеренной и выраженной иммуносупрессии. Коинфекция была обнаружена у 78,8% (n=69), причем самой высокой коинфекцией был гепатит С (51%), за которым следовали гепатит В (9,8%) и туберкулез (ТБ) 6,9%. Общность путей передачи при ВИЧ и парентеральных вирусных гепатитах способствует развитию сочетанной инфекции. Уровень распространенности ВГС-инфекции среди ВИЧ-инфицированных лиц составляет от 30 до 60%, а среди потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) показатели могут превышать 80% [15, 22].

Развитие иммунодефицита, обусловленное ВИЧ-инфекцией, приводит к ускорению течения заболеваний печени, в том числе ВГС, и таким образом способствует ухудшению тяжести и прогрессирования этого заболевания. У пациентов с коинфекцией ВИЧ и ВГС, отмечаются более выраженные воспалительные процессы и быстрое наступление фиброза ткани печени по сравнению с пациентами, инфицированными только ВГС.

Коинфекция ВИЧ / ВГС является неблагоприятным фактором развития декомпенсации и летальности у пациентов с циррозом печени. По литературным данным различных авторов, цирроз печени развивается у 25% среди потребителей психоактивных веществ (ПАВ), инфицированных с ВИЧ и ВГС в течение 15 лет с момента инфицирования. Для категории ВИЧ-отрицательных лиц, этот показатель составляет 6,5%. [9]. Наличие ВГС отрицательно влияет на

проводимую АРВТ у ВИЧ-инфицированных пациентов и сокращает ожидаемую продолжительность жизни. Было доказано что, выраженный иммунодефицит (СД4+ клеток $<100/\text{мкл}$), обусловленный ВИЧ- инфекцией может привести к затруднению лабораторной диагностики ВГС, с получением ложноотрицательных результатов исследования антител к ВГС (анти-НСV). В связи с этим, при наличии признаков воспалительного процесса в печени, с отсутствием анти-НСV в крови, следует проводить исследование РНК ВГС методом ПЦР для исключения или подтверждения наличия хронического гепатита С.

По ходу нашего исследования 10,8% (n=11) пациентов умерли. Основной причиной смерти больных стала наличие коморбидных и тяжелых вариантов течения ВИЧ-инфекции, в том числе хронических вирусных гепатитов В и С, туберкулеза, ВИЧ-ассоциированных неврологических патологий, злокачественных опухолей и др.

ВОЗ рекомендует проводить тестирование на устойчивость ВИЧ всем пациентам перед началом АРВТ в регионах, где уровень первичной устойчивости превышает 5%, чтобы свести к минимуму назначение неэффективных препаратов. Частота распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ классифицируется как низкая: $<5\%$, умеренная: 5-15% и выраженная: $>15\%$ [73]. В РФ эпидемия ВИЧ-инфекции быстро развивается и уровень лекарственной устойчивости ВИЧ возрастает на фоне широкомасштабного применения АРВП для лечения ВИЧ- инфекции. Данное исследование было направлено на изучение распространенности первичной резистентности ВИЧ у первично диагностированных пациентов с этой инфекцией для оптимизации подбора эффективных терапевтических схем.

Согласно данным различных исследований, частота первичной резистентности ВИЧ в США в течение последнего десятилетия составляла порядка 10-24%, что обуславливало включение в клинические рекомендации тест на резистентности ВИЧ всем впервые диагностированным пациентам с

ВИЧ-инфекцией. В странах западной Европы, такой показатель составил 8,3% [44, 80]. Однако в некоторых странах, согласно некоторым сообщениям, наблюдалась тенденция к снижению показателей [170].

До настоящего времени в России тест на резистентности ВИЧ сразу после установления диагноза, так же, как и перед назначением первой линии АРВТ, не включён в национальные клинические рекомендации, и на практике исследование проводится только у всех пациентов с подтверждённой острой ВИЧ-инфекцией [3].

Растущая распространенность единичной и множественной лекарственной устойчивости ВИЧ среди первично ВИЧ-диагностированных пациентов чаще всего связана с передачей вирусов, уже имеющих резистентных штаммов. Получение новых данных о её структуре и молекулярно-генетических особенностях имеет немаловажное значение для разработки стратегий профилактики и лечения ВИЧ-инфекции.

По результатам данной работы передача резистентных штаммов вируса была зарегистрирована в 8 случаях с половым и в 3 парентеральным путем передачи ВИЧ. Уровень первичной лекарственной устойчивости, ассоциированной с основными мутациями резистентности, составил 11%, что классифицируется как умеренную в соответствии с критериями ВОЗ. Ранее проведенные исследования в РФ по проблеме первичной лекарственной устойчивости ВИЧ показали более низкие показатели, но на сегодняшний день наблюдается тенденция к постепенному росту данных, и в 2019 г. он уже достиг 6,2% [6]. Наиболее часто выявленная мутация является А62V (4 случаев). Данная мутация не вызывает устойчивости сама по себе, но обуславливает повышение резистентности к НИОТ, в случае сочетания с Q151M [94].

Полученные в работе данные о распространенности первичной лекарственной устойчивости ВИЧ превышают общероссийских показателей, что демонстрирует необходимость регулярного мониторинга за уровнем её распространения среди наивных пациентов в Российской Федерации. Такое

обследование необходимо осуществлять сразу после выявления ВИЧ у пациента из-за того, что некоторые мутации ЛУ, при отсутствии лечения могут исчезать из основной популяции ВИЧ-инфицированных лиц [107].

Среди обследованных пациентов доминирует субтип А6 составляющий 97%, субтип В – 2% и рекомбинантная форма CRF03_AB лишь 1%. Частота встречаемости первичной резистентности ВИЧ выявлено в 11%, что указывает на необходимость проведения теста на резистентности всем пациентам перед назначением АРВТ.

Проведенный анализ мутаций аминокислотных последовательностей вирусных белков, кодируемых геном *pol* включал 97 вирусов (97%), классифицированных как субтип А6, 2 вируса (2%) как субтип В и всего 1% рекомбинантной формы CRF03_AB. Из 100 секвенированных образцов плазмы крови восемь изолятов (8%) имели мутацию ЛУ к НИОТ, вызывая в основном резистентность к AZT (4%), к ABC (3%), тенофовир (3%) и к FTC (2%). У 1% пациентов был выявлен полностью нечувствительный к НИОТ вирус, обусловленный множественными мутациями K70R (E) (n=1), D67N (n=1), L74I (n=1) и M184V (n=1), в сочетании с мутациями ЛУ к ННИОТ (V106M, G190S). Изолированно K70R (n=1) устойчива к AZT и была идентифицирована в одном плазменном изоляте. A62V, которая как правило не вызывает устойчивость сама по себе, была выявлена у трех испытуемых и в одном случае в сочетании с V179D (n=1), устойчива к ННИОТ.

Мутация ЛУ к ННИОТ были обнаружены у 5% изолятов (n=5). Известно, что четыре из них вызывают резистентность к RPV и ETV: E138A (n=2), V179D (n=1) и V106I (n=1). Точно так же у четырех испытуемых был выявлен вирус с мутацией придающей устойчивостью к ETV. V106M (n=1) и G190S (n=1) были обнаружены у 1% пациента (n=1) в сочетании с M184V, D67N, K70E, L74I, вызывая полностью нечувствительность к ННИОТ. Секвенирование гена протеазы выявило мутацию ЛУ у одного пациента. M46I (n =1), известный как

неполиморфный, и иногда идентифицирован в ассоциации с E13A, вызывая резистентность к ATZ и LPV.

Сравнение лабораторных показателей у обследованных пациентов с учетом наличия мутаций выявило достоверное снижение количества CD4+ клеток и вирусной нагрузки у пациентов, имеющих мутацию A62V (64 ± 29 клеток/мкл и $635969,3 \pm 251396,2$ копий/мл соответственно) по сравнению с теми пациентами без данной мутации вируса ($161,2 \pm 50,2$ клеток/мкл и $2641405,3 \pm 1069690,7$ копий/мл). Аналогичное сравнение данных показателей в зависимости от присутствия мутаций K70R(E), E138A, V106I(M) не выявило корреляционные связи.

В нашем исследовании не выявили среди обследованных пациентов мутации ВИЧ, ассоциированные с клинически значимой резистентностью к АРВП. Среди пациентов, имеющих мутацию A62V достоверно чаще наблюдаются пациенты, инфицированные вирусом генотипа А6.

ВЫВОДЫ

1. По данным клинико-лабораторного наблюдения, наибольшее число пациентов (86,3%) с ВИЧ-инфекцией первично выявляются на стадии вторичных заболеваний с различными коморбидными состояниями, среди которых доминировали вирусные гепатиты (57,8%, n=59), из них ХВГ С выявлен в 89,8% (n=53).
2. Доминирующим геновариантом ВИЧ-1 среди первично выявленных на территории Санкт-Петербурга пациентов является субтип А6 (97%), далее генотипы В (2%) и CRF03_AB (1%).
3. По результатам данного исследования не установлена достоверная взаимосвязь между наличием мутаций, иммунологическими показателями (вирусная нагрузка, CD4+ клетки) и клинической стадией ВИЧ-инфекции. Мутация А62V характерна для образцов с субтипом А6.
4. Уровень распространения мутаций первичной лекарственной устойчивости среди обследованных пациентов составляет 11%, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью – 2%.
5. Выявление устойчивых вирусов перед назначением первой линии позволяет оптимизировать и назначать лечение с самого начала для повышения его эффективности и профилактики вторичной резистентности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Впервые выявление ВИЧ-инфекции на поздних стадиях в данном исследовании свидетельствует о необходимости широкого внедрения экспресс-тестов на ВИЧ-инфекцию для улучшения ранней диагностики заболевания.
2. Учитывая быстрый рост эпидемии ВИЧ-инфекции и увеличение распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ в Санкт-Петербурге и РФ, рекомендуется проводить рутинное тестирование всех пациентов на устойчивость до начала лечения.
3. Однако на практике, проведение теста на резистентность ВИЧ всем впервые диагностированным пациентам клинически и экономически не эффективно и согласно национальным рекомендациям назначается исключительно пациентам в острой стадии. Исходя из того, что ВИЧ-инфекция в данной стадии заболевания выявляется достаточно редко, более рациональным методом представляется периодическое выборочное исследование первичной резистентности в разных группах и регионах.
4. При назначении АРВТ постоянно оценивается приверженность к терапии у пациентов, предотвращаются необоснованные изменения схем терапии. В случае обнаружения устойчивых штаммов ВИЧ, следует назначать АРВТ с учетом профиля резистентности. В последние годы схемы на основе современных ингибиторов интегразы становятся наиболее эффективнее препаратов других классов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Распространение резистентности ВИЧ к АРВ препаратам оказывает влияние на лечение приводя к снижению эффективности применяемых препаратов, что представляет серьезной клинической и экономической проблемой (рост смертности от ВИЧ/СПИДа, стоимости АРВТ и др.). Дальнейшее изучение течения ВИЧ-инфекции может служить инструментом для улучшения методов ранней диагностики и таким образом способствовать раннему назначению терапии и улучшить прогноз заболевания. В ряде случаев клинические проявления на ранней стадии могут значительно отличаться от типичного течения заболевания.

Продолжение данного исследования в будущем будет способствовать получению обновленных данных о распространенности циркулирующих мутаций, ответственных за развитие резистентности ВИЧ-1 среди впервые диагностированных пациентов в Санкт-Петербурге и поможет расширить представления о правилах назначения эффективных схем первой линии АРВТ и таким образом будем приближаться к цели покончить с эпидемией ВИЧ. Полученные данные скажутся на увеличении продолжительности жизни пациентам с ВИЧ, также снижение скорости распространения ВИЧ-инфекции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРВП – антиретровирусные препараты

АРВТ – антиретровирусная терапия

ВААРТ – высокоактивная антиретровирусная терапия

ВГ – вирусные гепатиты

ВГВ – вирусный гепатит В

ВГС – вирусный гепатит С

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВН – вирусная нагрузка

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВПГ – вирус простого герпеса

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ГГТП – гамма-глутамилтранспептидаза

ГЛПС – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом

ГМ – головной мозг

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфат

ЖКТ – желудочно - кишечный тракт

ИБ – иммуоблот

ИИ – ингибитор интегразы

ИМТ – индекс массы тела

ИП – ингибитор протеазы

ИФА – иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

ЛЖВ – люди, живущие с ВИЧ-инфекцией

ЛУ – лекарственная устойчивость

МЛС – места лишения свободы

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
МРТ – магнитно-резонансная томография
МТА – мутации тимидиновых аналогов
НИОТ – нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы
ННИОТ – ненуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы
ОТ – обратная транскриптаза
ОФК – орофарингеальный кандидоз
ПАВ – психоактивные вещества
ПГЛ – персистирующая генерализованная лимфаденопатия
ПИН – потребители инъекционных наркотиков
ПМЛ – прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия
ПТИ – протромбиновый индекс
ПЦП – пневмоцистная пневмония
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
РФ – российская федерация
СК – саркома Капоши
СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
ТБ – туберкулез
СЗФО – северо-западный федеральный округа
СМЖ – спинномозговая жидкость
тРНК – транспортная рибонуклеиновая кислота
ЦМВ – цитомегаловирус
ФГДС – Фиброгастродуоденоскопия
ЦНС – центральная нервная система
ВИС – биктегравир
CDC – центры по контролю и профилактике заболеваний США
ЗТС – ламивудин
АВС – абакавир

ATV – атазанавир

AZT – азидотимидин (зидовудин)

CDC – Центры по контролю и профилактике заболеваний США

COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019 года

D4T – ставудин

DDI – диданозин

DOR – доравирин

DRV – дарунавир

EFV – эфавиренз

ETR – этравирин

FTC – эмтрицитабин

LPV – лопинавир

NVP – невирапин

TDF – тенофовир

DTG – долутегравир

EVG – элвитегравир

FPV – фосампренавир

Gp-41, gp-120 – гликопротеины 41 и 120 наружной оболочки ВИЧ

IDV – индинавир

NFV – нелфинавир

RAL – ралтегравир

RPV – рилпивирин

RTV – ритонавир

SQV – саквинавир

START – стратегическое время антиретровирусного лечения (СТАРТ)

T20 – энфувиртид

TPV – типранавир

/r – обозначение бустирования препарата ритонавиром. Например, LPV/r – усиленный ритонавиром лопинавир

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобкова, М. Р. Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека и антиретровирусная терапия / М. Р. Бобкова // Терапевтический архив. – 2016. – № 11. – С. 103 – 111.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году». – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. – 254 с. – [Электронный ресурс] // Режим доступа:
https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933
3. Грезина, Л. А. Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ / Н. Е. Дементьева, Н. Н. Зайцева, Е. В. Казеннова и др. // Лабораторная служба. – 2017. – Т. 6, № 11. – С. 217 – 237.
4. Дементьева, Н. Е. Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга / Н. В. Сизова, З. Н. Лисицина, В. А. Маклакова и др. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2011. – Т. 3. – №4. – С. 34 – 43.
5. Зайцева, Н. Н. Анализ распространенности первичной резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе / О. В. Парфенова, О. Ю. Пекшева // Медицинский альманах. – 2016. – Т. 3. – № 43. – С. 93 – 95.
6. Кириленко, А. А. Уровень и структура лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов без опыта приема антиретровирусных препаратов с момента начала применения антиретровирусной терапии в Российской Федерации / Д. Е. Киреев, А. Э. Лопатухин, А. В. Мурзакова, и др. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2019. – Т. 11. – № 2. – С. 75 – 83.
7. Лаповок, И. А. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987—2015 гг. / А. Э. Лопатухин, Д. Е. Киреев, и др. // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89. – № 11. – С. 44 – 49.

8. Лебедева, Н. Н. Общий генетический балл как метод численной оценки вклада аллельных вариантов ряда полиморфных локусов генома человека в формирование невосприимчивости к заражению ВИЧ-инфекцией / И. А. Ефремов, Р. И. Туракулов, Т. В. Кондрашова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2016. – Т. 8. – № 3. – С. 113 – 128.
9. Леонова, О. Н. Тяжелые и коморбидные состояния у больных с ВИЧ-инфекцией: анализ неблагоприятных исходов / Е. В. Степанова, Н. А. Беляков // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2017. – Т. 9. – № 1. – С. 55 – 64.
10. Лободанов, С. А. Тесты для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ: настоящее и будущее // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии – 2015. – Т. 7. – № 2. – С. 55 – 60.
11. Любимова, Н. Е. Изучение частоты аллелей гена CCR5 у популяции Санкт-Петербурга / Н. Е. Любимова, А. В. Семенов // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – № S. – С. 218.
12. Любимова, Н. Е. Частота аллелей ccr5del32 в Санкт-Петербурге / Н. Е. Любимова, А. В. Семенов // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – № S. – С. 87.
13. Любимова, Н. Е. Частота полиморфизма гена CCR2 в популяции Санкт-Петербурга / Н. Е. Любимова, А. В. Семенов // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № S. – С. 279.
14. Методические рекомендации «Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам» – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014.– [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293771/4293771116.pdf>
15. Новак, К. Е. Клинико-морфологическая характеристика субкомпенсированного и декомпенсированного цирроза печени вирусной этиологии // Педиатр. – 2011. – Т. 2. – № 2. – С. 47 – 52.

16. Объединенная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИДу (ЮНЭЙДС) «Глобальная статистика по ВИЧ 2021» – [Электронный ресурс]. Режим доступа // <https://www.unaids.org/ru/resources/fact-sheet>.
17. Покровский В. И. ВИЧ-инфекция и СПИД. Национальное руководство под ред. В. В. Покровского. 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2020. – 682 С.
18. Покровский, В. В. ВИЧ-инфекция и СПИД. Национальное руководство. Краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 528 С.
19. Покровский, В. В. Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией / О. Юрин, А. Кравченко и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2016 – С. 6.
20. Покровский, В. И. Клиническая классификация ВИЧ-инфекции / В. В. Покровский, О. Г. Юрин // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2001. – Т. 1. – С. 7 – 10.
21. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2020 г», – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021.– [Электронный ресурс] // Режим доступа: https://spid.zdrav36.ru/files/CDjSgvSk_-1844820063.pdf
22. Цыкин, Д. Б. Изменения внутренних органов при нарко- и токсикоманиях // Советская медицина. – 1991. – Т. 54. – № 3. – С. 78 – 80.
23. Abram, M. E. Mutations in HIV-1 reverse transcriptase affect the errors made in a single cycle of viral replication / A. L. Ferris, K. Das, O. Quinoñes et al. // Journal of Virology. – 2014. – Vol.88. – № 13. – P. 7589 – 7601.
24. Acosta-Hoyos, A. J. A role of template cleavage in reduced excision of chain-terminating nucleotides by human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase containing the M184V mutation / S. E. Matsuura, P. R. Meyer, W. A. Scott // Journal of Virology. – 2012. – Vol. 86. – № 9. – P. 5122 – 5133.

25. Acosta-Hoyos, A. J. A role of template cleavage in reduced excision of chain-terminating nucleotides by human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase containing the M184V mutation / S. E. Matsuura, P. R. Meyer, W. A. Scott // *Journal of Virology*. – 2012. – Vol. 86. – № 9. – P. 5122 – 5133.
26. Ahlstrom, M. G. Algorithmic prediction of HIV status using nation-wide electronic registry data / A. Ronit, L. H. Omland, S. Vedel et al. // *EClinicalMedicine*. – 2019. – Vol. 17. – P. 100203.
27. Alcaro, S. Docking analysis and resistance evaluation of clinically relevant mutations associated with the HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors nevirapine, efavirenz and etravirine / C. Alteri, A. Artese, F. Ceccherini-Silberstein et al. // *ChemMedChem*. – 2011. – Vol. 6. – № 12. – P. 2203 – 2213.
28. Alcaro, S. Molecular and structural aspects of clinically relevant mutations related to the approved non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase / C. Alteri, A. Artese, F. Ceccherini-Silberstein // *Drug Resistance Updates*. – 2011. – Vol. 14. – № 3. – P. 141 – 149.
29. Allavena, C. Tipranavir in antiretroviral treatment-experienced patients: Results from a French prospective cohort / P. Flandre, P. Pugliese, M. A. Valantin et al. // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 44. – № 1. – P. 37 – 43.
30. Allers, K. CCR5 Δ 32 mutation and HIV infection: basis for curative HIV therapy / T. Schneider // *Current Opinion in Virology*. – 2015. – Vol. 14. – P. 24 – 29.
31. Andreatta, K. N. Reduced viral fitness and lack of cross-class resistance with integrase strand transfer inhibitor and nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutations / D. D. Goodman, M. D. Miller, K. L. White // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59. – № 6. – P. 3441 – 3449.
32. Arathoon, E. Etravirine combined with antiretrovirals other than darunavir/ritonavir for HIV-1-infected, treatment-experienced adults: Week 48 results of a phase IV trial / A. Bhorat, R. Silaghi, H. Crauwels et al. // *SAGE Open*

- Medicine. – 2017. – Vol. 5. – P. 1 – 9.
33. Armenia, D. Pre-existent NRTI and NNRTI resistance impacts on maintenance of virological suppression in HIV-1-infected patients who switch to a tenofovir/emtricitabine/rilpivirine single-tablet regimen / D. Di Carlo, A. Calcagno, G. Vendemiati et al. // *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. – 2017. – Vol. 72. – № 3. – P. 855 – 865.
 34. Arts, E. J. HIV-1 antiretroviral drug therapy / D. J. Hazuda // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2012. – Vol. 2. – №4. – P. a006171 – a006171.
 35. Barnard, J. P. Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor hyper susceptibility and resistance by mutation of residue 181 in HIV-1 reverse transcriptase / K. D. Huber, N. Sluis-Cremer // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2019. – Vol. 63. – № 8. – P. e00676 – 19.
 36. Basson, A. E. Impact of drug resistance-associated amino acid changes in HIV-1 subtype C on susceptibility to newer nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors / S. Y. Rhee, C. M. Parry, Z. El-Khatib et al // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59. – № 2. – P. 960 – 971.
 37. Betancor, G. Clinical, virological and biochemical evidence supporting the association of HIV-1 reverse transcriptase polymorphism R284K and thymidine analogue resistance mutations M41L, L210W and T215Y in patients failing tenofovir/emtricitabine therapy / C. Garriga, M. C. Puertas, M. Nevot et al. // *Retrovirology*. – 2012. – Vol. 9. – № 68. – P. 1 – 17.
 38. Betancor, G. Molecular basis of the association of H208Y and thymidine analogue resistance mutations M41L, L210W and T215Y in the HIV-1 reverse transcriptase of treated patients / M. Nevot, J. Mendieta, P. Gómez-Puertas et al. // *Antiviral Research*. – 2014. – Vol. 106. – P. 42 – 52.
 39. Boffito, M. Effect of a modified saquinavir/ritonavir dosing regimen with lower dose lead-in phase on QTc interval, pharmacokinetics, antiviral activity and safety in treatment-naïve HIV-1-infected patients / A. Jackson, A. Pozniak, M. Giraudon et al. // *Drugs R D*. – 2015. – Vol. 15. – № 1. – P. 141 – 153.

40. Bokharaei-Salim F. HIV-1 reverse transcriptase and protease mutations for drug-resistance detection among treatment-experienced and naïve HIV-infected individuals / M. Esghaei, K. Khanaliha, S. Kalantari et al. // *PLOS One* – 2020. – Vol. 15. – № 3. – P: e0229275.
41. Boyer, P. L. Analysis of the Zidovudine Resistance Mutations T215Y, M41L, and L210W in HIV-1 Reverse Transcriptase / K. Das, E. Arnold, S. H. Hughes // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59. – № 12. – P. 7184 – 7196.
42. Brehm, J. H. Zidovudine (AZT) monotherapy selects for the A360V mutation in the connection domain of HIV-1 reverse transcriptase / Y. Scott, D. L. Koontz, S. Perry et al // *PLOS One* – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e31558 – e31558.
43. Brown, T. R. I am the Berlin patient: a personal reflection // *AIDS Research and Human Retroviruses*. – 2015. – Vol. 31. – № 1. – P. 2 – 3.
44. Buchacz, K. Trends in use of genotypic resistance testing and frequency of major drug resistance among antiretroviral-naïve persons in the HIV Outpatient Study, 1999–2011 / B. Young , F. J. Palella , C. Armon et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 70. – № 8. – P. 2237 – 2346.
45. Buckton, A. J. HIV type-1 drug resistance in treatment-naïve patients monitored using minority species assays: a systematic review and meta-analysis // *Antiviral Therapy*. – 2011. – Vol. 16. – № 1. – P. 9 – 16.
46. Burke, B. P. CCR5 as a natural and modulated target for inhibition of HIV / M. P. Boyd, H. Impey, L. R. Breton, J. S. Bartlett et al. // *Viruses*. – 2013. – Vol. 6. – № 1. – P. 54 – 68.
47. Caccuri, F. HIV-1 matrix protein p17 and its receptors / S. Marsico, S. Fiorentini, A. Caruso, C. Giagulli // *Current Drug Targets*. – 2016. – Vol. 17. – № 1. – P. 23 – 32.
48. Castagna, A. VIKING-3 Study Group. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study / F. Maggiolo, G. Penco, D. Wright et al. // *Journal*

- of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 230. – № 3. – P. 354 – 362.
49. Castain, L. New mechanisms of resistance in virological failure to protease inhibitors: selection of non-described protease, Gag and Gp41 mutations / M. Perrier, C. Charpentier, R. Palich et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2019. – Vol.74. – № 7. – P. 2019 – 2023.
50. Cattelan, A. M. Acquired immunodeficiency syndrome-related Kaposi's sarcoma regression after highly active antiretroviral therapy: biologic correlates of clinical outcome / M. L. Calabro, P. Gasperini, et al. // *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. – 2000. – Vol. 2000. – № 28. – P. 44 – 49.
51. Chaplin, B. Distinct Pattern of Thymidine Analogue Mutations with K65R in Patients Failing Tenofovir-Based Antiretroviral Therapy / G. Imade, C. Onwuamah, G. Odaibo et al. // *AIDS Research and Human Retroviruses*. – 2018. – Vol. 34. – № 2. – P. 228 – 233.
52. Chen, B. HIV Capsid Assembly, Mechanism, and Structure. *Biochemistry*. – 2016. – Vol. 55. – № 18. – P. 2539 – 2552.
53. Chen, B. Structure of the transmembrane domain of HIV-1 envelope glycoprotein / J. J. Chou // *The FEBS Journal*. – 2017. – Vol. 284. – № 8. – P. 1171 – 1177.
54. Chkhartishvili, N. The cascade of care in the Eastern European country of Georgia / L. Sharavdze, O. Chokoshvili, J. A. DeHovitz et al. // *HIV Medicine*. – 2015. – Vol. 16. – № 1. – P. 62 – 66.
55. Chunduri, H. Reverse transcriptase mutation K65N confers a decreased replication capacity to HIV-1 in comparison to K65R due to a decreased RT processivity / C. Crumpacker, P. L. Sharma // *Virology*. – 2011. – Vol. 441. – № 1. – P. 34 – 41.
56. Das, K. Structural Insights into HIV Reverse Transcriptase Mutations Q151M and Q151M Complex That Confer Multinucleoside Drug Resistance / S. E. Martinez, E. Arnold // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61. – № 6. – P. e00224 – 17.
57. Dawson, L. The role of nucleocapsid of HIV-1 in virus assembly / X. F. Yu //

- Virology. – 1998. – Vol. 251. – № 1. – P. 141 – 157.
58. De Luca, A. Accumulation of HIV-1 drug resistance in patients on a standard thymidine analogue-based first line antiretroviral therapy after virological failure: implications for the activity of next-line regimens from a longitudinal study in Mozambique / Z. J. Sidumo, G. Zanelli et al. *BMC Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 17. – № 605. – P. 1 – 6.
59. De Luca, A. The effect of potent antiretroviral therapy and JC virus load in cerebrospinal fluid on clinical outcome of patients with AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy / M. L. Giancola, A. Ammassari et al. // *The Journal of infectious diseases*. – 2000. – Vol. 182. – P. 1077 – 1083.
60. D'Souza, G. The Changing Science of HIV Epidemiology in the United States / E. T. Golub, S. J. Gange // *American Journal Epidemiology*. – 2019. – Vol. 188. – № 12. – P. 2061 – 2068.
61. Duani, H. Trends and predictors of HIV-1 acquired drug resistance in Minas Gerais, Brazil: 2002-2012 / A. W. Aleixo, U. Tupinambás et al. // *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 21. – № 2. – P. 148 – 154.
62. Dziuban, E. J. High Prevalence of Abacavir-associated L74V/I Mutations in Kenyan Children Failing Antiretroviral Therapy // J. DeVos, B. Ngeno, E. Ngugi et al. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2017. – Vol. 36. – № 8. – P. 785 – 760.
63. Eberle, J. HIV types, groups, subtypes and recombinant forms: errors in replication, selection pressure and quasispecies / L. Gürtler // *Intervirology*. – 2012. – Vol. 55. – № 2. – P. 79 – 83.
64. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). HIV/AIDS surveillance in Europe 2013. Stockholm: ECDC. 2015. [Электронный ресурс] Режим доступа // <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/hivaids-surveillance-europe-2013>.
65. Feng, M. In vitro resistance selection with doravirine (MK-1439), a novel nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor with distinct mutation development

- pathways / D. Wang, J. A. Grobler, D. J. Hazuda et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59. – № 1. – P. 590 – 598.
66. Flys, T. Sensitive Drug-Resistance Assays Reveal Long-Term Persistence of HIV-1 variants with the K103N Nevirapine (NVP) resistance mutation in some women and Infants after the administration of single-dose NVP: HIV NET 012 / D. V. Nissley, C. W. Claasen, D. Jones et al. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 221. – № 5. – P. 24 – 29.
67. Fourati, S. E17A mutation in HIV-1 Vpr confers resistance to didanosine in association with thymidine analog mutations / I. Malet, C. A. Guenzel, C. Soulie et al. // *Antiviral Research*. – 2012. – Vol. 93. – № 1. – P. 167 – 174.
68. Fourati, S. Identification of a rare mutation at reverse transcriptase Lys65 (K65E) in HIV-1-infected patients failing on nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors / B. Visseaux, D. Armenia, L. Morand-Joubert et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2013. – Vol. 68. – № 10. – P. 2199 – 2204.
69. Gagliardini, R. Impact of the M184V resistance mutation on virological efficacy and durability of Lamivudine-based Dual antiretroviral regimens as maintenance therapy in individuals with Suppressed HIV-1 RNA: A Cohort Study / A. Ciccullo, A. Borghetti, F. Maggiolo et al. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 5. – № 6. – P. 1 – 8.
70. Gibson, R. M. Sensitive detection of HIV-1 resistance to Zidovudine and impact on treatment outcomes in low- to middle-income countries / G. Nickel, M. Crawford, F. Kyeyune et al // *Infect Diseases of Poverty*. – 2017. – Vol. 6. – № 1. – P. 163 – 176.
71. Gregson, J. Human Immunodeficiency Virus-1 viral load is elevated in individuals with Reverse-Transcriptase mutation M184V/I during virological failure of first-line Antiretroviral Therapy and is associated with compensatory mutation L74I / S. Y. Rhee, R. Datir, D. Pillay et al. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 222. – № 7. – P. 1108 – 1116.
72. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and

- adolescents. Department of Health and Human Services. – 2019. – P. 378. [Электронный ресурс]. – Режим доступа // <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/adult-and-adolescent-arv/whats-new-guidelines>
73. Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance. Geneva: World Health Organization. – 2017. – P. 84. [Электронный ресурс]. – Режим доступа // <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/hivdr-guidelines-2017/en/>
74. Gunthard, H. F. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel / J. A. Aberg, J. J. Eron et al. // *Journal of the American Medical Association*. – 2014. – Vol. 312. – P. 410 – 425.
75. Gupta, R. K. HIV-1 drug resistance before initiation or reinitiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis / J. Gregson, N. Parkin et al. // *Lancet Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 18. – P. 346 – 355.
76. Hachiya, A. K70Q adds high-level tenofovir resistance to "Q151M complex" HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism / E. N. Kodama, M. M. Schuckmann, K. A. Kirby et al. // *PLOS One*. – 2011. – Vol. 6. – № 11. – P.1 – 12.
77. Harjani, R. A study of antiretroviral resistance patterns in treatment experienced and naive human immunodeficiency virus infected-patients / R. Malkani // *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*. – 2016. – Vol. 37. – № 2. – P.167 – 172.
78. Havens, J. P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Etravirine: An Updated Review / A. T. Podany, K. K. Scarsi, C. V. Fletcher // *Clinical Pharmacokinetics*. – 2020. – Vol. 59. – № 2. – P. 137 – 154.
79. Hemelaar, J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends in Molecular Medicine*. – 2012. – Vol. 18. – № 3. – P. 182 – 192.

80. Hofstra, L. M. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe / N. Sauvageot, J. Albert, I. Alexiev et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 62. – № 5. – P. 665 – 663.
81. Huldrych, F. G. Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance: 2018 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel / C. Vincent, P. Roger, P. Deenan et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 68. – № 2. – P. 177 – 187.
82. Hung, T. C. Dual therapy with ritonavir-boosted protease inhibitor (PI) plus lamivudine versus triple therapy with ritonavir-boosted PI plus two nucleos(t)ide reverse-transcriptase inhibitor in HIV-infected patients with viral suppression / G. J. Chen, S. H. Cheng, J. H. Chen et al. // *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. – 2019. – Vol. 52. – № 6. – P. 865 – 871.
83. INSIGHT START Study Group. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection / J. D. Lundgren, A. G. Babiker, F. Gordin et al. // et al. *The New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 373. – № 9. – P. 795 – 807.
84. Jary, A. M184V/I does not impact the efficacy of abacavir/lamivudine/dolutegravir use as switch therapy in virologically suppressed patients / A. G. Marcelin, C. Charpentier, M. Wirden et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2020. – Vol. 75. – № 5. – P. 1290 – 1293.
85. Karkashadze, E. Epidemiology of human immunodeficiency virus (HIV) drug resistance in HIV patients with virologic failure of first-line therapy in the country of Georgia / N. Dvali, N. Bolokadze, L. Sharvadze et al. // *Journal of Medical Virology*. – 2019. – Vol. 91. – № 2. – P. 235 – 240.
86. Klein, R. S. A moving target: the multiple roles of CCR5 in infectious diseases // *Journal of Infectious Diseases*. – 2008. – Vol. 197. – № 2. – P. 183 – 186.
87. Koning, F. A. UK Collaborative Group on HIV Drug Resistance. Subtype-specific differences in the development of accessory mutations associated with high-level resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors / H.

- Castro, D. Dunn, P. Tilston et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2013. – Vol. 68. – № 6. – P. 1220 – 1236.
88. Kulkarni, R. The HIV-1 reverse transcriptase M184I mutation enhances the E138K-associated resistance to rilpivirine and decreases viral fitness / K. Babaoglu, E. B. Lansdon, L. Rimsy et al. // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. – 2012. – Vol. 59. – № 1. – P. 47 – 54.
89. Lai, M. T. Mechanistic Study of Common Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-Resistant Mutations with K103N and Y181C Substitutions / V. Munshi, M. Lu, M. Feng et al. // *Viruses*. – 2016. – Vol. 8. – № 10. – P. 263 – 275.
90. Lambert-Niclot, S. Emerging resistance mutations in PI-naïve patients failing an atazanavir-based regimen (ANRS multicentre observational study) / M. Grude, M. L. Chaix, C. Charpentier et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2018. – Vol. 73. – № 8. – P. 2147 – 2151.
91. Late presenters working group in COHERE in EuroCoord. Late presentation for HIV care across Europe: update from the Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE) study, 2010 to 2013 / A. Mocroft, J. Lundgren et al. // *Euro Surveillance*. – 2015. – Vol. 47. – № 28. – P. 30070.
92. Li, Z. In vitro cross-resistance profile of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) BMS-986001 against known NRTI resistance mutations / B. Terry, W. Olds, T. Protack et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2013. – Vol. 57. – № 11. – P. 5500 – 5508.
93. Liu, Y. Natural presence of the V179D and K103R/V179D mutations associated with resistance to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1 CRF65_cpx strains / Y. Zhang, H. Li, X. Wang et al. // *BMC Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 313 – 421.
94. Maldonado, J. O. The HIV-1 Reverse Transcriptase A62V Mutation Influences Replication Fidelity and Viral Fitness in the Context of Multi-Drug-Resistant Mutations / L. M. Mansky // *Viruses*. – 2018. – Vol. 10. – № 7. – P. 376.
95. Marcelin, A. G. Emerging mutations and associated factors in patients displaying

- treatment failure on an etravirine-containing regimen / D. Descamps, C. Tamalet, J. Cottalorda et al. // *Antiviral Therapy*. – 2012. – Vol. 17. – № 1. – P. 119 – 123.
96. Margot, N. A. Characterization of HIV-1 resistance to Tenofovir Alafenamide in Vitro / A. Johnson, M. D. Miller, C. Callebaut // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59. – № 10. – P. 5917 – 5924.
97. Masso, M. Sequence and structure based models of HIV-1 protease and reverse transcriptase drug resistance / I. I. Vaisman // *BMC Genomics*. – 2013. – Vol. 14. – № 4. – P. 1 – 13.
98. McCormick, A. L. Impact of the N348I mutation in HIV-1 reverse transcriptase on nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance in non-subtype B HIV-1 / C. M. Parry, A. Crombe, R. L. Goodall et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2011. – Vol. 55. – № 4. – P. 1806 – 1809.
99. Megens, S. Characterization of amino acids Arg, Ser and Thr at position 70 within HIV-1 reverse transcriptase / S. De Wit, J. Bernatchez, N. Dekeersmaeker et al. // *Acta Clinica Belgica*. – 2014. – Vol. 69. – № 5. – P. 348 – 357.
100. Melikian, G. L. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) cross-resistance: implications for preclinical evaluation of novel NNRTIs and clinical genotypic resistance testing / S. Y. Rhee, V. Varghese, D. Porter et al // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2014. – Vol. 69. – № 1. – P. 12 – 20.
101. Melikian, G. L. Standardized comparison of the relative impacts of HIV-1 reverse transcriptase (RT) mutations on nucleoside RT inhibitor susceptibility / S. Y. Rhee, J. Taylor, W. J. Fessel et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2012. – Vol. 56. – № 5. – P. 2305 – 2313.
102. Menéndez-Arias, L. HIV-1 reverse transcriptase connection subdomain mutations involved in resistance to approved non-nucleoside inhibitors / G. Betancor, T. Matamoros // *Antiviral Research*. – 2011. – Vol. 92. – № 2. – P. 139 – 149.
103. Menshawy, A. Efficacy and safety of atazanavir/ritonavir-based antiretroviral therapy for HIV-1 infected subjects: a systematic review and meta-analysis / A. Ismail, A. I. Abushouk, H. Ahmed H et al. // *Archives of Virology*. – 2017. – Vol.

162. – № 8. – P. 2181 – 2190.
104. Merk, A. HIV-1 envelope glycoprotein structure / S. Subramaniam // *Current Opinion in Structural Biology*. – 2013. – Vol. 23. – № 2. – P. 268 – 276.
105. Messiaen, P. Clinical use of HIV integrase inhibitors: a systematic review and meta-analysis / A. M. Wensing, A. Fun, M. Nijhuis et al // *PLOS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. e52562.
106. Mourad, R. UK HIV Drug Resistance Database & the Collaborative HIV, Anti-HIV Drug Resistance Network. A phylotype-based analysis highlights the role of drug-naive HIV-positive individuals in the transmission of antiretroviral resistance in the UK / F. Chevnet, D. T. Dunn, E. Fearnhill et al. // *AIDS*. – 2015. – Vol. 29. – № 15. – P. 1917 – 1925.
107. Mouradjian, M. T. Virologic suppression in patients with a documented M184V/I mutation based on the number of active agents in the antiretroviral regimen / E. L. Heil, H. Sueng, N. S. Pandit // *SAGE Open Medicine*. – 2020. – Vol. 8. – P. 1 – 7.
108. Mziray, S. R. Patterns of acquired HIV-1 drug resistance mutations and predictors of virological failure in Moshi, Northern Tanzania / H. H. Kumburu, H. B. Assey, T. B. Sonda et al. // *PLOS One*. – 2020. – Vol. 15. – № 9. – P. e0232649 – e0232649.
109. Ndung'u, T. On HIV diversity / R. A. Weiss // *AIDS*. – 2012. – Vol. 26. – № 10. – P. 1255 – 1260.
110. Nevot, M. HIV-1 Protease evolvability is affected by synonymous nucleotide recoding / A. Jordan-Paiz, G. Martrus, C. Andrés et al. // *Journal of Virology*. – 2018. – Vol. 92. – № 16. – P. 1 – 33.
111. Ngcapu, S. Characterization of Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-Associated Mutations in the RNase H Region of HIV-1 Subtype C Infected Individuals / K. Theys, P. Libin, V. C. Marconi et al. // *Viruses*. – 2017. – Vol. 9. – № 11. – P. 330 – 340.
112. Ngoufack, M. N. CCR2 Genetic Polymorphism And Its Potential Effect On HIV

- Acquisition In A Population Of Children Living In The Northern Region Of Cameroon / C. N. Nkenfou, B. Atogho Tiedeu, L. C. M. Mouafo et al // *The Application of Clinical Genetics*. – 2019. – Vol. 12. – P. 229 – 234.
113. Olearo, F. Impact of the M184V/I Mutation on the efficacy of Abacavir/Lamivudine/Dolutegravir therapy in HIV treatment-experienced patients / H. Nguyen, F. Bonnet, S. Yerly et al. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 6. – № 12. – P. 1 – 12.
114. Oliveira, M. Resistance mutations against dolutegravir in HIV integrase impair the emergence of resistance against reverse transcriptase inhibitors / T. Mesplède, P. K. Quashie, D. Moïsi et al. // *AIDS*. – 2014. – Vol. 28. – № 6. – P. 813 – 819.
115. Orkin, C. Doravirine/Lamivudine/Tenofovir Disoproxil Fumarate is Non-inferior to Efavirenz/Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil Fumarate in Treatment-naive Adults with Human Immunodeficiency Virus-1 Infection: Week 48 Results of the DRIVE-AHEAD Trial / K. E. Squires, J. M. Molina, P.E Sax et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 68. – № 4. – P. 535 – 544.
116. Pau, A. K. Antiretroviral therapy: current drugs / J. M. George // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2014. – Vol. 28. – № 3. – P. 371 – 402.
117. Peeters, M. Origin and diversity of human retroviruses / M. D'Arc, E. Delaporte // *AIDS Reviews*. – 2014. – Vol. 16. – № 1. – P. 23 – 34.
118. Pham, H. V. Change in the Prevalence of HIV-1 and the Rate of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Haiphong, Northern Vietnam / A. Ishizaki, C. H. Nguyen, M. C. Saina et al. // *AIDS Research and Human Retroviruses*. – 2015. – Vol. 31. – № 7. – P. 757 – 759.
119. Pinggen, M. Deep sequencing does not reveal additional transmitted mutations in patients diagnosed with HIV-1 variants with single nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutations / M. E. van der Ende, A. M. Wensing, A. el Barzouhi et al. // *HIV Medicine*. – 2013. – Vol. 14. – № 3. – P. 176 – 18.
120. Porter, D. P. Clinical Outcomes of virologically suppressed patients with pre-existing HIV-1 drug resistance mutations switching to

- Rilpivirine/Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil Fumarate in the SPIRIT Study / J. Toma, Y. Tan, O. Solberg et al. // *HIV Clinical Trials*. – 2016. – Vol. 517. – № 1. – P. 29 – 37.
121. Poveda, E. Evolution of genotypic and phenotypic resistance to Enfuvirtide in HIV-infected patients experiencing prolonged virologic failure / B. Rodés, J. L. Labernardière, J. M. Benito et al. // *Journal of Medical Virology*. – 2004. – Vol. 71. – № 1. – P. 21 – 28.
122. Ramalingam, V. V. Frequency of cross-resistance to rilpivirine and etravirine among HIV-1 subtype C infected individuals failing nevirapine/efavirenz based ART regimen / J. P. Demosthenes, B. C. Ghale, P. Rupali et al. // *Infectious Diseases (London)*. – 2019. – Vol. 51. – № 1. – P. 71 – 74.
123. Raposo, L. M. Lopinavir Resistance Classification with Imbalanced Data Using Probabilistic Neural Networks / M. B. Arruda, R. M. de Brindeiro, F. F. Nobre // *Journal of Medical Systems*. – 2016. – Vol. 40. – № 3. – P. 69 – 76.
124. Raymond, A. Large disparities in HIV treatment cascades between eight European and high-income countries - analysis of break points / A. Hill, A. Pozniak // *Journal of the International AIDS Society*. – 2014. – Vol. 17. – № 4. – P. 19507.
125. Recommendations and Reports. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults // *Morbidity and mortality weekly Reports*. – 1992. – Vol. 41. – № 17. – P. 1 – 9.
126. Rhee, S. Y. Geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted HIV-1 drug resistance: an individual-patient- and sequence-level meta-analysis / J. L. Blanco, M. R. Jordan, J. Taylor et al. // *PLOS Medicine*. – 2015. – Vol. 12. – № 6. – P. e1001845 – e1001845.
127. Rhee, S. Y. HIV-1 Protease, Reverse Transcriptase, and Integrase Variation / K. Sankaran, V. Varghese, M. A. Winters et al. // *Journal of Virology*. – 2016. – Vol. 90. – № 13. – P. 6058 – 6070.

128. Rimsky, L. Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 isolates obtained from patients on rilpivirine therapy experiencing virologic failure in the phase 3 ECHO and THRIVE studies: 48-week analysis / J. Vingerhoets, V. Van Eygen, J. Eron et al. // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. – 2012. – Vol. 59. – № 1. – P. 39 – 46.
129. Robb, M. L. Lessons from acute HIV infection / J. Ananworanich // *Current Opinion in HIV and AIDS*. – 2016. – Vol. 11. – № 6. – P. 555 – 560.
130. Sadeghi, L. HIV-1 Drug Resistance Profiles for the HIV Protease and Reverse Transcriptase Gene in Patients Receiving Combination Therapy in Tehran, Iran / M. Lolaie, R. A. Tabatabai, S. Bayanolhagh et al. // *Infectious Disorders - Drug Targets*. – 2018. – Vol. 18. – № 3. – P. 241 – 248.
131. Sakuragi, J. Morphogenesis of the Infectious HIV-1 Virion // *Frontiers in Microbiology*. – 2011. – Vol. 2. – № 242. – P. 1 – 5.
132. Schneider, A. AZT resistance alters enzymatic properties and creates an ATP-binding site in SFVmac reverse transcriptase / K. Schweimer, P. Rösch, B. M. Wöhr // *Retrovirology*. – 2015. – Vol. 12. – № 21. – P. 1 – 14.
133. Schneider, A. Biochemical characterization of a multi-drug resistant HIV-1 subtype AG reverse transcriptase: antagonism of AZT discrimination and excision pathways and sensitivity to RNase H inhibitors / A. Corona, I. Spöring, M. Jordan et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2016. – Vol. 44. – № 5. – P. 2310 – 2322.
134. Schultze, A. HIV resistance testing and detected drug resistance in Europe / A. N. Phillips, R. Paredes, M. Battegay et al. // *AIDS*. – 2015. – Vol. 29. – № 11. – P. 1379 – 1389.
135. Shafer, R.W. HIV-1 Drug Resistance Mutations: an Updated Framework for the Second Decade of HAART / J. M. Schapiro // *AIDS Reviews*. – 2008. – Vol. 10. – P. 67 – 84.
136. Shahriar, R. Nonpolymorphic human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase treatment-selected mutations / S. Y. Rhee, T. F. Liu, W. J.

- Fessel et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2009. – Vol. 53. – № 11. – P. 4869 – 4878.
137. Sharp, P. M. Origins of HIV and the AIDS pandemic / B. H. Hahn // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2011. – Vol. 1. – № 1. – P. a00684 – a006841.
138. Sigal, A. Cell-to-cell spread of HIV permits ongoing replication despite antiretroviral therapy / J. T. Kim, A. B. Balazs, E. Dekel et al. // *Nature*. – 2011. – Vol. 477. – № 7362. – P. 95 – 98.
139. Sigaloff, K. C. Unnecessary antiretroviral treatment switches and accumulation of HIV resistance mutations; two arguments for viral load monitoring in Africa / R. L. Hamers, C. L. Wallis, C. Kityo et al. // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. – 2011. – Vol. 58. – № 1. – P. 23 – 31.
140. Skittrall, J. P. A scale-free analysis of the HIV-1 genome demonstrates multiple conserved regions of structural and functional importance / C. K. Ingemarsdotter, J. R. Gog, A. M. L. Lever // *PLOS Computational Biology*. – 2019. – Vol. 15. – № 9. – P. 1 – 26.
141. Smoleń-Dzirba, J. HIV-1 Infection in Persons Homozygous for CCR5- Δ 32 Allele: The Next Case and the Review / M. Cycoń, J. Bratosiewicz-Wąsik, T. J. Wąsik // *AIDS Reviews*. – 2017. – Vol. 19. – № 4. – P. 219 – 230.
142. Smoleń-Dzirba, J. HIV-1 Infection in Persons Homozygous for CCR5- Δ 32 Allele: The Next Case and the Review / M. Rosińska, J. Janiec, M. Beniowski et al // *AIDS Reviews*. – 2017. – Vol. 19. – № 4. – P. 219 – 230.
143. Soldi, G. F. R. Major drug resistance mutations to HIV-1 protease inhibitors (PI) among patients exposed to PI class failing antiretroviral therapy in São Paulo State, Brazil / I. C. Ribeiro, C. M. Ahagon, L. P. O. Coelho et al. // *PLOS One*. – 2019. – Vol. 14. – № 10. – P: e0223210.
144. Steegen, K. High-level cross-resistance to didanosine observed in South African children failing an abacavir- or stavudine-based 1st-line regimen / L. Levin, I. Ketseoglou, M. Bronze et al. // *PLOS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 5. – P. e97067 – e97067.

145. Stirrup, O. T. Risk factors and outcomes for the Q151M and T69 insertion HIV-1 resistance mutations in historic UK data / D. T. Dunn, A. Tostevin, C. A. Sabin et al. // *AIDS Research and Therapy*. – 2018. – Vol.15. – № 1. – P.1 – 14.
146. Su, C.T. Structural analyses of 2015-updated drug-resistant mutations in HIV-1 protease: an implication of protease inhibitor cross-resistance / W. L. Ling, W. H. Lua, Y. X. Haw et al. // *BMC Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 17. – № 19. – P. 219 – 228.
147. Sullivan, A. K. Feasibility and effectiveness of indicator condition guided testing for HIV: results from HIDES I (HIV indicator diseases across Europe study) / D. Raben, J. Reekie, M. Rayment et al. // *PLOS One* – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. e52845.
148. Sundquist, W. I. HIV-1 assembly, budding, and maturation / H. G. Kräusslich // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2012. – Vol. 2. – № 8. – P. a006924 – a006924.
149. Tang, M. W. Nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutations associated with first-line stavudine-containing antiretroviral therapy: programmatic implications for countries phasing out stavudine / S. Y. Rhee, S. Bertagnolio, N. Ford et al. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 207. – № 2. – P. 70 – 77.
150. Tarasova, O. Computational approach for the prediction of HIV resistance based on amino acid and nucleotide descriptors / N. Biziukova, D. Filimonov, V. A. Poroikov // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23. – № 11. – P. 2751 – 2764.
151. Thompson, J.A. Europe–Africa Research Network for Evaluation of Second-line Therapy (EARNEST) Trial Team. Evolution of Protease Inhibitor Resistance in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infected Patients Failing Protease Inhibitor Monotherapy as Second-line Therapy in Low-income Countries: An Observational Analysis within the EARNEST Randomized Trial / C. Kityo, D. Dunn, A. Hoppe et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 68. – № 7. – P. 1184 – 1192.

152. Tostevin, A. UK HIV Drug Resistance Database. Recent trends and patterns in HIV-1 transmitted drug resistance in the United Kingdom / E. White, D. Dunn, S. Croxford et al. // *HIV Medicine*. – 2017. – Vol. 18. – № 3. – P. 204 – 213.
153. Tudor-Williams, G. Etravirine in treatment-experienced, HIV-1-infected children and adolescents: 48-week safety, efficacy and resistance analysis of the phase II PIANO study / P. Cahn, K. Chokephaibulkit, J. Fourie et al. // *HIV Medicine*. – 2014. – Vol. 15. – № 9. – P. 513 – 524.
154. United Nations Programme (UNAIDS). 90 – 90 – 90 – An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. – 2017. – P. 33.
155. van Westen, G. J. Significantly improved HIV inhibitor efficacy prediction employing proteochemometric models generated from antivirogram data / A. Hendriks, J. K. Wegner, A. P. Ijzerman et al. // *PLOS Computational Biology*. – 2013. – Vol. 9. – № 2. – P. 1 – 18.
156. Van Zyl, G. U. Trends in Genotypic HIV-1 Antiretroviral Resistance between 2006 and 2012 in South African Patients Receiving First- and Second-Line Antiretroviral Treatment Regimens / T. F. Liu, M. Claassen, S. Engelbrecht et al. // *PLOS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 6. – P. 1 – 8.
157. Vasavi, C. S. Drug Resistance Mechanism of L10F, L10F/N88S and L90M mutations in CRF01_AE HIV-1 protease: Molecular dynamics simulations and binding free energy calculations / R. Tamizhselvi, P. Munusami // *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. – 2017. – Vol. 75. – P. 390 – 402.
158. Wang, Y. Current and emerging non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) for HIV-1 treatment / E. De Clercq, G. Li // *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*. – 2019. – Vol. 15. – № 10. – P. 813 – 829.
159. Weikl, T. R. Accessory mutations balance the marginal stability of the HIV-1 protease in drug resistance / B. Hemmateenejad // *Proteins*. – 2020. – Vol. 88. – № 3. – P. 476 – 484.
160. Wensing, A. M. 2014 Update of the drug resistance mutations in HIV-1 / V. Calvez, H. F. Günthard, V. A. Johnson et al. // *Topics in Antiviral Medicine*. –

2014. – Vol. 22. – № 3. – P. 642 – 650.
161. Wensing, A.M. 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1 / V. Calvez, F. Ceccherini-Silberstein, C. Charpentier et al. // *Topics in Antiviral Medicine*. – 2019. – Vol. 27. – № 3. – P. 111 – 121.
162. Wood, R. Long-term safety study of fosamprenavir-containing regimens in HIV-1-infected patients / J. C. Gathe, N. Givens, S. Sedani et al. // *HIV Clinical Trials*. – 2013. – Vol. 15. – № 5. – P. 183 – 191.
163. World Health Organization global strategy for the surveillance and monitoring of HIV drug resistance: an update. World Health Organization. – 2012. – P. 24. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/77349>
164. World Health Organization. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. – 2015. – P. 78. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf
165. World Health Organization. Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Second ed. – 2016. – P. 84. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255880/1/9789241550055-eng.pdf?ua=1>. – Accessed: 14.07.2017
166. Yang, W. L. Swiss HIV Cohort Study (SHCS). Persistence of transmitted HIV-1 drug resistance mutations associated with fitness costs and viral genetic backgrounds / R. D. Kouyos, J. Böni, S. Yerly et al. // *PLOS Pathogens*. – 2015. – Vol. 11. – № 3. – P. 1 – 13.
167. Yang, W. L. Swiss HIV Cohort Study. Assessing the Paradox Between Transmitted and Acquired HIV Type 1 Drug Resistance Mutations in the Swiss HIV Cohort Study From 1998 to 2012 / R. Kouyos, A. U. Scherrer, J. Böni et al. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 212. – № 1. – P. 28 – 38.

168. Yoshida, Y. Structure, Synthesis and Inhibition Mechanism of Nucleoside Analogues as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs) / M. Honma, Y. Kimura, H. Abe // *ChemMedChem*. – 2020. – P. 1 – 24.
169. Zhang, Z. Expression, Purification and Characterization of Hiv-1 Capsid Precursor Protein p4 / L. Wang, S. Bai, J. Qiao et al. // *Protein Journal*. – 2018. – Vol. 37. – № 2. – P. 194 – 202.
170. Zhao, S. Prevalence of Transmitted HIV drug resistance in antiretroviral treatment naïve newly diagnosed individuals in China / Y. Feng, J. Hu // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol.70. – P. 12273.