

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПОЧЁТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Ожмегова Екатерина Никитична

**ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ВИЧ-1 НА ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ПЕРИОД С 2002 ПО 2020 ГГ.**

1.5.10. Вирусология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Бобкова Марина Ридовна

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1 Структура, жизненный цикл и патогенез ВИЧ-1	18
1.1.1 Структура вириона	18
1.1.2 Строение генома ВИЧ-1	19
1.1.3 Ген <i>pol</i> : строение и функционирование	20
1.1.4 Жизненный цикл ВИЧ-1	23
1.1.5 Патогенез ВИЧ-1	25
1.2 Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации.....	26
1.3 Основные понятия лекарственной устойчивости ВИЧ-1	30
1.3.1 Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1	30
1.3.2 Ингибиторы ферментов ВИЧ-1 и мутации к ним.....	32
1.3.2.1 Ингибиторы протеазы, мутации к ним и механизмы действия.....	32
1.3.2.2 Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, мутации к ним и механизмы действия.....	36
1.3.2.3 Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, мутации к ним и механизмы действия	39
1.3.2.4 Ингибиторы интегразы, мутации к ним и механизмы действия.....	41
1.3.3 Проблема лекарственной устойчивости ВИЧ-1	43
1.3.4 Причины возникновения лекарственной устойчивости.....	45
1.3.4.1 Факторы, связанные с приемом антиретровирусных препаратов	46
1.3.4.2 Факторы, связанные с биологией вируса	47
1.3.4.3 Факторы, связанные с пациентом	48
1.3.5 Приобретенная лекарственная устойчивость	50
1.3.5.1 Приобретенная лекарственная устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы	52

1.3.5.2 Приобретенная лекарственная устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы	53
1.3.5.3 Приобретенная лекарственная устойчивость к ингибиторам протеазы	55
1.3.5.4 Приобретенная лекарственная устойчивость к ингибиторам интегразы	56
1.3.6 Передающаяся и первичная лекарственная устойчивость	58
1.4 Мониторинг лекарственной устойчивости в Российской Федерации.....	59
1.4.1 Индикаторы раннего предупреждения	60
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	64
2.1 Объект исследования.....	64
2.2 Процедуры анализа провирусной ДНК и вирусной РНК	66
2.2.1 Процедуры анализа провирусной ДНК.....	66
2.2.1.1 Экстракция провирусной ДНК.....	66
2.2.1.2 Амплификация фрагментов генов <i>pol</i> ВИЧ-1	66
2.2.1.3 Электрофоретический анализ амплификатов	68
2.2.1.4 Очистка и концентрация образцов после амплификации.....	68
2.2.1.5 Секвенирование ампликонов	69
2.2.2 Процедура анализа РНК	69
2.2.2.1 Приготовление пробы	69
2.2.2.2 Обратная транскрипция	70
2.2.2.3 Полимеразная цепная реакция.....	70
2.2.2.4 Очистка продукта после амплификации и оценка количества ДНК	71
2.2.2.5 Циклическое секвенирование	71
2.3 Биоинформационные методы.....	72
2.3.1 Обработка нуклеотидных последовательностей.....	72
2.3.2 On-line генотипирование	72
2.3.3 Кластерный анализ.....	73

2.3.4	Статистическая обработка данных.....	73
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ		75
3.1	Характеристика исследуемой популяции	75
3.1.1	Клинико-эпидемиологическая характеристика включенных в исследование лиц	75
3.2	Анализ лекарственной устойчивости среди пациентов с опытом приема антиретровирусной терапии и вирусологической неэффективностью	79
3.2.1	Анализ применяемых антиретровирусных препаратов и устойчивости к ним.....	79
3.2.2	Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам препаратов антиретровирусной терапии	81
3.2.2.1	Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов в динамике.....	83
3.2.2.2	Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов по федеральным округам Российской Федерации.....	85
3.2.3	Частота встречаемости индивидуальных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов	87
3.2.3.1	Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам препаратов антиретровирусной терапии	88
3.2.3.1.1	Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы.....	88
3.2.3.1.2	Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы.....	90
3.2.3.1.3	Анализ частоты возникновения основных и надзорных мутаций к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы.....	93

3.2.4 Оценка мультирезистентности к разным классам антиретровирусных препаратов.....	95
3.2.5 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам.....	98
3.2.5.1 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к препаратам класса ингибиторов протеазы.....	98
3.2.5.2 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы.....	100
3.2.5.3 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы.....	101
3.2.6 Анализ факторов, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости	101
3.2.7 Анализ корреляции между продолжительностью приема антиретровирусной терапии и возникновением лекарственной устойчивости	103
3.3 Анализ лекарственной устойчивости среди пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии	104
3.3.1 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов.....	104
3.3.1.1 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов по федеральным округам Российской Федерации.....	106
3.3.1.2 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов в динамике.....	107
3.3.2 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов.....	109
3.3.2.1 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы	109

3.3.2.2 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы	110
3.3.2.3 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы	112
3.3.3 Оценка мультирезистентности к разным классам антиретровирусных препаратов.....	113
3.3.4 Анализ лекарственной устойчивости к индивидуальным антиретровирусным препаратам.....	115
3.3.5 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам.....	116
3.3.6 Анализ факторов, ассоциированных с лекарственной устойчивостью	118
3.3.7 Анализ генетических сетей передачи.....	119
3.3.8 Анализ индикаторов раннего предупреждения	122
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	137
ВЫВОДЫ.....	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142
Приложение А Перечень аббревиатур аминокислот.....	161
Приложение Б Перечень антиретровирусных препаратов и обозначающих их сокращений.....	162

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По состоянию на 2021 год в Российской Федерации (РФ) общее количество лиц, живущих с вирусом иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1), включая умерших, составило 1 562 570 человек, тогда как в 2020 году этот показатель составлял 1 492 998 человек (данные федерального научно-методического Центра по профилактике и борьбе со СПИДом Роспотребнадзора) [23]. В то же время продолжает регистрироваться значительное количество новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией (71 тыс. человек) [23]. Сейчас люди, живущие с ВИЧ, зарегистрированы во всех субъектах Российской Федерации (РФ), а число смертей продолжает сохраняться на высоком уровне (424 974 человек за весь период наблюдения) [23].

Вышеприведенные данные указывают на то, что состояние эпидемии ВИЧ-инфекции в России продолжает ухудшаться, а проводимых мер по остановке распространения вируса в стране недостаточно.

ВИЧ-инфекция является неизлечимым заболеванием, и в настоящее время целью лечения ВИЧ, основанного на антиретровирусной терапии (АРТ), является установление неопределяемой вирусной нагрузки (ВН) в крови. Это, в свою очередь, позволяет сохранить функцию иммунной системы, увеличить продолжительность и качество жизни пациента, а также снизить контагиозность ВИЧ-инфицированного человека и, следовательно, уровень распространения ВИЧ в популяции.

Внедрение АРТ и ее эффективность в борьбе с ВИЧ позволило разработать организациям, занимающимся ВИЧ-инфекцией специальные программы, обеспечивающие улучшение показателей, связанных с ВИЧ, по всем направлениям, начиная от снижения распространенности ВИЧ-инфекции и заканчивая качеством жизни пациентов.

Так, в 2014 году Объединенная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИДу (ЮНЭЙДС) представила новую стратегию по противодействию эпидемии ВИЧ - 90-90-90, в рамках которой к 2020 году 90% ВИЧ-инфицированных должны знать о своем ВИЧ-статусе, 90% из них должны получать АРТ и 90% из них должны добиться вирусологического успеха [24]. Помимо обеспечения АРТ всех инфицированных лиц, независимо от клинических проявлений, рекомендовано применять АРТ в до- и пост-контактной профилактике, а также для предотвращения вертикальной передачи ВИЧ от матери к ребенку [19].

В связи с постоянным ростом применения АРТ и высокой изменчивостью ВИЧ, особенно под воздействием АРТ у пациентов, имеющих так называемую субоптимальную терапию, когда пациент имеет приверженность в пределах 70-80%, растет частота возникновения лекарственной устойчивости (ЛУ) [122]. В свою очередь, наличие ЛУ у ВИЧ-инфицированного пациента влияет на эффективность терапии, что ведет за собой ограничение выбора и удорожание схем лечения, прогрессирование заболевания и, следовательно, повышенный риск летального исхода [93].

Устойчивость ВИЧ может возникать, если мутации устойчивости происходят под действием лекарственных препаратов; в таком случае ЛУ называют приобретенной (acquired drug resistance, ADR). Если же происходит заражение ранее неинфицированного человека устойчивым штаммом вируса, то такую устойчивость называют передающейся (transmitted drug resistance, TDR). Также существует понятие ЛУ перед лечением или первичная лекарственная устойчивость (pre-treatment drug resistance, PDR), которая выявляется у людей, никогда не принимавших АРТ или повторно начинающих ее [3]. И приобретенная, и передающаяся/первичная устойчивость представляют собой серьезную угрозу с точки зрения лечения ВИЧ-инфекции в силу того, что ограничивается выбор и повышается стоимость препаратов второй и последующих линий, способных подавить вирусную репликацию. Передающаяся ЛУ представляет собой особый интерес по причине того, что, помимо неуспеха уже первой линии терапии,

проявляющейся продолжением репликации вируса, она предполагает вероятность заражения других людей устойчивым вариантом вируса [3].

В настоящее время в РФ не проводится систематизированный мониторинг передающейся и первичной ЛУ для выявления регионов с высокой распространенностью устойчивых вариантов вируса. Генотипирование пациентов при вирусологической неэффективности лечения (приобретенная ЛУ) проводится в очень ограниченном числе случаев. При необходимости замены схем лечения врачи руководствуются почти исключительно историей лечения пациентов и дают новые назначения на основе клинических рекомендаций. Такая система назначения терапии, в особенности при повторных неудачах АРТ, при которой неизвестны данные о геноме вируса, влечет за собой ряд трудностей, в том числе дополнительные финансовые затраты [14; 16; 143].

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует проводить мониторинг ЛУ ВИЧ как необходимую часть всех стратегических национальных программ по противодействию распространению устойчивых вариантов вирусов [4]. На сегодняшний день существует особый вид надзора, который не требует проведения генотипирования вируса, но может ориентировочно оценить вероятность распространения устойчивых вариантов ВИЧ. Данный вид надзора называется мониторинг индикаторов раннего предупреждения (ИРП). ИРП это показатели, оценивающие состояние назначения и эффективности терапии в отдельно взятом медицинском учреждении. В их числе находится оценка приверженности пациентов к лечению, ограничение доступа к лечению и правильность назначения АРТ [4].

Все вышеизложенное указывает на то, что, несмотря на существование оптимизированных клинических рекомендаций и успехи науки в создании новых препаратов, которые обладают большей эффективностью в борьбе с ВИЧ, эпидемия продолжает развиваться, а вместе с ней продолжает развиваться ЛУ, и поэтому актуальность данной темы стоит вне всяких сомнений.

СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на то, что охват тестированием пациентов на наличие ЛУ крайне низок, исследования на тему уровня и структуры ЛУ проводятся уже давно, и к настоящему времени существует немало публикаций. Так, недавно было проведено масштабное исследование, охватывающее ВИЧ-инфицированных людей с неудачей терапии из всех федеральных округов (ФО) России, однако большинство данных пациентов были из Центрального ФО (714 чел.), в то время как в остальных округах выборка пациентов варьировалась от 1 до 60 чел. [8]. В остальных работах исследования на тему ЛУ у пациентов с опытом приема терапии проводились в разных регионах, на разных выборках, использовались разные методики и интерпретации результатов [10; 11; 20; 22]. Таким образом, систематизированного и обобщенного исследования, которое позволяло бы экстраполировать полученные результаты на страну в целом и охватывало бы период времени с начала масштабного применения АРТ в России и до настоящего времени, не проводилось.

Аналогично ситуация обстояла и с первичной ЛУ, в отношении которой существует только одно масштабное исследование распространенности ЛУ перед началом терапии, где выборка состояла из 1560 пациентов, проживавших в разных ФО России. В данном исследовании были получены важные сведения о частоте встречаемости основных мутаций ЛУ, динамике распространенности первичной ЛУ, а также распространенности первичной ЛУ в зависимости от ФО России [9]. Тем не менее, вопросы о факторах, ассоциированных с развитием ЛУ и кластерах передачи лекарственно-устойчивых вариантов вирусов оставались открытыми. Также было проведено несколько исследований в разных регионах РФ, результаты которых сложно сравнить между собой в силу различий между когортами пациентов и использованными методиками выполнения исследований [5; 7; 9; 76].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространенность и структуру лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в регионах Российской Федерации и выявить основные причины, влияющие на ее развитие.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Определить и проанализировать нуклеотидные последовательности фрагментов областей гена *pol*, кодирующего основные мишени терапии ВИЧ-1, и соответствующие им клинико-эпидемиологические данные, собранные в Российской Федерации в период с 2002 по 2020 гг.

2. Охарактеризовать мутации приобретенной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и установить частоту их встречаемости у леченных пациентов с неэффективностью терапии.

3. Выполнить анализ первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и установить частоту индивидуальных мутаций в когорте пациентов без опыта лечения.

4. Определить различия в частоте встречаемости первичной и приобретенной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 между федеральными округами Российской Федерации.

5. Провести анализ приобретенной и первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в динамике с 2002 по 2020 год.

6. Выполнить анализ генетических сетей передачи ВИЧ-инфекции.

7. Провести мониторинг индикаторов раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в региональных Центрах по профилактике и борьбе со СПИДом.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые проведено масштабное и систематизированное исследование, посвященное оценке структуры и уровня ЛУ ВИЧ-1, затрагивающее различные регионы РФ. Достижимость получения надежного результата обеспечивается существованием уникального и большого объема данных о нуклеотидных последовательностях ВИЧ, а также клинико-эпидемиологических показателях, имеющихся в распоряжении лаборатории вирусов лейкозов подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Впервые показана динамика изменчивости ЛУ и оценка профиля и частоты встречаемости мутаций ЛУ у пациентов, испытавших неуспех лечения, а также пациентов, которые только начинают первую линию терапии. Эта информация носит принципиальный характер, поскольку оценивается влияние профиля данных мутаций на эффективность лекарственных средств для лечения ВИЧ-инфекции, как среди пациентов, уже имеющих опыт приема терапии, так и у пациентов без опыта АРТ.

В ходе выполнения работы впервые проведен мониторинг ИРП ЛУ ВИЧ-1 в 11-ти регионах РФ, который, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, должен ежегодно проводиться во всех региональных Центрах профилактики и борьбы со СПИДом (далее Центры СПИД) и который представляет собой программные и клинические факторы АРТ, коррелирующие с возникновением предотвратимой ЛУ ВИЧ на популяционном уровне.

ТЕОРИТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

В теоретическом аспекте значимость работы заключается в получении обобщенной и систематизированной информации, касающейся ЛУ, среди пациентов, которым предстоит начать АРТ, а также среди тех, кто уже получает это лечение в России. Данная информация вносит существенный вклад в

представления мировой науки о распространенности первичной и приобретенной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и профилях их мутаций.

Проведен мониторинг ИРП, который дает фактические данные о ситуациях, провоцирующих возникновение ИРП, для всех лиц, получающих АРТ, и может способствовать выявлению клинических или программных событий, заслуживающих более пристального внимания и поддержки.

В прикладном аспекте значимость работы состоит в обосновании рекомендации о необходимости применения генотипирования ВИЧ-1 до начала терапии у «наивных» пациентов для оптимального подбора лекарственных средств лечения ВИЧ-инфекции. Даны рекомендации о предпочтительном выборе схем АРТ на основании сведений о геноме ВИЧ-1, вызвавшем заражение у пациентов, которые испытали неуспех терапии, что, без сомнения, способно дать экономический эффект и положительно сказаться на качестве и продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных пациентов.

Полученные в результате выполнения проекта данные доведены до сведения специалистов, занимающихся лечением и диагностикой ВИЧ-инфекции, включая научных и клиничко-лабораторных сотрудников, и найдут свое применение в практике диагностики и лечения ВИЧ-инфекции.

ВНЕДРЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ В ПРАКТИКУ

Результаты диссертационной работы внедрены в научно-практическую деятельность государственного казенного учреждения здравоохранения «Московский областной центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями» при работе с когортами пациентов как с опытом приема антиретровирусной терапии, так и без опыта, которые значительно повысили качество лечения ВИЧ-инфекции, а также результаты диссертации внедрены в учебный процесс кафедры вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская академия непрерывного

профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основу методологии настоящей работы составили современные теоретические и экспериментальные подходы изучения лекарственной устойчивости ВИЧ-инфекции. В исследовании были использованы такие современные экспериментальные подходы молекулярной биологии как автоматическая экстракция ДНК из лимфоцитов колоночным методом, ПЦР-амплификация, очистка, полученных ампликонов колоночным методом, а также секвенирование целевого фрагмента по Сэнгеру; современные биоинформатические методы анализа генетической информации (программы для анализа популяций последовательностей ВИЧ-1, статистические методы для оценки представленности и характера мутаций лекарственной устойчивости).

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Среди нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 от пациентов с опытом приема терапии и вирусологической неэффективностью большинство составляют устойчивые варианты вируса к НИОТ, ННИОТ и НИОТ+ННИОТ за счет преобладания мутаций M184V/I и G109A/S.

2. В структуре первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 преобладают устойчивые варианты вируса к НИОТ, ННИОТ и НИОТ+ННИОТ за счет мутаций M184V/I и K103N.

3. Наибольшая частота встречаемости первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии в регионах России отмечена в Центральном и Сибирском округах Российской Федерации.

4. Наиболее пораженными в отношении распространенности приобретенной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 являются Центральный и Уральский округа Российской Федерации.

5. Отмечено преобладание доли ВИЧ-1, имеющих мутации лекарственной устойчивости к препаратам классов НИОТ+ННИОТ, НИОТ и ННИОТ, среди пациентов с неудачей терапии в период с 2005 по 2019 гг..

6. Наиболее часто выявляемые мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ННИОТ и НИОТ+ННИОТ (M184V, K103N, G190S) связаны с генетическими сетями передачи устойчивых штаммов между пациентами.

7. Анализ индикаторов раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в региональных Центрах по профилактике и борьбе со СПИДом указывает на то, что сниженная приверженность пациентов является центральной проблемой лечения, которая создает условия для формирования устойчивых штаммов ВИЧ-1.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Степень достоверности полученных результатов является высокой за счет репрезентативности объема выборки обследованных пациентов (3023 человека) и фактического материала, а также за счет применения современных молекулярно-биологических методов исследования: экстракция ДНК/РНК, амплификация, секвенирование ампликонов методом Сэнгера. Надежность результатов была обеспечена статистической обработкой полученных результатов при уровне значимости $<0,05$.

АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тема диссертации утверждена на ученом совете ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 1 июля 2021 г.. Апробация диссертации состоялась 25 января 2023 года на совместной научной конференции отдела общей вирусологии

и Совета по предварительной экспертизе диссертационных работ подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Протокол №48).

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на: международной конференции в Париже (Франция) «18th European Meeting on HIV & Hepatitis» (28-30 октября 2020 г.); всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием в Сочи (Россия) «Социально значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (8-11 ноября 2022 г.) и международной встрече студентов-медиков в Санкт-Петербурге (Россия) «XVI IFMSA European Regional Meeting EuRegMe 2019» (20-24 апреля 2019).

ДЕКАЛАРАЦИЯ ЛИЧНОГО УЧАСТИЯ АВТОРА

Основные разделы диссертационной работы (написание литературного обзора, результатов и их обсуждения, статистическая обработка данных, многофакторный анализ, кластерный анализ, построение графиков и диаграмм), а также выделение провирусной ДНК/РНК, амплификация и секвенирование по Сэнгеру 1200 образцов от ВИЧ-инфицированных пациентов сделаны автором лично. Выделение провирусной ДНК/РНК, амплификация и секвенирование по Сэнгеру 1823 образцов от ВИЧ-инфицированных пациентов сделаны сотрудниками лаборатории вирусов лейкозов подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, а именно: к.б.н. Лебедевым А.В., к.б.н. Лагой В.Ю., Ким К.В., Громовым К.Б., Тумановым А.С., д.б.н. Казенновой Е.В.. Сбор биологического материала проводился с участием сотрудников региональных Центров СПИД.

СООТВЕТСТВИЕ ДИССЕРТАЦИИ ПАСПОРТУ НАУЧНОЙ СПЕЦИАЛЬНОСТИ

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

ПУБЛИКАЦИИ

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 1 статья в зарубежном издании и 2 тезиса в сборниках материалов всероссийских и международных конференций.

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация изложена на 163 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перечня условных обозначений, библиографического списка литературы, включающего 155 источников, в том числе 25 отечественных и 130 зарубежных, а также 2 приложения. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 41 рисунком.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Структура, жизненный цикл и патогенез ВИЧ-1

Вирус иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) является РНК-вирусом и принадлежит к семейству *Retroviridae* и роду *Lentivirus*. Отличительной особенностью вирусов этого семейства является способность осуществлять реакцию матричного синтеза в направлении РНК-ДНК, такой способ репликации называется обратной транскрипцией [72].

1.1.1 Структура вириона

Вирион ВИЧ-1 представляет собой сферической формы микрочастицу с диаметром примерно 110-130 нм, в центре которого находятся две молекулы РНК, составляющие геном вируса и имеющие длину около 10 000 пар нуклеотидов. Оболочка вируса ВИЧ представляет собой липидный бислой с включениями белков клеточной мембраны (Рисунок 1) [81; 155].

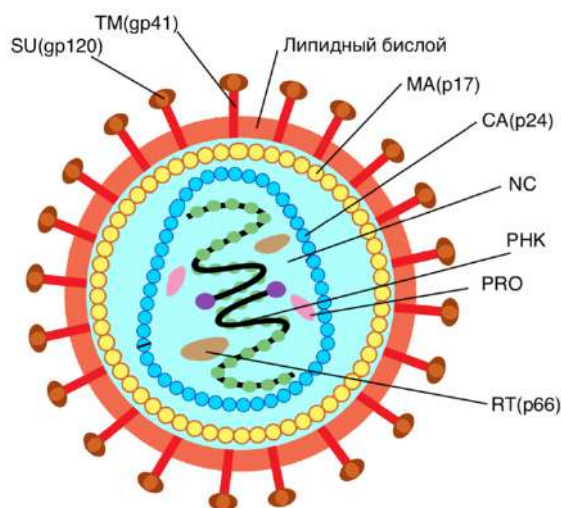


Рисунок 1 - Строение вириона ВИЧ

(рисунок адаптирован из электронного ресурса Shutterstock «Structure of human immunodeficiency virus (HIV)» (2022); <https://www.shutterstock.com/ru/image-vector/structure-human-immunodeficiency-virus-hiv-vector-132754418>)

Внутренняя часть вируса ВИЧ-1 сформирована капсидом (CA-p24) и матриксом (MA-p17). Матриксный белок расположен в тесном контакте с мембраной вириона и гликопротеином gp41. В свою очередь, нуклеокапсид (NC) представлен молекулами капсидного белка и связан с кором (cor) вириона благодаря белку р6. Кор ВИЧ-1 представлен двумя молекулами вирусной РНК, которые являются одноцепочечными. РНК ВИЧ-1 связана с ферментами вируса, они находятся в матриксе и называются - обратная транскриптаза (RT-p66), протеаза (PRO) и интегразы (IN) [58].

Кроме того, наружная мембрана вириона включает в себя белки вируса, а именно: трансмембранный гликопротеин (TM-gp41) и внешний гликопротеин (SU-gp120), которые называются оболочечными белками (Env), связанные между собой нековалентными связями и формирующие на поверхности вирионов шипы. Белки gp41 и gp120 отвечают за процесс слияния вирусной и клеточной мембран [72].

1.1.2 Структура генома ВИЧ-1

В составе вириона ВИЧ-1 находятся две одинаковые одноцепочечные молекулы РНК, которые несут функцию матричной (информационной) и непосредственно кодируют белки вируса. Вирионная РНК содержит 9 генов, которые кодируют 15 различных вирусных белков (Рисунок 2) [56].

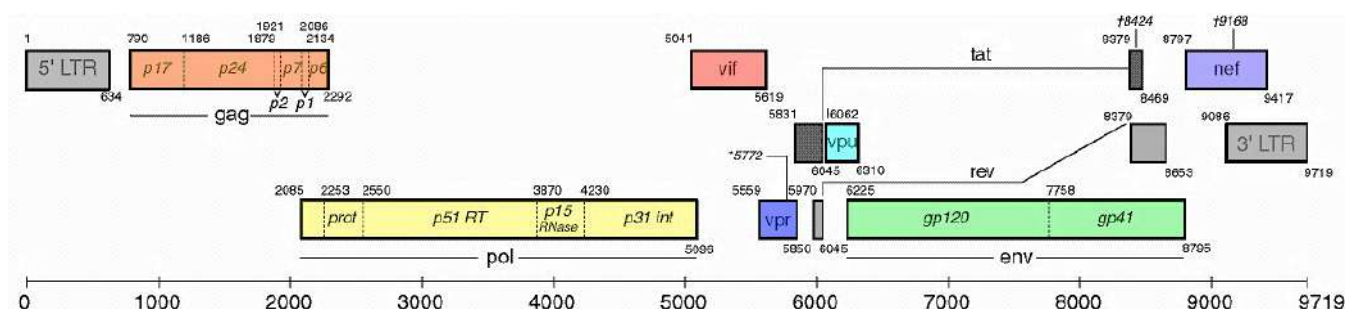


Рисунок 2 – Структура генома ВИЧ-1

Примечание - цифры над блоками показывают координаты положения нуклеотидов вирусного генома относительно положения нуклеотидов референсного штамма ВИЧ-1 HXB2 (GenBank Accession No: K03455). Рисунок адаптирован из электронного ресурса [45].

Геном ВИЧ-1 включает в себя гены *gag* (group-specific antigen), кодирующий внутренние белки (около 2000 п.н.), *pol* (polymerase – около 2900 п.н.), кодирующий три фермента ВИЧ-1 (протеазу, обратную транскриптазу и интегразу), и *env* (envelope – 1800 п.н.), кодирующий, как говорилось выше, оболочечные белки gp41 и gp120 и гены неструктурных белков, а именно: *tat*, *rev*, *vif*, *nef*, *vpr* и *vpr*. Неструктурные белки (среди них выделяют регуляторные и вспомогательные) выполняют различные регуляторные функции в течение жизненного цикла вируса и не входят в состав зрелых вирусных частиц (кроме *vpr* и *vpr* у ВИЧ-2) [1; 72].

На обоих концах молекулы РНК (5'-конец и 3'-конец) находятся «длинные концевые повторы» (long terminal repeats – LTR), которые выполняют регуляторные функции и участвуют в контроле репликации вируса. В LTR расположены промоторы и энхансеры транскрипции информационной РНК с ДНК провируса [72].

1.1.3 Ген *pol*: строение и функционирование

Как было сказано выше, ген *pol* кодирует три фермента ВИЧ-1, отвечающие за важные этапы функционирования и экспрессии генов вируса - протеаза, обратная транскриптаза и интегразы.

Протеаза ВИЧ-1 относится к классу аспартильных протеаз и представлена в виде димера с молекулярной массой 10-11 кДа. Протеаза осуществляет процесс созревания вириона в виде нарезания полипротеинов-прекурсоров *gag* и *gag-pol*, образующиеся при трансляции мРНК в результате рибосомального сдвига рамки считывания (ribosomal frameshifting) *gag* → *pol* с частотой около 5% [97]. Активный центр протеазы расположен между двумя доменами и сформирован шестью остатками, каждый из которых представлен аминокислотной последовательностью Asp-Thr-Gly (Рисунок 3). Активная зона протеазы, то есть участок связывания с субстратом, представляет собой консервативный участок и прикрыта двумя клапанами, которые обозначаются как «створки» (flaps). Другие относительно консервативные аминокислотные остатки протеазы, участвующие во

взаимодействии с субстратом, локализуются в положениях I47, G48, L76, D30, V82 и I84 [35; 38; 104].

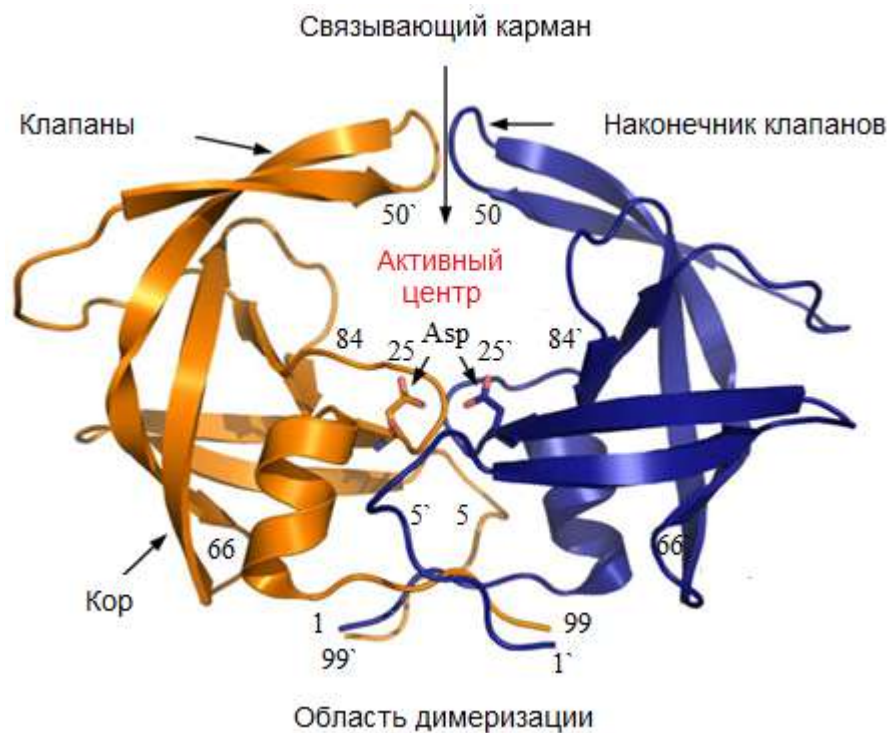


Рисунок 3 – Трехмерная структура протеазы ВИЧ-1
(рисунок адаптирован из статьи [133])

Фермент обратная транскриптаза синтезирует двуцепочечную копию ДНК на матрице вирусной РНК [116]. Этот фермент обладает магниевой зависимостью и образован двумя димерами - р51 с мол.м. 51 кДа и р66 с мол.м. 66 кДа (Рисунок 4) [67; 73]. Эти гетерогенные фракции обладают 3-мя ферментативными активностями: РНК-зависимой ДНК-полимеразной активностью, активностью РНКазы Н и ДНК-зависимой ДНК-полимеразной активностью [1]. За РНК-зависимую ДНК-полимеразную и ДНК-зависимую ДНК-полимеразную активность отвечает субъединица р51. За активность РНКазы Н отвечает субъединица р66. ДНК-зависимой ДНК-полимеразная активность обратной транскриптазы реализуется, когда достраивается вторая цепь вирусной ДНК на основе первой. Важной особенностью обратной транскриптазы является ее неспособность удалять

ошибки репликации, что приводит к образованию точечных мутаций в каждом цикле репликации [1].

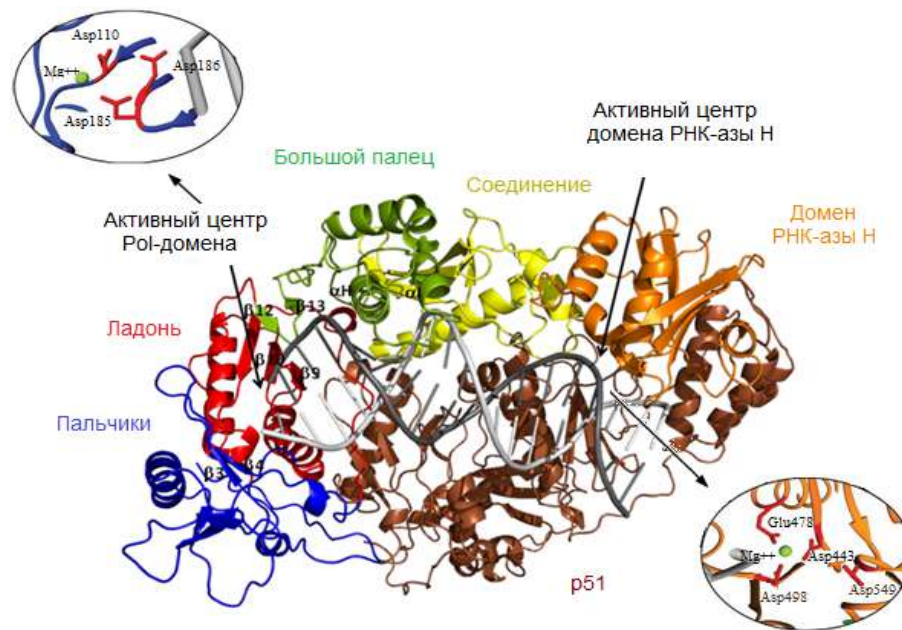


Рисунок 4 – Трехмерная структура обратной транскриптазы ВИЧ-1
(рисунок адаптирован из статьи [136])

Интеграза – фермент, осуществляющий встраивание провирусной ДНК ВИЧ после обратной транскрипции в геном клетки-хозяина. Интеграза имеет молекулярную массу 31 кДа и обозначается в связи с этим как p31. Данный фермент имеет три различные функции, а именно: экзонуклеазную активность, благодаря которой происходит процесс отщепления пары нуклеотидов с 3'-конца провирусной ДНК; эндонуклеазную активность, в ходе которой в будущей точке интеграции расщепляется ДНК клетки-хозяина; лигазную активность, с помощью которой образуется ковалентная связь на каждом конце провирусной ДНК за счет отщепления с 3' и 5' концов LTR по две пары нуклеотидов [39].

Протеаза, обратная транскриптаза и интеграза ВИЧ являются главными мишенями для создания АРВ-препаратов. В настоящее время разработаны лекарственные препараты, подавляющие активность данных ферментов, которые широко применяются в клинической практике для АРТ [1].

1.1.4 Жизненный цикл ВИЧ-1

Основными мишенями ВИЧ-1 являются CD4-Т лимфоциты, а также все клетки, которые на своей поверхности имеют рецептор CD4 и хемокиновые корецепторы CC или CXC-типа (например, CCR5 и CXCR4). Жизненный (репликативный) цикл ВИЧ-1 в типичных клетках-мишенях начинается с момента присоединения вируса с помощью белка gp120 (SU) к CD4-рецепторам и CCR5/CXCR4-корецепторам клетки (Рисунок 5) [92].

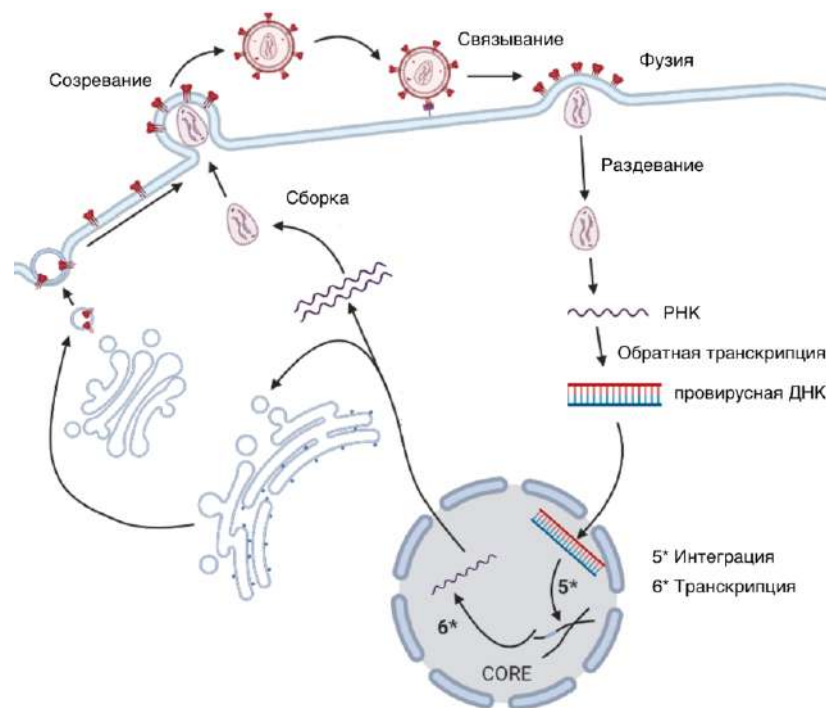


Рисунок 5 – Жизненный цикл ВИЧ-1

(рисунок адаптирован из электронного ресурса Biorender «HIV-1 replication cycle» (2022); <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-63e3bb9471812fa6cae3eb0b-hiv-replication-cycle>)

После того, как вирусная частица адсорбировалась на поверхности клетки-мишени, вирус проникает в цитоплазму клетки-хозяина путем изменения конформации поверхностных белков ВИЧ-1 с образованием фузогенно-активного комплекса и слияния мембран [71].

После слияния оболочки вируса с мембраной клетки-хозяина внутренние структуры вируса попадают в цитоплазму, где происходит «раздевание» вируса и высвобождение РНК от белков капсида (CA) и нуклеокапсида (NC). В результате данного процесса образуется вирусный обратнo-транскрипционный комплекс, включающий в себя две геномные одноцепочечные РНК, праймер тРНК лизина, обратную транскриптазу, матриксный белок, нуклеокапсидный белок, Vpr и некоторые белки клетки-хозяина. Далее происходит процесс непосредственно обратной транскрипции, то есть образования двуцепочечной ДНК-копии вирусного генома на матрице вирусной РНК с дальнейшим разрушением последней. В случае ВИЧ-1 это становится возможным из-за существования 2-х идентичных LTR-повторов, которые принимают активное участие в процессе интеграции провируса. Более того, важным событием в обратной транскрипции являются так называемые «прыжки», то есть перенос растущих цепочек ДНК на комплементарные участки противоположного конца генома [65].

После стадии обратной транскрипции двуцепочечная ДНК-копия сформировывается в преинтеграционный комплекс (pre-integration complex, PIC) и в таком виде поступает к ядерной оболочке. У ядерной оболочки PIC подвергается транслокации в нуклеоплазму, где происходит интеграция двуспиральной ДНК с геномом хозяина с помощью вирусного фермента интегразы. Участок клеточной ДНК, который провирусная ДНК ВИЧ выбирает для интеграции зависит от его транскрипционной активности, то есть, чем она больше, а значит она не прикрыта гистонами, тем этот участок считается приоритетным для вируса. С момента интеграции может начаться стадия латентной инфекции, когда ВИЧ находится в клетке-хозяине в виде интегрированной ДНК, то есть провирусной ДНК [44].

На поздней фазе жизненного цикла ВИЧ-1 происходит экспрессия продуктов генов ВИЧ и сборка вирусных частиц. Как только интеграция завершается, происходит транскрипция провирусной ДНК с помощью клеточной РНК-полимеразы II [146]. Для геномной РНК ВИЧ-1 характерно то, что процесс сплайсинга у нее не происходит, зато она вместе с полипротеинами Gag-Pol, Gag, неструктурными белками вируса (Vif, Vpr и Nef), клеточными пептидами и Env-

белками упаковывается в вирионы и отпочковывается. Далее полипротеины-предшественники Gag-Pol и Gag нарезаются вирусной протеазой до отдельных белков Gag и Pol, что приводит к созреванию вирусных частиц, способных заражать другие клетки хозяина [58].

1.1.5 Патогенез ВИЧ-1

На ранних стадиях патогенеза ВИЧ-инфекции происходит активное размножение вируса в желудочно-кишечном тракте, селезенке и костном мозге. Этот процесс, называемый острой инфекцией, происходит быстро (в течение двух дней) и беспрепятственно ввиду того, что иммунный ответ на инфекцию еще не сформирован, поэтому вирусная нагрузка увеличивается до 10^7 и более копий РНК/см³, а количество CD4+ Т-лимфоцитов снижается. Снижение CD4+ Т-лимфоцитов происходит благодаря тому, что формируется иммунный ответ и активируются CD4+ Т-клетки, которые становятся мишенями ВИЧ-1 (Рисунок 6). Часть из них погибает, а другая часть перемещается в лимфоузлы из кровотока [25].

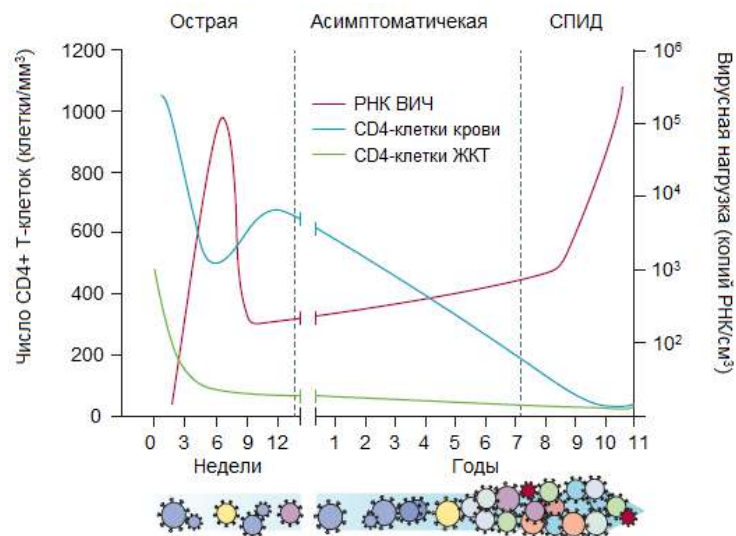


Рисунок 6 – Динамика ВИЧ-инфекции в отсутствие ART

Примечание - на рисунке показана динамика течения ВИЧ-инфекции, характеризующаяся изменением вирусной нагрузки и числа CD4-Т-лимфоцитов. Внизу рисунка указано изменение генетического разнообразия популяции вируса в течение инфекции. Рисунок адаптирован из статьи [83].

Другим немаловажным объектом, влияющим на иммунопатогенез ВИЧ является гликопротеин gp120 в составе оболочки вируса, который легко взаимодействует с миелоидными дендритными клетками, в свою очередь, предназначенными для захвата патогенных микроорганизмов и дальнейшей миграции комплекса в лимфоузлы для стимуляции Т-клеточного ответа. Связанные с дендритными клетками вирусные частицы с gp120 на поверхности не «перевариваются» данными клетками, а мигрируют в лимфоузлы и высвобождаются, и вместо положенной презентации генов заражают CD4+Т-клетки, которые в период острой ВИЧ-инфекции перераспределяются из кровотока в лимфоузлы [1; 25; 72].

Параллельно с активацией CD4+Т-клеток происходит активация и других иммунных клеток (В-клетки, CD8+ Т-клетки и естественные киллеры - NK), что со временем переводит инфекцию из острого состояния в хроническое. Хроническая инфекция ведет постепенно к истощению пула активированных клеток, что заканчивается самоуничтожением этих клеток (апоптоз) [25].

Использование пациентом с ВИЧ-инфекцией АРТ ведет к существенному снижению вирусной нагрузки и повышению уровня CD4+Т-клеток, что не дает перейти инфекции в состояние СПИДа (синдрома приобретенного иммунодефицита), которое характеризуется наличием оппортунистических инфекций и повышенным риском летального исхода [42; 94].

1.2 Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации

В соответствии с данными, опубликованными федеральным научно-методическим центром по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора [23], эпидемия ВИЧ-инфекции в Российской Федерации продолжает развиваться не в лучшую сторону. По состоянию на конец 2021 года в Российской Федерации общее количество лиц, живущих с вирусом

иммунодефицита человека 1-го типа, включая умерших, составило 1 562 570 человек, тогда как в 2019 году этот показатель составлял 1 417 875 человек, то есть общее число зарегистрированных лиц с ВИЧ-инфекцией за 3 года увеличилось на 9,3% (Рисунок 7) [23].

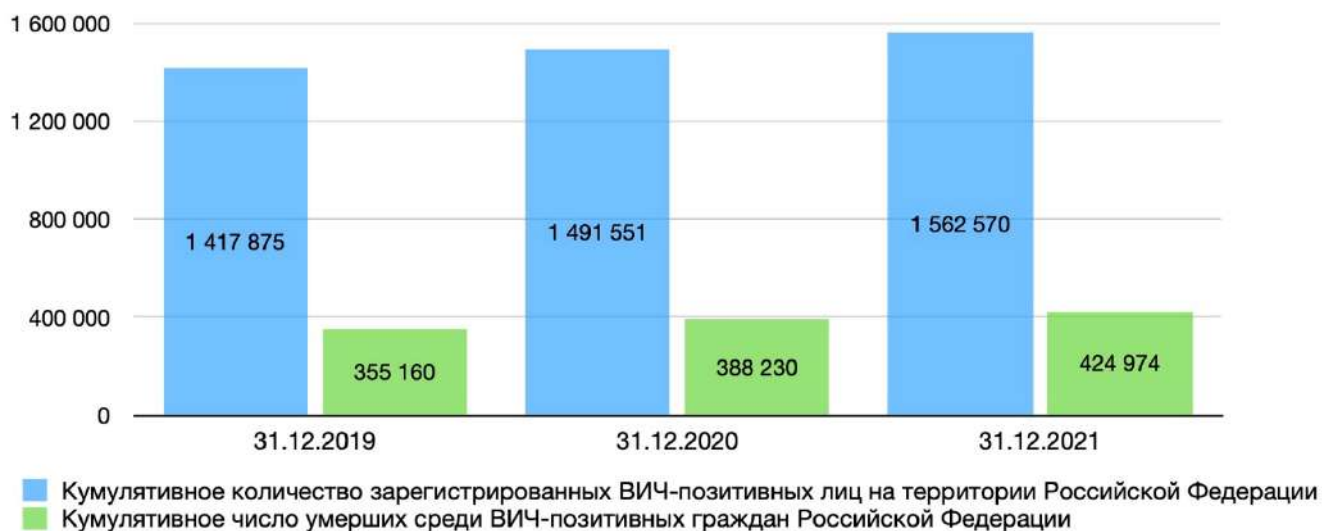


Рисунок 7 – Кумулятивное число зарегистрированных и умерших ВИЧ-положительных лиц на территории РФ за 2019-2021 года [23]

Число умерших среди ВИЧ-положительных граждан Российской Федерации тоже увеличивается со временем. Так, на конец 2019 года это число составляло 355 160 человек, в конце 2020 года - 388 230 человек, а уже на конец 2021 года этот показатель достигал 424 974 человек [23]. В то же время продолжает регистрироваться значительное количество новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией (71 тыс. человек в период за 2021 г.). Люди, живущие с ВИЧ (ЛЖВ), зарегистрированы уже во всех субъектах Российской Федерации. Наиболее пораженными ВИЧ-инфекцией Федеральными округами оказались Приволжский (332 860 человек), Сибирский (305 704) и Центральный (264 076) (Рисунок 8) [23].

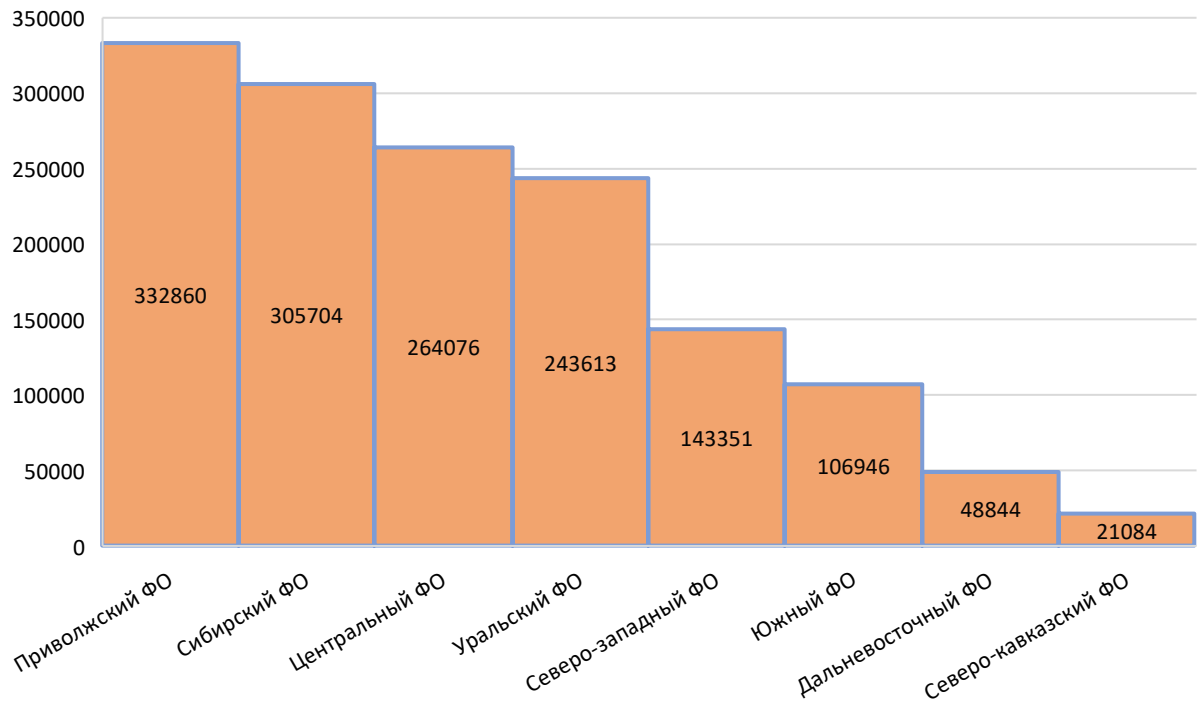


Рисунок 8 – Пораженность ВИЧ-инфекцией в Федеральных округах РФ за 2021 год [23]

В то же время Кемеровская, Иркутская и Свердловская области входили в число самых пораженных областей ВИЧ-инфекцией с показателем 2210,7, 2068,1 и 1906,9 человек соответственно на 100 000 населения России (Рисунок 9) [23].

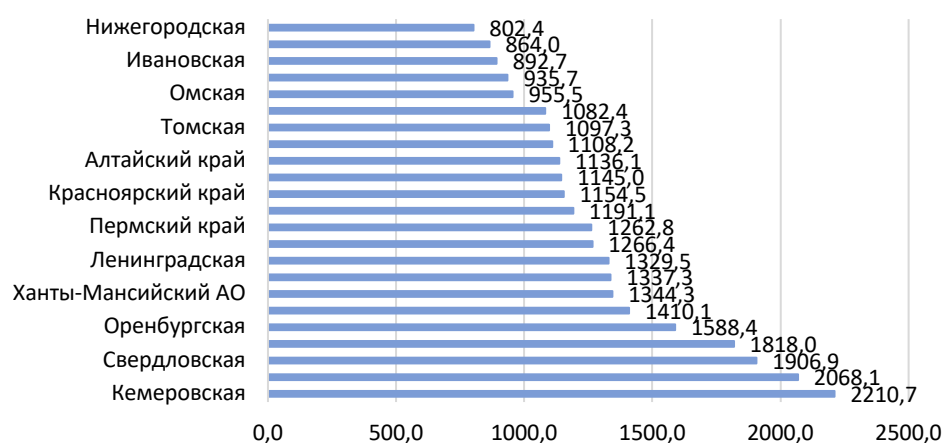


Рисунок 9 – Наиболее поражённые ВИЧ-инфекцией области РФ за 2021 год [23]

С 2000 года в РФ регистрируется ежегодный рост количества пациентов с ВИЧ-инфекцией и рост пациентов, умерших по причине, связанной с ВИЧ.

Ежегодно прирост количества больных ВИЧ увеличивается в среднем на 10-15% (Рисунок 10) [23].

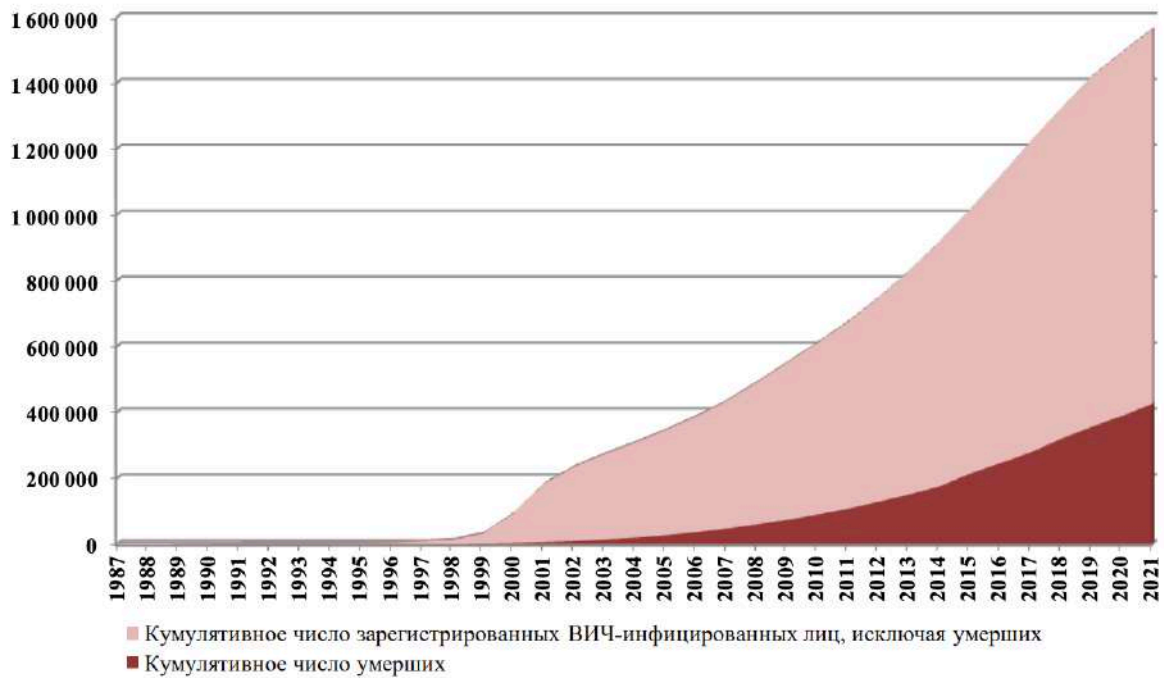


Рисунок 10 – Динамика зарегистрированных лиц с ВИЧ-инфекцией за весь период существования ВИЧ в РФ (1987-2020) [23]

По данным мониторинга Роспотребнадзора за 2021 год «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ», на лечении АРТ находилось 660 821 пациентов, в то время как на диспансерном учете находилось 803 796 человек, то есть охват лечением составил 82,2% [23]. Данный показатель не удовлетворяет стратегии 90-90-90, которая была принята в 2014 году Объединенной программой ООН (Организации объединенных наций) по ВИЧ/СПИДу (ЮНЕЙДС), где 90% ВИЧ-инфицированных должны знать свой статус, 90% из них должны получать АРТ и 90% получающих АРТ должны быть с подавленной вирусной нагрузкой [24].

Общая эпидемиологическая ситуация в Российской Федерации указывает на то, что проводимых мер недостаточно для того, чтобы остановить распространение ВИЧ в России.

1.3 Основные понятия лекарственной устойчивости ВИЧ-1

1.3.1 Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1

Нуклеотидные замены в геноме ВИЧ, которые способствуют снижению чувствительности вируса к действию АРВ-препаратов называются мутациями ЛУ. В свою очередь, мутации ЛУ являются причиной снижения эффективности препаратов первой и последующих линий АРТ, а также причиной снижения количества альтернативных схем АРТ [1].

Мутации ЛУ, как правило, располагаются непосредственно в активных центрах ферментов или в других их доменах, способных связывать лекарства. Мутации ЛУ можно классифицировать как первичные, непосредственно снижающие чувствительность к лекарственным препаратам и обычно снижающие жизнеспособность вируса, и вторичные, которые улучшают фитнес (репликативную способность) вариантов, восстанавливая его энзиматическую активность, и могут возникать в любом участке генома ВИЧ, что способствует дальнейшему снижению восприимчивости к АРВ-препаратам [41]. Как правило, вирусы, устойчивые к АРВ-препаратам, имеют в своем геноме несколько мутаций резистентности, включая первичные и вторичные замены, в связи с тем, что наличие одной первичной мутации устойчивости не всегда приводит к развитию у вируса резистентности к препарату, чаще всего к ИП и ННИОТ [1].

Выделяют несколько уровней устойчивости [107; 123]:

1. Низкий уровень устойчивости – обозначает ситуацию, когда вирус, кодируемый представленной последовательностью, может иметь незначительно пониженную чувствительность к препаратам АРТ *in vitro* или пациенты, инфицированные вирусом с мутациями, могут иметь субоптимальный вирусологический ответ, то есть максимального подавления вирусной нагрузки у таких пациентов не происходит;
2. Средний уровень устойчивости (потенциально низкий) – означает, что последовательность генома вируса может содержать мутации, указывающие на

предыдущее воздействие АРТ или может содержать мутации, которые связаны с устойчивостью, только когда они возникают с дополнительными мутациями;

3. Высокий уровень устойчивости – означает, что вирус, кодируемый представленной последовательностью, имеет резистентность к препаратам АРТ *in vitro*, при этом существуют клинические данные, демонстрирующие, что пациенты с такими мутациями не имеют достаточного вирусологического ответа к лечению АРТ;

4. Уровень чувствительности – отсутствие признаков пониженной чувствительности к АРТ препаратам в сравнении с «диким» типом вируса.

Для ВИЧ-1, обладающего высокой изменчивостью, характерно явление естественного полиморфизма, отражающее сформированные в ходе эволюции различия между генетическими вариантами ВИЧ. Мутации полиморфизма, или полиморфные мутации могут возникнуть в позициях, связанных с резистентностью, и встречаться у нелеченых пациентов с частотой более 90%, однако не приводят к снижению чувствительности вирусов [1].

Также существует понятие основных и, так называемых, надзорных мутаций. Основные мутации являются клинически значимыми (то есть при их наличии вирус продолжает реплицироваться в организме человека, даже несмотря на прием АРТ) и связаны с фенотипической резистентностью (размножение вируса в лабораторных условиях при добавлении к нему АРВ-препаратов) и/или с самыми убедительными клиническими данными о неэффективности терапии при наличии данных мутаций. Основные мутации не включают в себя мутации полиморфизма. Надзорные мутации ЛУ включают в себя мутации, вызывающие или способствующие развитию лекарственной устойчивости [127].

Для оценки распространенности первичной устойчивости используют особый список мутаций, включающий в себя все основные и некоторые дополнительные мутации, однако не содержащий мутаций полиморфизма; это сделано для того, чтобы избежать завышения показателя распространенности вследствие учета полиморфных мутаций в позициях резистентности. Этот список периодически обновляется специально созданной комиссией [127].

Существует также понятие гиперчувствительности, когда ВИЧ, приобретя мутацию устойчивости к одному препарату, становится особенно чувствительным к другому. Примером может служить мутация M184V, которая вызывает резистентность к ЗТС и FTC, но повышает чувствительность к TDF и AZT [32]. Данный факт может объясняться тем, что M184V может препятствовать удалению 5'-монофосфата AZT с конца праймера [33]. Еще одним примером может служить мутация I50L, которая снижает чувствительность вируса к ATV и повышает чувствительность к IDV, LPV, NFV, RTV и SQV [140].

Номенклатура мутаций резистентности ВИЧ основана на аминокислотном коде, то есть первая буква в записи обозначает аминокислоту, стоящую в аминокислотной цепочке белка «дикого» штамма вируса, далее идет номер аминокислоты в белке и затем вторая буква, соответствующая аминокислоте мутантного варианта ВИЧ. Примером может служить мутация M184V, где буква M обозначает метионин и является аминокислотой «дикого» варианта ВИЧ-1, а буква V значит, что в 184 положении в мутантном штамме вместо метионина присутствует валин [1].

1.3.2 Ингибиторы ферментов ВИЧ-1 и мутации к ним

1.3.2.1 Ингибиторы протеазы, мутации к ним и механизмы действия

Ингибиторы протеазы (ИП) действуют на активный центр фермента путем изменения его пространственной структуры, что практически делает невозможным нарезание субстрата. Существуют бустированные и небустированные ИП. Резистентность к небустированным ИП у вируса возникает в случае приобретения 1-2 мутаций, которые сильно снижают фитнес [1].

В составе бустированных ИП обычно используются RTV или кобицистат, которые, ингибируя белки системы цитохромов, снижают скорость метаболизма ИП. Резистентность к бустированным ИП наблюдается редко в виду того, что эти препараты обладают высоким генетическим барьером (до 7-8 мутаций). Более того,

у данных препаратов имеется длительный период полувыведения за счет бустирования, поэтому в этих условиях вирусу невозможно размножиться [25].

Усиленный (бустированный) LPV/r, усиленный ATV/r и усиленный DRV/r — три наиболее часто используемых ИП, при этом ATV/r и DRV/r — два наиболее часто рекомендуемых ИП в странах с высоким уровнем дохода. LPV/r и DRV/r имеют высокий генетический барьер для резистентности, поскольку требуется возникновение нескольких мутаций устойчивости, прежде чем противовирусная активность будет поставлена под угрозу [46].

Механизм возникновения мутаций к ИП основан на конформационных изменениях фермента в его активном центре, а иногда и за его пределами. В первом случае происходит увеличение размеров полости в активном центре, где связывается сам субстрат (полипротеин) и лекарство (D30N, V32I, G48V, I50V, V82A/F/T/S, I84V, L90M). В результате этого происходит недостаточный контакт с обеими молекулами, и мутантная протеаза нарезает субстрат в виде белков-предшественников гораздо медленнее. Именно поэтому считается, что для протеазы ВИЧ-1 характерно снижение жизнеспособности при приобретении первичных мутаций устойчивости. Во втором случае, когда мутации находятся за пределами активного центра в составе «клапанов» (M46I/L, F53L, I54V/L), заметная устойчивость не возникает, хотя некоторое снижение эффективности связывания с лекарством все же происходит [1].

Существование компенсаторных мутаций (вторичных), как уже говорилось выше, может восстанавливать жизнеспособность вируса в присутствии первичных мутаций устойчивости. Например, мутации A431V, L449F и P453L сами по себе не влияют на резистентность к препаратам, но в условиях наличия первичных мутаций могут увеличивать устойчивость вируса (то есть концентрацию полумаксимального ингибирования, или IC₅₀) [1].

Было показано, что мутации лекарственной устойчивости развиваются гораздо реже у пациентов, получающих в качестве третьего препарата начальной схемы ИП (например LPV/r, ATV/r или DRV/r), чем у пациентов, принимающих в качестве третьего препарата начальной схемы ННИОТ [27; 49; 52]. Эти данные

говорят о том, что предпочтительней включать в первую схему в качестве третьего препарата ингибиторы протеазы. Действительно, у большинства пациентов без мутаций устойчивости к ингибиторам протеазы, у которых наблюдается вирусологический неуспех во время начальной схемы, содержащей ИП, вирусологическая супрессия достигается путем улучшения соблюдения режима лечения [82; 153].

В настоящее время активно исследуется вероятность возникновения мутаций лекарственной устойчивости вне протеазы, которые могут вызывать вирусологический неуспех [57; 106]. В частности, было высказано предположение, что мутации в области гена *gag* и цитоплазматическом домене *gp41* (*gp41-CD*) способствуют устойчивости к ИП [62].

Несмотря на то, что мутации лекарственной устойчивости, связанные с ИП, редко развиваются у ранее не получавших ИП пациентов, получающих один из рекомендованных усиленных ИП, многолетний опыт использования небустированных ИП в странах с высоким уровнем дохода привел к появлению многих вирусов с высокой устойчивостью к ИП. Действительно, сообщалось о более чем 80 неполиморфных мутациях, связанных с устойчивостью к ингибиторам протеазы [111]. Большинство из них снижают чувствительность *in vitro* к одному или нескольким ИП [108]. Наиболее распространенными мутациями к ИП являются D30N, I50L/V, V82A/F/T, I84V/A/C и L90M [107].

D30N представляет собой неполиморфную мутацию субстрат-расщепления, возникающую на фоне приема препарата NFV, которая вызывает высокую устойчивость к нему [127].

I50V представляет собой неполиморфную мутацию субстрат-расщепления, возникающую на фоне приема FPV, LPV и DRV, снижая восприимчивость к этим ИП [127].

I50L представляет собой неполиморфную мутацию, возникающую на фоне приема ATV, придавая высокую устойчивость к нему и повышая восприимчивость к остальным ИП [127].

V82A/T/F представляет собой непалиморфные мутации субстрат-расщепления, которые снижают восприимчивость почти к любым ИП [127].

I84V – непалиморфная мутация, которая также снижает эффективность терапии практически любыми ИП [127].

И наконец, L90M – мутация, которая снижает восприимчивость всех ИП кроме TPV и DRV[127].

Полный перечень принимаемых препаратов ИП и мутаций к ним указаны в таблице (Таблица 1).

Таблица 1 - Основные мутации устойчивости к ИП

Препарат	30 D	32 V	33 L	46 M	47 I	48 G	50 I	54 I	76 L	82 V	84 I	88 N	90 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 - в таблице представлены клинически значимые мутации устойчивости к ИП. Мутации, выделенные красным цветом, характеризуются самым высоким уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий ИП, а также самым высоким уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные жирным черным шрифтом, характеризуются значительным уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий ИП, а также значительным уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные черным шрифтом, способствуют снижению чувствительности вируса только в сочетании с другими мутациями устойчивости к ИП. Таблица адаптирована из электронного источника [127].

1.3.2.2 Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, мутации к ним и механизмы действия

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскрипции (НИОТ) представляют собой аналоги естественных нуклеозидов, структура которых изменена так, что способность формирования цепи кДНК полностью утрачивается [1].

Резистентность к НИОТ у вируса возникает благодаря двум путям: первый путь связан с появлением стерических помех в области активного центра фермента обратной транскриптазы, благодаря дискриминационным мутациям, которые блокируют присоединение молекул препаратов НИОТ [1]. В таких условиях для мутантного фермента приоритетнее связываться с естественными нуклеотидами клетки, а не аналогами нуклеотидов в виде препарата, поэтому вирус продолжает реплицироваться в присутствии НИОТ [1].

Наиболее распространенными мутациями к НИОТ этой группы являются M184V/I, L74V, K65R и Q151M [1].

M184V/I возникают под действием ЗТС и ФТС и снижают восприимчивость к этим препаратам более чем в 100 раз. Они также вызывают устойчивость к АВС и ddI. Напротив, M184V/I повышают восприимчивость к AZT, d4T и TDF и замедляют появление резистентности к ним. Мутации M184V/I связаны со сниженной репликацией вируса *in vitro* и *in vivo* за счет понижения процессивности обратной транскриптазы. M184I обычно появляется раньше M184V, потому что она является результатом более распространенной замены нуклеотидов ВИЧ-1, однако M184V вытесняет M184I в течение нескольких недель после репликации вируса и обнаруживается у большинства пациентов с вирусологической неудачей при приеме ЗТС или ФТС. Также случается, что у пациента обнаруживается смесь вирусов, имеющих разные мутации в положении 184, тогда в популяции вирусов, которыми был инфицирован пациент, параллельно циркулируют варианты вируса с мутациями M184V и M184I [107; 123].

Мутация L74V обычно возникает у вирусов на фоне приема пациентами, инфицированных данным ВИЧ, таких препаратов, как АВС или ddI и иногда TDF.

Комбинация L74V + M184V является наиболее распространенным типом мутаций, развивающихся у пациентов, получающих АВС/ЗТС [1].

К65R связана со снижением чувствительности к TDF в первую очередь и к ddI, зальцитабину (ddC) и АВС - во вторую. Как и M184V и L74V, К65R связана с понижением процессивности обратной транскриптазы [1].

Q151M обычно встречается в сочетании с двумя или более из следующих четырех дополнительных мутаций: А62V, V75I, F77L и F116Y. Мутация Q151M сама по себе вызывает резистентность высокого уровня к AZT, d4T, ddI и АВС и резистентность низкого уровня к ЗТС, FTC и TDF, но в сочетании с двумя или более дополнительными мутациями она вызывает устойчивость среднего уровня к ЗТС, FTC и TDF [1].

Второй путь связан с усилением реакции пирофосфолиза, то есть вырезания уже встроенного аналога нуклеотида из цепи кДНК и восстановления трифосфатной группы для продолжения репликации (Рисунок 11). За второй путь отвечают тимидин-аналоговые мутации (ТАМs), которые встречаются с частотой 70% у пациентов с неудачей терапии на основе НИОТ [1].

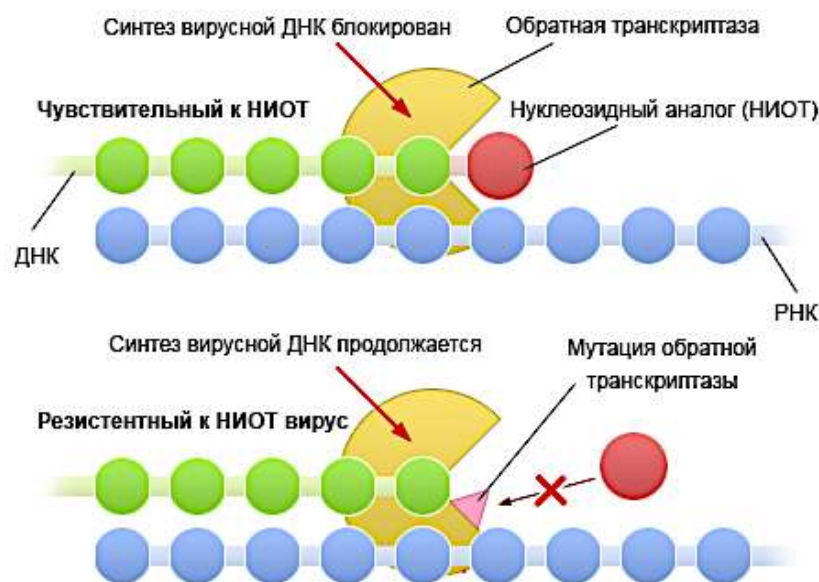


Рисунок 11 – Механизм действия возникновения лекарственной устойчивости к НИОТ благодаря мутациям резистентности (рисунок адаптирован из электронного ресурса [124])

TAMs бывают первого и второго типа (TAM1 и TAM2). К TAM1 относятся мутации M41L, L210W, и T215, а к TAM2 - мутации D67N, K70R и K219Q/E. Набор мутаций (путь), приобретаемый вирусом в процессе терапии, зависит от ее схемы. Для TAM1 характерно снижение фитнеса ВИЧ и высокий риск перекрестной резистентности; встречаются они чаще, чем TAM2. Мутации TAM2 практически не влияют на фитнес, и перекрестная устойчивость не возникает, поэтому наличие данных мутаций не отменяет применение других НИОТ в схемах замены [1].

Полный перечень принимаемых препаратов НИОТ и мутаций к ним указаны в таблице (Таблица 2).

Таблица 2 - Основные мутации устойчивости к НИОТ

Препарат	Дискриминационные мутации					Тимидин-аналоговые мутации						Дополнительные мутации	
	184 M	65 K	70 K	74 L	115 Y	41 M	67 D	70 K	210 L	215 T	219 K	69 T	151 Q
3TC	VI	R										Ins	M
FTC	VI	R										Ins	M
ABC	VI	R	E	VI	F	L			W	FY		Ins	M
ddl	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
AZT	*	*	*	*		L	N	R	W	FY	QE	Ins	M

Примечание - в таблице представлены клинически значимые мутации устойчивости к НИОТ. Мутации, выделенные красным цветом, характеризуются самым высоким уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий НИОТ, а также самым высоким уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные жирным черным шрифтом, характеризуются значительным уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий НИОТ, а также значительным уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные черным шрифтом, способствуют снижению чувствительности вируса только в сочетании с другими мутациями устойчивости к НИОТ. Звездочкой указаны мутации, повышающие восприимчивость к препаратам. Таблица адаптирована из электронного источника [127].

1.3.2.3 Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, мутации к ним и механизмы действия

ННИОТ – препараты, которые действуют на гидрофобный участок фермента, расположенный вблизи активного центра обратной транскриптазы путем изменения ее объемной структуры, ограничивая подвижность ее отдельных участков друг относительно друга и тем самым препятствуя реакции полимеризации кДНК [1].

Для препаратов класса ННИОТ характерно присоединение к одному и тому же участку фермента, что вызывает высокую перекрестную устойчивость. Ввиду особой гибкости молекул для препаратов ННИОТ второго поколения (ETR и RPV) характерно связывание с активным центром фермента даже при наличии мутаций ЛУ, поэтому их возможно применять у людей с кросс-резистентностью к NVP и EFV [86].

Механизм действия мутаций к ННИОТ связан с видоизменением трехмерной структуры фермента, при этом присоединение препарата-ингибитора становится невозможным, а ферментативные свойства активного центра не меняются и фитнес вируса не изменяется (Рисунок 12) [1].

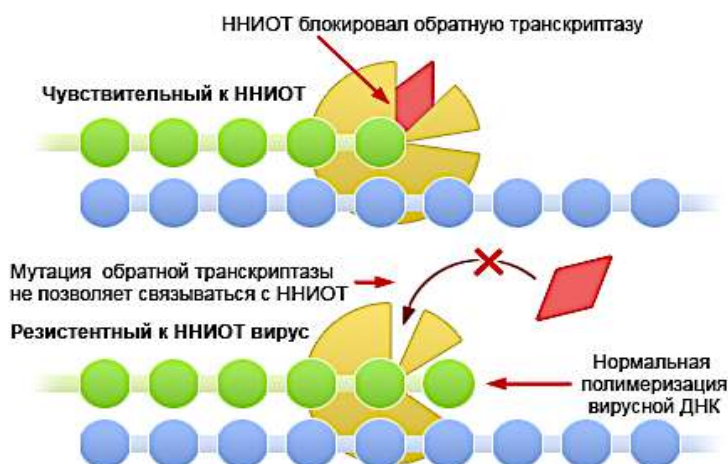


Рисунок 12 - Механизм действия возникновения лекарственной устойчивости к ННИОТ благодаря мутациям резистентности (рисунок адаптирован из электронного ресурса [124])

Самыми известными мутациями устойчивости к ННИОТ являются K103N/S, L100I, K101E/P, V106A/M, Y181C/I/V, Y188C/H/L, G190A/S/E и M230L (Таблица 3).

Таблица 3 - Основные мутации устойчивости к ННИОТ

Препарат	100	101	103	106	138	181	188	190	220
	L	K	K	V	E	Y	Y	G	M
DOR	I	EP		AM		CIV	LHC	SE	L
EFV	I	EP	NS	AM		CIV	LHC	ASE	L
ETR	I	EP			AGKQ	CIV	L	ASE	L
NVP	I	EP	NS	AM		CIV	LHC	ASE	L
RPV	I	EP			AGKQ	CIV	L	ASE	L

Примечание - в таблице представлены клинически значимые мутации устойчивости к ННИОТ. Мутации, выделенные красным цветом, характеризуются высоким уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий ННИОТ, а также с самым высоким уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные жирным черным шрифтом, характеризуются значительным уровнем снижения чувствительности вируса на соответствующий ННИОТ, а также значительным уровнем снижения вирусологического ответа. Мутации, выделенные черным шрифтом, способствуют снижению чувствительности вируса только в сочетании с другими мутациями устойчивости к ННИОТ. Таблица адаптирована из электронного ресурса [127].

Каждая из данных мутаций вызывает высокий уровень резистентности к NVP. Исключением являются мутации Y181C/I/V, которые вызывают средний и высокий уровень устойчивости к EFV *in vivo* и были связаны со сниженной вирусологической эффективностью у пациентов, принимавших NVP [86].

Мутации K103N и V106M снижают чувствительность ВИЧ-1 многократно (в 20-50 раз), что соответствует высокому уровню лекарственной устойчивости. Кроме того, важную роль в формировании мутаций лекарственной устойчивости играет длительный период полувыведения NVP и EFV. Так, конечный период полувыведения (ПП) 3TC и TDF из плазмы составляет приблизительно от 5 до 17 часов, соответственно, в то время как ПП EFV в среднем составляет от 52 до 76

часов после однократного приема и от 40 до 55 часов - после многократных доз. В случае плохой приверженности длительный ПП способствует поддержанию субоптимальной концентрации EFV в плазме крови и давлению отбора EFV, что увеличивает риск возникновения мутаций лекарственной устойчивости. Таким образом, при снижении приверженности на фоне быстрого выведения других препаратов схемы и фактической монотерапии EFV резистентность развивается за считанные недели/месяцы [1].

Мутации E138K/G/Q/A являются одними из наиболее частых мутаций, возникающих у пациентов, получающих RPV. Хотя E138K лишь минимально снижает восприимчивость к RPV, она является одной из наиболее частых мутаций лекарственной устойчивости, возникающей у пациентов с вирусологической неудачей и получающих лечение по схеме первой линии, содержащей RPV [112].

1.3.2.4 Ингибиторы интегразы, мутации к ним и механизмы действия

Механизм устойчивости к ингибиторам интегразы начинается с процесса появления первичных мутаций, таких как Q148K/R/H, N155H либо Y143C/H/R (Таблица 4).

Таблица 4 - Основные мутации устойчивости к ИИ

Препарат	66	92	118	138	140	143	147	148	155	263
	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	AK	Q	R	KAT	SAC		G	HRK	H	K
RAL	AK	Q	R	KAT	SAC	RCH		HRK	H	K

Примечание - мутации, выделенные красным цветом, связаны с самыми высокими уровнями снижения восприимчивости или вирусологического ответа на указанные ИИ. Мутации, выделенные жирным шрифтом, снижают восприимчивость к ИИ или вирусологический ответ. Мутации, выделенные черным шрифтом, снижают восприимчивость в сочетании с другими мутациями устойчивости к ИИ. Таблица адаптирована из электронного ресурса [127].

Как правило, уже через некоторое время к первичным мутациям добавляются дополнительные (вторичные) мутации, с помощью которых вирус добивается повышенного фитнеса и устойчивости [1]. В состав представителей группы ингибиторов переноса цепи интегразой входят препараты первого поколения, такие как ралтегравир (RAL), который активно использовался в качестве альтернативной схемы у пациентов, имеющих неуспех первой линии терапии, элвитегравир (ELV), и ингибиторы второго поколения - долутегравир (DTG), в настоящее время рекомендуемый ВОЗ как препарат первой линии, а также каботегравир (СAB), который в ноябре 2020 был одобрен FDA как препарат для инъекционной терапии пролонгированного действия, и биктегравир (BIC) [113].

Устойчивость к RAL возникает по трем основным, часто перекрывающимся мутационным путям со следующими мутациями устойчивости: N155H ± E92Q; Q148H/R/K ± G140S/A; и Y143C/R [30]. Как было сказано ранее, наличие двух таких сигнатурных мутаций снижает восприимчивость к RAL в 150 раз. EVG имеет два общих мутационных пути с RAL: N155H ± E92Q и Q148H/R/K ± G140SA. Одна мутация E92Q особенно часто встречается у пациентов, получающих EVG, и часто является наиболее распространенной мутацией с устойчивостью к EVG в клинических испытаниях [142].

В отличие от RAL и EVG, для клинически значимой устойчивости к DTG требуется одновременно несколько мутаций лекарственной устойчивости, поэтому случаев вирусологической неудачи при приеме DTG бывает немного. Большинство данных о генетических механизмах резистентности к DTG было получено от пациентов, ранее принимавших RAL и в последующем получавших терапию на основе DTG в исследованиях VIKING [53; 142]. В этих исследованиях пациенты с вирусами, содержащими мутацию Q148H/R/K в сочетании с мутациями E138K/A/T ± G140S/A/C, подвергались повышенному риску вирусологической неудачи. Ряд дополнительных мутаций устойчивости к ингибиторам интегразы, а также N155H, по-видимому, увеличивают риск вирусологического неуспеха на фоне приема DTG, особенно когда эти мутации присутствуют в сочетании с Q148H/R/K. Также имеются два сообщения в рамках одного исследования о пациентах, ранее

получавших лечение, которое не включало ингибиторов интегразы и у которых развилась вирусологическая неудача с мутацией R263K, которая, в свою очередь, является относительно слабой мутацией резистентности, связанной с DTG [36]. Существуют также исследования, в которых было сообщено два случая о резистентности к ИИ за счет мутации G118R у пациентов, получающих монотерапию DTG [34]. Данные о чувствительности *in vitro* весьма противоречивы, возможно потому, что вирусы с этой мутацией плохо реплицируются.

Q148H/K/R представляют собой мутации, выявленные у пациентов, получающих ралтегравир (RAL) и элвитегравир (EVG) [127]. Сообщалось также о наличии Q148H/R у пациентов с вирусологической неэффективностью во время монотерапии DTG. Единичная Q148H снижает чувствительность к RAL и EVG примерно в 5-10 раз, а Q148R/K снижает чувствительность к RAL и EVG в 30-100 раз [127]. Сами по себе Q148H/K/R оказывают минимальное влияние на чувствительность к DTG и биктегравир (BIC), однако в сочетании с E138K ± G140SA мутации Q148 (и особенно Q148K) снижают чувствительность к DTG и BIC до 10 раз [127]. Комбинация Q148H/R/K + (E138K ± G140S/A) + одна или две дополнительные мутации, такие как N155H или дополнительные мутации L74M и T97A, вызывают еще более выраженное снижение чувствительности к DTG и BIC [127].

Единичная N155H снижает восприимчивость к RAL и EVG примерно в 10 и 30 раз соответственно. N155H была выявлена на фоне приема DTG у пациентов, ранее не получавших ИИ, и пациентов, ранее получавших RAL [127].

По отдельности Y143C и Y143R снижают восприимчивость к RAL примерно в 5 и 20 раз, соответственно, но с T97A или другими дополнительными мутациями они снижают восприимчивость к RAL более чем в 100 раз [127].

1.3.3 Проблема лекарственной устойчивости ВИЧ-1

В связи с расширением использования антиретровирусной терапии, связанным с применением АРТ независимо от клинических проявлений, в до- и

пост-контактной профилактике, а также использованием АРТ для исключения вертикальной передачи ВИЧ от матери к ребенку наблюдается увеличение абсолютного числа случаев вирусологической неудачи на уровне популяции, что ставит под угрозу долгосрочную эффективность рекомендованных схем первого ряда.

Более того, выявляется проблема лекарственной устойчивости не только среди пациентов, которые длительное время получают терапию и устойчивость у которых возникает на фоне приема АРТ. В странах, где терапию ВИЧ-инфекции начали раньше, чем в России, существует достаточно высокий риск заразиться устойчивым вирусом. Назначение первой - стандартной линии терапии может оказаться для такого пациента неэффективным, при этом он сможет передать заведомо устойчивый вирус другим людям.

Таким образом, любая ныне существующая АРТ может быть неэффективна в борьбе с ВИЧ, а формирование общенационального подхода к профилактике развития резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам является актуальной задачей.

В крупном европейском исследовании сообщается, что в популяциях, где устойчивость к компонентам стандартной терапии первой линии выявляется до начала АРТ, вероятность вирусологической неудачи в течение 12 месяцев после начала АРТ увеличивается в два-три раза [145].

Для прекращения дальнейшего распространения устойчивых вариантов вируса и предотвращения появления новых, ВОЗ составила рекомендации по надзору за распространением резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам [144]. Данные рекомендации включали в себя три основных направления: анализ ИРП появления резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам, анализ распространенности первичной резистентности как среди взрослых, так и среди детей до 18 лет, анализ распространенности приобретенной резистентности к АРВ-препаратам у больных, получающих терапию (в том числе отдельно у детей в возрасте до 18 месяцев). Помимо мониторинга резистентности среди «наивных» пациентов, а также пациентов, с опытом терапии необходимо осуществлять надзор за пациентами, получавших доконтактную профилактику и у которых была выявлена ВИЧ-

инфекция. Для более эффективного использования полученных данных должен также проводиться анализ распространенности различных субтипов ВИЧ и циркулирующих рекомбинантных форм среди различных категорий больных [144].

Хотя полный анализ экономической эффективности стратегий по ограничению лекарственной устойчивости ВИЧ пока не проведен, затраты на проведение обследования передающейся лекарственной устойчивости в конкретном географическом районе на основе рекомендаций ВОЗ невысоки по сравнению с общей стоимостью развертывания АРТ и составляют от 30 000 до 60 000 долларов США за обследование группы, соответствующей статистическим критериям [79; 114; 144]. Однако самыми большими препятствиями на пути к надзору за лекарственной устойчивостью ВИЧ являются ограниченные возможности местных лабораторий, неадекватная общая инфраструктура и человеческие ресурсы и, возможно, ограниченное понимание ценности информации эпиднадзора и того, как ее можно использовать для выработки политики борьбы с ВИЧ в регионах.

1.3.4 Причины возникновения лекарственной устойчивости

В настоящий момент ВОЗ выделяет 4 фактора, связанных с возникновением резистентности [143]:

1. Факторы, связанные с субоптимальной фармакокинетикой препарата, то есть неоптимальной концентрацией лекарств в клетках, где происходит репликация вируса. Это может быть неправильно подобранная схема терапии в виде моно- или битерапии, нарушение дозировки, лекарственные взаимодействия;

2. Факторы, зависящие от биологии вируса, а именно от способности вируса к репликации, от его склонности к образованию резистентности, а также наличия первичной резистентности;

3. Факторы, зависящие от пациента, а именно приверженность пациента к терапии: нарушает ли пациент режим приема препаратов, связано ли отсутствие приверженности со стигмой и дискриминацией;

4. Факторы, зависящие от организации лечения, а именно закупка и поставка АРВ-препаратов, ограничение доступа пациентов к медицинской помощи. Данный фактор является одной из наиболее распространенных причин развития лекарственной устойчивости.

1.3.4.1 Факторы, связанные с приемом антиретровирусных препаратов

АРВ-препараты, входящие в состав АРТ, особенно склонны к взаимодействию с лекарственными средствами и побочным эффектам. По оценкам, лекарственные взаимодействия возникают у $\leq 77\%$ пациентов, получающих терапию ИП [131].

Нередко лекарственные взаимодействия делают невозможным или существенно снижают эффект АРТ, создавая условия для возникновения и эволюции лекарственно-устойчивых штаммов вируса. То есть, бывают ситуации, когда у пациента наблюдается полная приверженность к лечению, но в силу индивидуальных особенностей метаболизма, препараты не проявляют своей эффективности в виду субоптимальной концентрации лекарства, при наличии которой не происходит ингибирование фермента. Независимо от механизма лекарственные взаимодействия потенциально могут повышать концентрацию АРВ-препаратов в плазме, так что пациенты подвергаются повышенному риску развития дозозависимой токсичности. В качестве альтернативы они могут снижать концентрации ниже порога чувствительности вируса, подвергая пациентов риску неэффективности АРВ-препаратов [70].

Также немаловажную роль играет правильно подобранная дозировка препарата. В условиях персонализированной медицины обеспечить корректную дозу и кратность приема препарата возможно с помощью терапевтического мониторинга лекарственных средств (Therapeutic Drug Monitoring – TDM), который может управлять дозированием определенных лекарств с использованием измеренных концентраций лекарств для повышения вероятности желаемых терапевтических результатов и безопасности. В соответствии с клиническими

исследованиями устанавливается диапазон концентраций, которые отражают минимальную терапевтическую и минимальную токсическую дозу препарата [66; 105].

1.3.4.2 Факторы, связанные с биологией вируса

Установлено, что репликация ВИЧ происходит миллиарды раз в день, а фермент обратная транскриптаза не обладает способностью корректуры. Вследствие данной особенности, в каждом цикле репликации происходит около 10^4 - 10^5 ошибок (мутаций) на пару оснований [77]. В результате эти случайные мутации, которые образовались в ходе репликации ВИЧ могут повлиять на репликативную способность и, следовательно, на приспособленность вируса [51].

Так, мутации могут стать фиксированными и доминировать над дикими вариантами вируса в случае неоптимального лечения или неполного соблюдения режима терапии. Определенные мутации устойчивости будут фиксироваться в вирусной популяции только в присутствии селективного давления лекарственного средства, но другие мутации устойчивости могут присутствовать в виде естественного полиморфизма и обычно возникают в отсутствие селективного давления лекарственного средства. Эти связанные с устойчивостью естественные полиморфизмы оказывают лишь незначительное влияние на восприимчивость или проявляют эффект только на определенном фоне [1; 25].

Доля вирусов дикого типа и резистентных вирусов, развившихся под постоянным селективным давлением лекарств, различается в присутствии и в отсутствие АРТ. Стойкая виремия в присутствии терапии приводит к дальнейшему накоплению мутаций и снижает репликацию вирусов дикого типа. Однако прекращение АРТ, когда подавление вируса не было достигнуто, вызывает относительно быстрый распад мутантов и быстрое повторное появление вирусов дикого типа из-за их более высокой приспособленности [1; 25].

В случае передающейся ЛУ, когда пациент был инфицирован изначально вирусом с мутациями устойчивости, вирус дикого типа обычно не передается

совместно и, следовательно, не сохраняется в латентно инфицированных клетках. В таком случае в дальнейшем при отсутствии лекарственного давления у такого пациента, вирусы с мутациями могут либо частично вернуться к дикому типу, либо развиться до других вариантов или сохраниться в вирусной популяции, в зависимости от их относительной приспособленности в новой среде [1; 25].

1.3.4.3 Факторы, связанные с пациентом

Лечение ВИЧ-инфекции проводится пожизненно и требует от пациентов точного соблюдения рекомендаций врачей и режима терапии. Соблюдение режима АРТ и диспансерного наблюдения, психоэмоциональное состояние пациента, связанное с давлением общества в виде стигмы и дискриминации, должны рассматриваться в едином контексте своевременности и эффективности терапии. В настоящее время важнейшее значение приобретает выполнение задачи привлечения и удержания пациентов в рамках существующей системы помощи. Прекращение или кратковременное прерывание терапии у пациента с явной или низкой вирусемией не рекомендуется, так как это может привести к быстрому увеличению РНК ВИЧ и снижению количества CD4 лимфоцитов, а также увеличивает риск клинического прогрессирования [47].

На сегодняшний день существует несколько определений приверженности к лечению ВИЧ, но наиболее полное определение звучит как соответствие поведения пациента рекомендациям врача, включая прием препаратов, диету и/или изменение образа жизни. ВОЗ рекомендует считать пороговым значением приверженности – 95%, т. к. он обеспечивает наилучший вирусологический ответ на проводимую терапию. При этом средним уровнем считается – 85-94%, а низким – $\leq 85\%$ [144].

Приверженность пациента к терапии является одной из причин развития ЛУ. В различных исследованиях было показано, что пациенты с плохой приверженностью к АРТ имеют повышенный риск неполного подавления вируса, прогрессирования заболевания и смерти [54; 98].

Хотя приверженность к антиретровирусным препаратам продолжает оставаться основным предиктором успеха лечения, в настоящее время нет метода для точного измерения приверженности к АРТ, и разработка новых стратегий для достижения этой цели продолжает оставаться в центре внимания. Наиболее часто используемым методом контроля приверженности лечению ВИЧ измерение вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ, ведь достижение ее неопределяемой было связано с благоприятными клиническими исходами и профилактикой передачи ВИЧ. Однако по мере того, как современные АРТ стали более эффективными и фармакологически прощающими пропущенные дозы, вирусологическое подавление может быть достигнуто с уровнями приверженности около 80–85%, что делает неопределяемую ВН неинформативной для моделей высокой приверженности при ВИЧ-инфекции [134].

В настоящее время формирование приверженности пациентов диспансерному наблюдению и лечению ВИЧ-инфекции осуществляется в рамках мультипрофессионального пациент-ориентированного подхода с использованием технологии консультирования, общения и доверительного взаимодействия с пациентом [144].

Стигма и дискриминация издавна являются препятствиями, мешающими осуществлению эффективной профилактики и лечению ВИЧ – как на уровне общественного здравоохранения, так и в отношении отдельных лиц. Более того, стигма и дискриминация зачастую направлены против ключевых групп населения, подверженных повышенному риску ВИЧ-инфицирования, включая секс-работников, мужчин, практикующих секс с мужчинами, потребителей инъекционных наркотиков. Некоторые медицинские работники могут препятствовать доступу таких людей к медицинским услугам или не оказывать им должную медицинскую помощь [1; 84].

Регистрация уровня распространенности стигмы и дискриминации среди населения в целом является важной характеристикой для оценки осведомленности ключевых групп населения, а также медицинских работников в важности данной проблемы, а также того, что показатель уровня стигмы и дискриминации

обеспечивает глубинный анализ проблемы. Данные можно собирать путем проведения обследований репрезентативной выборки ключевых групп населения и населения в целом, а также при помощи собеседований с пациентами на выходе из медицинских учреждений [1; 84].

1.3.4.4 Факторы, связанные с организацией здравоохранения

Национальные системы здравоохранения имеют решающее значение в предотвращении появления и передачи ВИЧ с ЛУ. Государственная политика в отношении борьбы с ВИЧ зачастую имеет ограниченную инфраструктуру, нехватку специалистов здравоохранения, непоследовательные цепочки поставок и слабое соблюдение стандартов качества. В исследовании, проведенном в Республике Крым было указано, что в большинство случаев замены схем терапии были связаны не с вирусологическим неуспехом схемы лечения, а произошло по причине отсутствия препаратов на медицинском складе [12]. Кроме того, Беннет и его коллеги оценили данные из более чем 2000 клиник в 50 странах мира в период с 2004 по 2009 год. В этом исследовании документально подтверждены нехватки антиретровирусных препаратов примерно в 40% контролируемых пунктов в Африке к югу от Сахары [29].

Однако самыми большими препятствиями на пути к надзору за лекарственной устойчивостью ВИЧ являются ограниченные возможности местных лабораторий и человеческие ресурсы и, возможно, ограниченное понимание ценности информации эпиднадзора и того, как ее можно использовать для выработки политики.

1.3.5 Приобретенная лекарственная устойчивость

Как было сказано ранее, под приобретенной лекарственной устойчивостью понимают возникновение мутаций устойчивости в результате селекции под действием лекарственных препаратов. У 70–80% пациентов с вирусологическим

неуспехом наблюдается приобретенная лекарственная устойчивость [69; 75; 99]. При этом ее характер варьирует в зависимости от схемы лечения и уровня приверженности пациента. Наиболее частой причиной неэффективности лечения и формирования мутаций ЛУ является несоблюдение/неполное соблюдение режима лечения. Длительная история лечения и повторяющиеся неудачи являются основными указаниями на вероятное возникновение резистентности ко всем классам АРТ препаратов [101; 126].

Исследования приобретенной ЛУ к ВИЧ предоставляют важную информацию для оценки эффективности программ АРТ (максимальное подавление вирусной нагрузки на уровне популяции), распространенности и характера приобретенной ЛУ к ВИЧ среди лиц с неуспехом АРТ, а также выбора схем АРТ второго и последующих рядов. Общая цель рекомендуемых ВОЗ обследований приобретенной ЛУ к ВИЧ состоит в том, чтобы получить репрезентативные на национальном уровне оценки эффективности лечения и приобретенной резистентности к ВИЧ среди лиц, получающих АРТ [3].

Во многих странах и, в частности, Российской Федерации наиболее часто используется схема на основе 2НИОТ + ННИОТ. Существуют предпочтительные и альтернативные схемы АРТ, а также схемы, которые назначаются в особых случаях (беременность или возможность наступления беременности, нейрокогнитивные расстройства, повышенные уровни аминотрансфераз, анемия, продолжение ранее начатой АРТ, недостаточная приверженность к АРТ, ВИЧ-2, наличие гепатита В, пожилой возраст, почечная недостаточность). Предпочтительные схемы применяются в качестве АРТ первого ряда. Альтернативные схемы применяются при невозможности применения предпочтительных схем (Таблица 5).

Таблица 5 – Схемы АРТ первого ряда для взрослых по предпочтительности АРВ-препаратов в Российской Федерации [16]

Предпочтительная схема	Альтернативная схема	Особые случаи
TDF + 3TC + EFV	ABC + 3TC + DTG	Схемы, в состав которых входят: TDF, ABC, AZT, Ph-AZT, 3TC, FTC
TDF + FTC + EFV	TDF + 3TC + EFV 400	Усиленные ритонавиром ингибиторы протеазы: ATV, ATV/r, LPV/r, DRV/r
TDF + 3TC + DTG		EVG/C/FTC/TAF
TDF + FTC + DTG		BIC/FTC/TAF
TDF + 3TC + ESV		RPV/TDF/FTC
TDF + FTC + ESV		RAL, ETR, DOR

Мутации ЛУ к данным препаратам появляются на ранней стадии лечения и встречаются у подавляющего большинства пациентов с вирусологическим неуспехом [48]. В то же время в соответствии с рекомендациями ВОЗ в качестве предпочтительной схемы первой линии терапии следует назначать 2 НИОТ + ИИ. Это могут быть разные комбинации препаратов, включающие такие НИОТ, как ABC, 3TC, TDF, FTC, и ИИ – DTG или RAL. Несмотря на то, что эти комбинации препаратов признаны эффективными при лечении ВИЧ, формирование резистентности в большей или меньшей степени продолжает наблюдаться и чаще всего связано с мутациями к препаратам, имеющими низкий генетический барьер резистентности (ННИОТ) и значительно (в 20-50 раз) снижающими чувствительность вируса [41].

1.3.5.1 Приобретенная лекарственная устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

ЛУ к НИОТ высоко распространена во всех странах мира и регистрируется в 51-75% случаев приобретенной ЛУ у пациентов с вирусологической неэффективностью [117]. Во многих странах долгое время и в настоящий момент в качестве схемы первого ряда применяют аналоги цитозина (3TC), при приеме которых развивается мутация M184V, являющаяся наиболее часто приобретаемой

мутацией устойчивости как в странах с высоким уровнем дохода, так и в странах с низким и средним доходом [109]. В некоторых исследованиях сообщалось, что резистентность к НИОТ в мире встречалась чаще, чем к ННИОТ, ИП и ИИ (46,2%, 31,9%, 20,6% и 27,2% соответственно) [26]. Аналогичная ситуация происходит в Российской Федерации, где показатель устойчивости к НИОТ у пациентов, имеющий опыт приема АРТ, составлял 74,2 %, а к ННИОТ – 67,3% [8].

У лиц, получающих TDF, ВИЧ-1 развивает резистентность обычно в результате одной мутации в положении 65 (лизин в аргинин; K65R) в обратной транскриптазе (RT). Хотя K65R снижает чувствительность к TDF *in vitro* только в два раза, после M184V она является следующей по частоте мутацией у пациентов с вирусологическим неуспехом, получающих схемы, содержащие TDF. Этот факт очень важен с учетом того, что в соответствии с рекомендациями ВОЗ TDF заменяет аналоги тимидина (AZT и d4T) как часть основы НИОТ в схемах первого ряда в условиях ограниченных ресурсов. Как было сказано выше, каждый препарат в схемах, содержащих НИОТ, может быть скомпрометирован одной аминокислотной мутацией, поэтому комбинированная терапия потенциально неустойчива. Ввиду решающей роли TDF-содержащих схем АРТ как в лечении, так и в профилактике новых инфекций профилактика ЛУ в условиях высокого бремени инфекции имеет первостепенное значение [1].

1.3.5.2 Приобретенная лекарственная устойчивость к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

ЛУ к ННИОТ среди пациентов с опытом приема АРТ широко распространена в виду того, что ННИОТ обладают низким генетическим барьером (одной мутации достаточно для достижения полной нечувствительности) и высоким уровнем перекрестной устойчивости [86]. Препараты ННИОТ обладают высокой эффективностью в отношении подавления ВН ВИЧ, однако имеют ограничения, связанные с высокой токсичностью, которая включает сыпь, реакции гиперчувствительности и побочные эффекты со стороны центральной нервной

системы. Продолжающееся широкое применение ННИОТ объясняется главным образом их невысокой стоимостью. Важной особенностью этих препаратов является длительный ПП, способствующий возникновению мутаций ЛУ ВИЧ, например, в случае относительно длительных перерывов в лечении [1; 25].

В ряде исследований было показано, что ЛУ к препаратам класса ННИОТ у пациентов, имеющих опыт приема АРТ, возникает в 36-86% случаев ее неуспеха. В некоторых странах отмечается более высокая частота мутаций к ННИОТ по сравнению с НИОТ [60]. В России устойчивость к ННИОТ у пациентов, имеющих опыт приема АРТ, варьирует в пределах от 24% до 70% в зависимости от выборки и региона [8].

Наиболее частыми мутациями, связанными с устойчивостью к ННИОТ, являются K103N, Y181C, Y188L, V106M и G190A, которые придают высокий уровень устойчивости к EFV и NVP [141].

После регистрации неэффективности схемы первого ряда на основе ННИОТ, содержащей EFV или NVP, при наличии мутаций 100L, 101K, 106V, 181Y, 188Y, но не K103N перекрестная устойчивость к ННИОТ второго поколения – RPV и ETR является обычным явлением и часто связана с вирусологическим неуспехом [115].

Лекарственно-устойчивые штаммы обычно имеют дефекты репликации и поэтому возвращаются (ревертируют) к дикому типу в отсутствие лекарственного давления [40]. Однако мутация K103N имеет ограниченное влияние на репликацию вируса и поэтому может сохраняться в течение длительного времени после отмены препарата или передачи в контакте [132].

В регионах, где устойчивость к ННИОТ до лечения еще не превышает установленный порог, переход с лечения первой линии на основе ННИОТ на усиленные ингибиторы интегразы может улучшить показатели вирусной супрессии и снизить ЛУ, возникающую в результате лечения [61; 135].

1.3.5.3 Приобретенная лекарственная устойчивость к ингибиторам протеазы

После появления ИП первого поколения (RTV, IDV, NFV, SQV) на рынке фарм-препаратов довольно быстро было показано, что применение данных препаратов способствует быстрому появлению резистентности за счет образования одной или нескольких первичных мутаций в области активного центра фермента (M46I, I54V) [118].

Основной недостаток ИП первого поколения – низкая биодоступность препаратов, которая вынуждает к более частому приему и снижает вероятность приверженности терапии. Более того, в ряде случаев не удалось добиться стойкого подавления репликации вируса. При потере эффективности терапии нередко находили множественные мутации, ведущие к резистентности ко всему классу ИП. [28].

Ситуация изменилась после появления на рынке второго поколения ИП (ATV, LPV, DRV, TPV, FPV). Было показано, что даже при наличии устойчивости вируса к ИП первого поколения, ИП второго поколения все равно сохраняют свою активность и требуется появление множества мутаций для формирования резистентности у данных препаратов [59].

Для группы ИП в целом характерна перекрестная устойчивость, однако существуют мутации, которые связаны с резистентностью только к некоторым препаратам. Например, неуспех лечения FPV/DRV связан с наличием замены I50V. Замены M46I и M46V встречаются у 10-20% пациентов и одновременно снижают чувствительность вируса к ATV, APV, NFV и LPV. Раньше эти данные способствовали ограничению выбора препаратов для составления первой линии терапии, однако с появлением бустирующих препаратов ситуация изменилась [1; 25; 59].

Свою репутацию высокобарьерных препаратов ИП заслужили благодаря добавлению к ним RTV в низких дозах в качестве бустирующего агента (d4T+3TC+LPV/r, ABC+3TC+FPV/r), эффективно сохраняющему фармакологический барьер резистентности, то есть поддерживающему

постоянный и высокий уровень лекарства в клетках, продуцирующих вирус. Благодаря этому феномену часть пациентов с вирусологическим неуспехом, получающих первоначальную схему лечения на основе ИП, но без мутаций устойчивости к ИП могут достичь вирусологической супрессии только за счет улучшения приверженности [154].

1.3.5.4 Приобретенная лекарственная устойчивость к ингибиторам интегразы

ИИ ВИЧ-1 делятся на препараты первого (ИИ-1) и второго поколения (ИИ-2). Отношение к приобретенной резистентности у препаратов разных поколений сильно различается. Генетический барьер ИИ-1 можно назвать очень низким, поэтому ЛУ к этим препаратам вырабатывается быстро и часто; кроме того, между RAL и EVG имеется перекрестная резистентность. Основные мутации ЛУ к ИИ-1 – Q148H/K/R, N155H и Y143C/R/H, для ELV – дополнительно E92Q [127]. К указанным основным мутациям обычно присоединяются вторичные мутации, способные восстанавливать сниженную репликативную способность мутантного вируса и одновременно с этим повышать его устойчивость, иногда многократно [1; 25].

Частота формирования вирусов, устойчивых к ИИ-1, примерно одинакова во всех странах и при неуспехе АРТ составляет около 10-15% [95].

ИИ-2 – DTG и BIC способны эффективно ингибировать большинство мутантов ВИЧ-1, устойчивых к RAL и EVG [37; 53; 125], за исключением мутации Q148R/H, при этом ИИ-2 отличает значительно более высокий собственный генетический барьер, что объясняется несколькими причинами.

Одна из них заключается в том, что возникающие мутации к DTG – R263K и G118R заметно снижают фитнес вируса, а присоединение вторичных мутаций не только не повышает устойчивость, но и дополнительно ограничивает размножение вируса. В совокупности эти события практически полностью препятствуют появлению резистентных к ИИ-2 вариантов ВИЧ, что находит отражение в крайне

низкой частоте их встречаемости. Другая причина, противодействующая появлению резистентных к ИИ-2 мутаций, заключается в особых свойствах молекул этих ингибиторов, которые способны очень тесно контактировать с активным центром фермента и задерживаться там надолго (до недели), продолжая ингибировать интегразу [138].

Несмотря на фактически высокую защиту от устойчивости, потенциал развития резистентности к DTG сохраняется, оставаясь минимальным. Большинство данных о высокой резистентности к DTG связано с мутациями R263K и G118R, которые, как было сказано выше, снижают репликативную способность вируса. Сведения о генетических механизмах резистентности к DTG были получены от пациентов, уже ранее принимавших RAL или EVG и получавших «спасительную» терапию долутегравиром [125]. В этих исследованиях пациенты с вирусами, содержащими мутацию Q148R/H в сочетании с мутациями E138K±G140S/A/C, которые были получены в ходе лечения RAL и EVG, подвергались повышенному риску вирусологической неудачи лечения DTG. Ряд дополнительных мутаций устойчивости к ингибиторам интегразы, а также N155H, по-видимому, увеличивают риск вирусологического неуспеха на фоне приема долутегвира, особенно когда эти мутации присутствуют в сочетании с Q148R/H.

Еще один ИИ второго поколения – биктегравир (BIC), по сравнению с DTG, демонстрирует улучшенный противовирусный потенциал в отношении клинических изолятов, устойчивых к ИИ-1, а также низкую скорость развития мутаций резистентности [63; 87]. В то же время сообщалось, что мутации Q148R и R263K/M50I, как и у DTG, снижают эффективность BIC [63].

Другой недавно одобренный ИИ-2 CAB, который применяется в качестве терапии пролонгированного действия (CAB-LA) в сочетании с RPV, а также для доконтактной профилактики ВИЧ-инфекции в качестве монотерапии, показал хорошую переносимость и эффективное лечение ВИЧ-инфекции в сочетании с другими обычно используемыми пероральными НИОТ, а также при использовании в инъекционной форме с RPV [113].

1.3.6 Передающаяся и первичная лекарственная устойчивость

До 2017 программа ВОЗ по мониторингу ЛУ ВИЧ включала оценку собственно передающейся ЛУ с целью минимизации передачи ВИЧ-инфекции, а также снижения риска распространения мутаций ЛУ. Чтобы удовлетворить заданной цели, был создан особый инструмент – CPR (Calibrated Population Resistance), который позволяет определить вероятность ЛУ вируса, оценивая мутации из листа SDRM (Surveillance Drug Resistance Mutation) [55; 152]. Сейчас из-за большой сложности организации таких исследований этот вид мониторинга уступил место слежению за ЛУ ВИЧ у пациентов перед началом АРТ [144].

Частота встречаемости мутаций перед лечением в зависимости от географического региона была неодинакова. Примером может быть мутация M46I/L, которая снижает чувствительность ко всем ИП, кроме DRV и имеет важное значение для схем второй линии, содержащих LPV или ATV [151]. M46I является одной из наиболее часто передающихся мутаций к ИП во всем мире, особенно в Южной/Юго-Восточной Азии, где преобладающим вариантом ВИЧ-1 является CRF01_AE [149]. В Европе и Северной Америке, где наиболее распространен подтип В, эта мутация обнаруживалась с частотой 4,2%, зато чаще передавалась мутация K103N, определяющая резистентность высокого уровня к NVP и EFV [96; 110; 129]. В целом, частота мутаций ЛУ ВИЧ-1 перед лечением в группах НИОТ/ННИОТ для подтипа В была выше, чем для других подтипов.

Среди передающихся мутаций НИОТ обнаруживалась мутация K65R, которая значительно снижает чувствительность к TDF [50] и TAF [80]. В некоторых исследованиях отмечалось уменьшение доли последовательностей, содержащих как K65R, так и M184V/I, среди начинающих АРТ. В свою очередь, данное сочетание мутаций отмечалось как неудача использования доконтактной профилактики (PrEP). Данный факт, вероятно, занижает истинную передающуюся распространенность K65R и M184V, поскольку обе мутации исчезают в течение недель или месяцев в отсутствие лекарственного давления, но могут сохраняться в

меньшинстве вариантных штаммов, не обнаруженных традиционным популяционным секвенированием.

1.4 Мониторинг лекарственной устойчивости в Российской Федерации

Как уже говорилось выше, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, рекомендуемый основной набор мероприятий по мониторингу ЛУ включает в себя мониторинг ИРП, мониторинг приобретенной и первичной ЛУ у взрослых и детей, а также мониторинг ЛУ среди пациентов, которые пользовались доконтактной профилактикой и у которых была выявлена ВИЧ-инфекция [144]. В зависимости от того существует ли в той или иной стране лабораторная инфраструктура, включающая в себя: стандартную операционную процедуру сбора, обработки, транспортировки, хранения образцов от ВИЧ-инфицированных пациентов; лабораторный тест на определение ВН в крови; необходимые клиничко-эпидемиологические данные пациента, проводится либо непосредственно тест на резистентность или реализовываются действия для выполнения требований к лабораторной инфраструктуре [144].

В России в 2020 году определение ВН в крови проводилось только у 84,34% пациентов с ВИЧ-инфекцией, состоящих на диспансерном учете в силу недостаточной обеспеченности лабораторной инфраструктуры и средств закупок [15]. Тест на первичную, хоть и рекомендуется Министерством здравоохранения Российской Федерации, не является обязательным у пациентов до начала лечения и поэтому почти не проводится, и только менее, чем в 10% проводится в случае вирусологического неуспеха на фоне приема АРТ [15-17]. Единственный вид мониторинга ЛУ, который проводится в стране, хотя и несистематически — это мониторинг ИРП.

1.4.1 Индикаторы раннего предупреждения

Мониторинг ИРП — это анализ, позволяющий без дополнительных лабораторных исследований и финансовых вложений своевременно выявить возможные локальные факторы, способствующие возникновению и распространению ЛУ ВИЧ, и минимизировать вероятность ее развития. Конечной целью анализа является повышение эффективности формирования программы действий и привлечение необходимых ресурсов на национальном и региональном уровнях для минимизации риска резистентности и повышения эффективности лечения.

В таблице 6 представлена информация об основных индикаторах и показателях, которые классифицируются как «красный», то есть не достигший рекомендуемого показателя, «желтый», то есть достигший удовлетворительного показателя и «зеленый», то есть достигший рекомендуемого показателя.

Таблица 6 – Показатели, которые используются для мониторинга ИРП ЛУ

Рекомендуемые ВОЗ ИРП ЛУ ВИЧ	Статус	Целевой показатель, %
% пациентов, получающих лечение в течение 12 месяцев в соответствии с национальным протоколом	Красный: плохо	<100%
	Зеленый: хорошо	100%
% пациентов, потерянных для наблюдения через 12 месяцев после начала лечения	Красный: плохо	>25%
	Желтый: удовлетворительно	15-20%
	Зеленый: хорошо	<15%
% пациентов, продолжающих наблюдаться через 12 месяцев после начала лечения	Красный: плохо	<75%
	Желтый: удовлетворительно	75-85%
	Зеленый: хорошо	>85%

Продолжение таблицы 6

Рекомендуемые ВОЗ ИРП ЛУ ВИЧ	Статус	Целевой показатель, %
% пациентов, на 100% своевременно являющихся для получения препаратов в течение 12 месяцев наблюдения	Красный: плохо	<80%
	Желтый: удовлетворительно	80-90%
	Зеленый: хорошо	≥90%
% пациентов, на 100% своевременно являющихся в клинику для обследования в течение 12 месяцев наблюдения	Красный: плохо	>80%
	Желтый: удовлетворительно	80-90%
	Зеленый: хорошо	≥90%
% месяцев, в которых был хотя бы один день отсутствия препаратов на складе, в течение 12 месяцев	Красный: плохо	>0%
	Зеленый: хорошо	0%
% пациентов, у которых наблюдается вирусная нагрузка <1000 копий РНК/мл через 12 месяцев после начала лечения	Красный: плохо	<80%
	Желтый: удовлетворительно	80-90%
	Зеленый: хорошо	>90%
% пациентов, имеющих результат определения ВН в течение 12 месяцев	Красный: плохо	<70%
	Зеленый: хорошо	>70%

Ниже представлена более подробная информация о критериях оценки ИРП:

1. % пациентов, получающих лечение в течение 12 месяцев в соответствии с национальным протоколом. Здесь существует один критерий, в соответствии с которым все (100%) пациенты должны получать терапию; если показатель ниже 100%, то учреждение получает «красную карточку».

2. % пациентов, «потерянных» для наблюдения через 12 месяцев после начала лечения. Если показатель находится в районе >25% - «красная карточка», если 15-25% - «желтая карточка» и, если <15% - «зеленая карточка».

3. % пациентов, продолжающих наблюдаться через 12 месяцев после начала лечения. «Красную карточку» получают, если показатель $<75\%$, «желтую карточку» - если $75-85\%$ и «зеленую карточку» - если $>85\%$.

4. % пациентов, на 100% своевременно являющихся для получения препаратов в течение 12 месяцев наблюдения. $<80\%$ - «красная карточка», $80-90\%$ - «желтая карточка», $\geq 90\%$ - «зеленая карточка».

5. % пациентов, на 100% своевременно являющихся в клинику для обследования в течение 12 месяцев наблюдения. Здесь «красную карточку» получают, если показатель $<80\%$, «желтую карточку» - если $80-90\%$ и «зеленую карточку» - если $>90\%$.

6. % месяцев, в которых был хотя бы один день отсутствия препаратов на складе, в течение 12 месяцев. В данном пункте существует один критерий, в соответствии с которым ни один пациент (0%) не должен столкнуться с неполучением препарата по причине его отсутствия на складе; если показатель больше 0% , то учреждение получает «красную карточку».

7. % пациентов, у которых наблюдается вирусная нагрузка <1000 копий РНК/мл через 12 месяцев после начала лечения. Здесь «красную карточку» получают, если показатель $<80\%$, «желтую карточку» - если $80-90\%$ и «зеленую карточку» - если $>90\%$.

8. % пациентов, имеющих результат определения ВН в течение 12 месяцев. В этом пункте существуют также два критерия, в соответствии с которыми хотя бы $>70\%$ пациентов должны иметь результат вирусной нагрузки в течение 12 месяцев лечения. Если показатель $<70\%$, то это «красная карточка».

Согласно исследованиям, проведенным в различных регионах России, основными проблемами, с которыми сталкивались медицинские учреждения при мониторинге ИРП, были низкая приверженность лечению у пациентов и недостаточное удержание пациентов на терапии. Так, в Приморском крае у половины больных наблюдалась низкая приверженность ($58,5\%$) [6]. Исследование, проведенное в 2014-2016 годах в России, констатировало, что

только 75,3% пациентов удерживаются на терапии и приходят на прием к врачу вовремя, хотя целевой показатель ВОЗ должен составлять >85% [18].

Все это свидетельствует о необходимости объединения усилий и координации ученых и специалистов по вопросам мониторинга ЛУ и, в частности, проведения централизованного мониторинга ИРП в России при воздействии региональных Центров СПИД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ

Таким образом, обзор литературы показал, что ВИЧ-инфекция является социально значимым заболеванием, имеющим свои особенности течения и развития, что обуславливает необходимость дальнейшего ее изучения. Кроме того, феномен ЛУ является одним из наиболее распространенных и трудно преодолеваемых препятствий для антиретровирусной терапии. Учитывая тот факт, что исследования ВИЧ-инфекции в России с самого начала эпидемии позволили продемонстрировать уникальный характер эпидемиологической ситуации, понимание основ и механизмов резистентности ВИЧ имеет важное значение для разработки профилактических мероприятий и рекомендаций по оптимизации лечения, целью которых является предотвращение распространения и эволюции ВИЧ-инфекции в России.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект исследования

В работе использованы нуклеотидные последовательности ВИЧ-1, которые, в зависимости от поставленных задач, получены путем секвенирования провирусной ДНК из лимфоцитов периферической крови либо вирусной РНК из плазмы от 3023 ВИЧ-инфицированных пациентов, находившихся на диспансерном учете с зарегистрированным диагнозом «ВИЧ-инфекция» в 7-ми федеральных округах в период с 2002 года по 2020 год. Образцы лимфоцитов и плазмы были собраны в ходе выполнения проектов лаборатории в сотрудничестве с лабораториями региональных Центров СПИД (Таблица 7).

Выявление факторов риска инфицирования, возможных мест заражения, эпидемиологических связей с другими ВИЧ-инфицированными лицами проводилось путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Сведения о возрасте, поле пациента, дате забора клинического материала, дате и регионе постановки диагноза «ВИЧ-инфекция», а также стадии ВИЧ-инфекции, показателях вирусной нагрузки и иммунного статуса пациентов были получены на основании записей в амбулаторных картах.

Весь полученный клинический материал использовали с информированного согласия пациентов на основании Комитетов по биомедицинской этике федерального бюджетного учреждения науки государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека – протокол № 1 (от 30 марта 2010 г.); федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации – протокол № 06-13 (от 5 мая 2013 г.); федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»

Министерства здравоохранения Российской Федерации – протоколы № 2 (от 4 февраля 2016 г.), № 16 (от 8 февраля 2019 г.).

Таблица 7 – Биоматериал и тест-системы, используемые для генотипирования образцов из разных Федеральных округов

Город	Количество пациентов	Биоматериал, используемый для генотипирования	Тест-система, используемая для генотипирования
Центральный федеральный округ			
Московская область	1252	плазма крови	Viroseq
Калуга	26	плазма крови	Viroseq
Смоленск	22	плазма крови	Viroseq
Липецк	4	плазма крови	Viroseq
Северо-западный федеральный округ			
Санкт-Петербург	86	плазма крови	Viroseq
Мурманск	65	лимфоциты	<i>In house</i>
Архангельск	65	лимфоциты	<i>In house</i>
Вологда	27	лимфоциты	<i>In house</i>
Череповец	51	лимфоциты	<i>In house</i>
Южный федеральный округ			
Краснодар	504	лимфоциты	<i>In house</i>
Симферополь	84	лимфоциты	<i>In house</i>
Волгоград	29	плазма крови	Viroseq
Приволжский федеральный округ			
Саратов	24	плазма крови	Viroseq
Казань	66	плазма крови	Viroseq
Пермь	77	плазма крови	Viroseq
Нижний-Новгород	65	плазма крови	Viroseq
Ижевск	42	лимфоциты	<i>In house</i>
Уральский федеральный округ			
Ханты-Мансийск	18	лимфоциты	<i>In house</i>
Нижневартовск	31	лимфоциты	<i>In house</i>
Сургут	45	лимфоциты	<i>In house</i>
Ноябрьск	165	плазма крови	Viroseq
Сибирский федеральный округ			
Барнаул	82	лимфоциты	<i>In house</i>
Иркутск	97	лимфоциты	<i>In house</i>
Красноярск	279	лимфоциты	<i>In house</i>
Дальневосточный федеральный округ			
Благовещенск	40	плазма крови	Viroseq
Хабаровск	88	плазма крови	Viroseq
Владивосток	70	плазма крови	Viroseq
Южно-Сахалинск	53	плазма крови	Viroseq

2.2 Процедуры анализа провирусной ДНК и вирусной РНК

2.2.1 Процедуры анализа провирусной ДНК

2.2.1.1 Экстракция провирусной ДНК

Экстракцию провирусной ДНК из лимфоцитов проводили с использованием коммерческого набора реактивов ДНК QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Германия), разработанных специально для автоматической станции DNA/RNA Extractor QuiCube (QIAGEN, Германия). На первом этапе экстракции образцы лимфоцитов освобождали от спирта. Затем, полученный осадок отмывали в 200 мкл однократного PBS-буфера (NaCl 137 мМ, KCl 2,7 мМ, Na₂HPO₄ 10 мМ, KH₂PO₂ 2 мМ; pH 7,4) и центрифугировали в течение 5 минут при 5000 об./мин. На следующей стадии экстракции провирусной ДНК проводили разрушение белых клеток путем внесения в буфер фермента протеиназы К и буфера для лизиса, входящих в состав набора. Полученные лизаты переносили на колонки с фильтрами, задерживающими ДНК. Нуклеиновую кислоту дважды промывали, а потом смывали с фильтра специальным буфером для элюции из набора и собирали в пробирки Eppendorf на 1,5 мл. Проверку качества выделения проводили методом электрофореза в агарозном геле (методику см. ниже). Выделенную ДНК, растворенную в буфере для элюции из набора в объеме 200 мкл, хранили в морозильной камере на -70°C. На одну реакцию амплификации использовали по 5 мкл образца.

2.2.1.2 Амплификация фрагментов генов *pol* ВИЧ-1

Амплификацию участка гена *pol*, кодирующего протеазу и часть (2/3) обратной транскриптазы провирусной ДНК ВИЧ-1 осуществляли *in house* методом с использованием «гнездовой (nested)» ПЦР с помощью амплификатора GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, США).

Реакционная смесь для первого раунда ПЦР, используемая при амплификации каждого из участков гена, содержала: 5-кратный ПЦР-буфер

(конечная концентрация (по Mg^{2+}) - 2.0 мМ; ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия); дНТФ (конечная концентрация каждого типа дНТФ- 0.2 мМ; Promega, США); прямой и обратный праймер (конечная концентрация – 1.0 мкМ; Евроген, Россия); ДНК полимеразы Taq (5 ед/мкл; Евроген, Россия); ДНК–матрицу; деионизованную воду (Sigma, США).

Реакционная смесь для второго раунда ПЦР содержала удвоенные количества всех реагентов и соответствующие праймеры. В качестве ДНК матрицы использовался продукт первого раунда объемом 5,0 мкл.

Последовательности, использованных в работе праймеров, а также режимы амплификации представлены в Таблицах 8 и 9 соответственно.

Таблица 8 - Нуклеотидные последовательности праймеров, используемых в работе

Название праймера	Нуклеотидная последовательность (5' → 3')	Координаты
RP1A	AAATTTAGGAGTCTTTCCCCATATTA CTATGC	3685-3716
RP1S	GAAAAAGGGCTGTTGGAAATGTGGAA	2016-2041
RTOA	TGCCTCTGTTAATTGTTTTACATCATTAGTGTG	3630-3662
PROS	GCTAATTTTTTAGGGAAGATCTGGCCTT	2080-2107

Примечание – координаты праймеров даны относительно генома референсного штамма HXB2 ВИЧ-1 (GenBank Accession №: K03455).

Таблица 9 - Режим амплификации фрагмента гена *pol*

1 раунд (RP1S/RP1A)			2 раунд (PROS2/RTOA)		
Температура	Время	Циклы	Температура	Время	Циклы
95 °С	5 мин	1	95 °С	5 мин	1
94 °С	30 сек	35	94 °С	30 сек	35
55 °С	1 мин	35	51 °С	1 мин	35
72 °С	1 мин	35	72 °С	1 мин	35
72 °С	10 мин	1	72 °С	5 мин	1
4 °С	Задержка	Хранение	4 °С	Задержка	Хранение

2.2.1.3 Электрофоретический анализ амплификатов

Оценку качества выделенной ДНК и ПЦР-продукта проводили с помощью горизонтального электрофореза в 1,2% геле, содержащем 0,5 мкг/мл бромистого этидия (напряжение 5 В/см в течение 15–20 минут). Для приготовления агарозного геля использовали однократный трис-ацетатный буфер (ТАЕ), полученный из 50-кратного буфера с помощью разведения. В свою очередь, 50-кратный трис-ацетатный буфер готовили из 242 г Трис-НСl, 57 мл ледяной уксусной кислоты и 100 мл 0,5М ЭДТА. Перед нанесением на гель к ампликонам (в случае ПЦР) и к ДНК-матрице (в случае выделения) добавляли 0,25% бромфенолового синего в качестве красителя. Визуализацию фрагментов ДНК и ПЦР-продуктов осуществляли в проходящем УФ-свете при длине волны 254 нм, с применением гель-документирующей системы Doc-Print VX2 1100/26M (Vilber Lourmat, Франция).

2.2.1.4 Очистка и концентрация образцов после амплификации

Очистку амплифицированных ДНК-фрагментов проводили с использованием коммерческого набора для выделения ДНК из агарозных гелей и реакционных смесей с помощью микроцентрифужных колонок Cleanup S-car (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для этого в реакционную смесь объемом 50 мкл добавляли 5 объемов связывающего раствора. Далее полученную пробу переносили в спин-колодку и центрифугировали при 13 000 об/мин в течение 30 сек. После центрифугирования удаляли фильтрат из собирательной пробирки, добавляли 750 мкл промывочного раствора и центрифугировали при тех же параметрах. Пустую колонку центрифугировали 2 минуты для полного удаления промывочного раствора. В центр мембраны наносили 50 мкл элюирующего раствора и инкубировали при комнатной температуре 1 минуту. Далее снова центрифугировали при 13 000 об/мин в течение 1 минуты. Результаты очистки оценивали с помощью электрофореза.

2.2.1.5 Секвенирование ампликонов

Постановку реакции секвенирования осуществляли с использованием коммерческого набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) и праймеров RTsec1S и PRsec2A (последовательности праймеров: RTsec1S - 5'-CAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATA-3', PRsec2A - 5'-GATGYGGTATTCCСТААТТGRACYTCCCA-3'). Реакционная смесь в расчете на 1 образец состояла из 2 мкл образца (провиральной ДНК), 2 мкл Ready reaction mix, 1 мкл 5x Sequencing buffer, 1 мкл прямого или обратного праймера и 4 мкл воды. Полученную смесь помещали в амплификатор. Режим секвенирования проводили при следующих параметрах: 96°C в течение 2', затем 10' при 96°C, 5' при 50°C, 4' при 72°C (25 циклов). Затем готовили смесь, состоящую из: 25 мкл 96% этанола, 1 мкл 125 мМ ЭДТА и 1 мкл 3М ацетата натрия. Образцы ДНК после секвенирования добавляли к полученной смеси и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин. Затем проводили центрифугирование смеси при следующих параметрах: 20 мин. при 14000 об/мин. Далее удаляли супернатант, а ДНК ресуспендировали в 125 мкл 70% этанола. Затем снова проводили центрифугирование смеси при следующих параметрах: 5 мин. при 14000 об/мин. По окончании центрифугирования, удаляли этанол, а ДНК-осадок подсушивали при 50 °С 2 мин. и ресуспендировали в 10 мкл формамида. Полученную реакционную смесь нагревали при 95 °С 2 мин., охлаждали во льду и помещали в автоматический секвенатор ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) для определения нуклеотидной последовательности.

2.2.2 Процедура анализа РНК

2.2.2.1 Приготовление пробы

Выделение вирусной РНК ВИЧ-1 осуществляли из 1 мл плазмы крови человека на ЭДТА. В начале образец плазмы центрифугировали при 21000 – 25000 g в течение 60 минут при 4 °С, далее удаляли супернатант и добавляли 600 мкл

лизирующего буфера (Viral Lysis Buffer) для разрушения вирусных частиц. Далее добавляли 70% этанол для осаждения вирусной РНК. Образовавшиеся агрегаты осаждали центрифугированием. Полученный осадок ресуспендировали в холодном разбавителе РНК (RNA Diluent).

2.2.2.2 Обратная транскрипция

Коммерческая система генотипирования ViroSeq HIV-1 используется для амплификации 1.8 кб области гена pol ВИЧ-1, которая содержит всю протеазу и 2/3 обратной транскриптазы. После приготовления проб 10 мкл ресуспендированной РНК переносили в 0.2 мл пробирки MicroAmp и нагревали до 65 °С. Далее 8 мкл буферного раствора (RT Mix), 1 мкл ингибитора РНКазы (RNase Inhibitor), 1 мкл обратной транскриптазы (MuLV Reverse Transcriptase), 0,4 мкл дитиотрейтола (ДТТ) добавляли в пробирки MicroAmp с РНК. Затем пробирки помещали в термоциклер GeneAmp 9600 (Applied Biosystems, США) и инкубировали в течение часа для получения однонитевой ДНК (кДНК). Режим реакции обратной транскрипции указан в Таблице 10.

Таблица 10 - Режим реакции обратной транскрипции

Температура (°C)	Время	Процесс
65	30 сек	Нарушение вторичной структуры РНК
42	60 мин	Связывание праймеров и удлинение образующейся нити кДНК
99	5 мин	Инактивация обратной транскриптазы
4	10 мин	Охлаждение

2.2.2.3 Полимеразная цепная реакция

ПЦР осуществляли после обратной транскрипции путем добавления в пробирки с пробами 30 мкл реакционной смеси, содержащей AmpliTaq Gold ДНК

полимеразу, прямой и обратный праймеры, dNTPs и AmpErase UNG. Пробы затем переносили в термоциклер GeneAmp 9600 (Applied Biosystems, США). Режим ПЦР указан в Таблице 11.

Таблица 11 - Режим ПЦР тест-системы Viroseq

Температура (°C)	Время	Циклы
50	10 мин	1
93	12 мин	1
93	20 сек	40
64	45 сек	40
66	3 мин	40
72	10 мин	1
4	Хранение	-

2.2.2.4 Очистка продукта после амплификации и оценка количества ДНК

После ПЦР пробы очищали при помощи Microcon YM-100 микроконцентраторов, входящих в набор ViroSeq в соответствии с инструкцией производителя. Количество ДНК в очищенном ПЦР-продукте измеряли при визуальном осмотре с применением размерного стандарта ДНК (DNA Mass Ladder) после электрофореза. Очищенный ПЦР-продукт использовали в реакции циклического секвенирования.

2.2.2.5 Циклическое секвенирование

Постановку реакции секвенирования осуществляли с использованием трех прямых и обратных и одного перекрывающегося праймеров (A-H) для секвенирования в составе микса (HIV-1 SEQ mix). Далее смесь в объеме 12 мкл соединяли с 8 мкл очищенного разведенного образца ДНК. Для определения последовательности использовали программное обеспечение ViroSeq HIV-1

Genotyping Software v 3.0 и секвенатор ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) (Таблица 12).

Таблица 12 - Режим циклического секвенирования

Температура (°C)	Время	Циклы
96	10 сек	25
50	5 сек	25
60	4 мин	25
4	Хранение	-

2.3 Биоинформационные методы

2.3.1 Обработка нуклеотидных последовательностей

Построение общей (консенсусной) нуклеотидной последовательности выполняли с помощью приложения SeqMan II expert sequence analysis software (v 6.1) пакета программ LaserGen (DNASTAR Inc, США) [121]. Далее консенсусную последовательность редактировали «вручную» во всех точках, где автоматическая интерпретация указывала на наличие полиморфизма или выявляла проблемы считывания. Парное и множественное выравнивание последовательностей выполняли с помощью программы AliView 1.28 [78].

2.3.2 On-line генотипирование

Работу по определению субтипа вируса по исследуемым областям генома проводили с применением on-line программ COMET v 0.5 [128], jрНММ [119] и REGA HIV-1 Subtyping Tool - Version 3.0 [102]. Для получения информации о мутациях ЛУ и естественных полиморфизмах ВИЧ-1 использовали базу данных Стэнфордского Университета HIVdb Program [127]. В составе этой базы данных есть программа по слежению за надзорными мутациями ЛУ [43] (CPR - Calibrated

Population Resistance, и их список (surveillance drug resistance mutations, SDRMs), которая также была использована в работе.

2.3.3 Кластерный анализ

Кластеры близкородственных последовательностей (кластеры передачи) оценивали с помощью инструмента MicrobeTrace [88]. Мы сопоставили последовательности гена *pol* ВИЧ-1 с эталонной последовательностью HXB2 (координаты: 2253–3869) и рассчитали попарные генетические расстояния по модели Тамура-Ней (d). Генетические сети с разным генетическим расстоянием (диапазон 1,5–2,5%) были созданы для того, чтобы найти наиболее подходящий порог генетического расстояния, который мог бы определить максимальное количество кластеров и связей в генетической сети. Визуализация количества звеньев и траектории связей между последовательностями была создана с использованием MicrobeTrace.

2.3.4 Статистическая обработка данных

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v6.0 (StatSoft Inc., USA) и GraphPad Prism v5.0 (GraphPad Software Inc., США). Представление количественных данных в настоящем исследовании осуществлялось с использованием следующих описательных статистик: объем выборки (N), среднеарифметическое (среднее) значение и 95%-й доверительный интервал среднего (95% ДИ), медиана и межквартильный интервал (МКИ; в виде 25% и 75% перцентилей), а также стандартная ошибка среднего (стандартная ошибка). Эпидемиологические данные, включая пол, возраст, пути передачи, количество CD4+ Т-клеток, вирусную нагрузку, субтип анализировали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Многофакторный логистический регрессионный анализ был выполнен с переменной исхода в качестве подтипов ВИЧ-1: А6, В, CRF63_02А6. Отношение

шансов оценивали с 95% доверительными интервалами (ДИ). Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Статистическую значимость различий между количественными показателями оценивали с использованием критерия χ^2 с поправкой Йейтса или критерия χ^2 Пирсона.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Характеристика исследуемой популяции

3.1.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика, включенных в исследование лиц

В соответствии с рекомендациями ВОЗ о контроле ЛУ при первом назначении или возобновлении АРТ у взрослых (первичная ЛУ), а также о контроле достижения цели терапии в виде подавления вирусной нагрузки у пациентов, получающих АРТ (приобретенная ЛУ), участвующие в исследовании пациенты были разделены на две группы [144]. В 1-ую группу были включены пациенты, получавшие АРТ и имевшие вирусологический неуспех в период с 2005 по 2019 гг. (N=1369). Во 2-ую группу были включены пациенты, никогда не получавшие АРТ в период с 2002 по 2020 гг. (N=1654).

Критерии включения в исследование были следующими:

1. лица мужского и женского пола любого возраста;
2. верифицированный и документально подтвержденный диагноз ВИЧ-инфекция со стадиями 1–5 по классификации В. И. Покровского [21];
3. начало/продолжение АРТ в период с 2005 по 2019 гг. (для группы 1) и отсутствие АРТ по состоянию с 2002 по 2020 гг. (для группы 2);
4. доступность медицинской документации, позволяющей оценить данные с момента включения в исследование (2002 г.) и до конца (2020 г.).

В Таблице 13 указано количество пациентов из первой и второй групп, участвовавших в исследовании с указанием федеральных округов и городов, соответствующим им. Большинство составляли пациенты из Центрального ФО (2110 чел.), в котором преобладающую роль играли пациенты из Московской области (1207 чел. из 1-ой группы и 851 чел. из 2-ой группы). Меньшинство составляли пациенты из Северо-западного ФО (214 чел.), где наименее представленными были пациенты из Санкт-Петербурга (7 чел. из 1-ой группы и 0 чел. из 2-ой группы).

Таблица 13 – Количество пациентов, включенных для исследования приобретенной ЛУ (1 группа) и ЛУ перед лечением (2 группа)

Город	Общее количество пациентов, (N)	Количество пациентов из 1-ой группы, (N)	Количество пациентов из 2-ой группы, (N)
Центральный федеральный округ			
Московская область	1207	851	356
Калуга	26	0	26
Смоленск	22	0	22
Липецк	4	0	4
Северо-западный федеральный округ			
Санкт-Петербург	7	0	7
Мурманск	63	1	62
Архангельск	63	7	56
Вологда	27	1	26
Череповец	43	2	41
Южный федеральный округ			
Краснодар	374	17	357
Симферополь	58	28	30
Волгоград	29	0	29
Приволжский федеральный округ			
Саратов	24	0	24
Казань	59	56	3
Пермь	77	0	77
Нижний-Новгород	64	50	14
Ижевск	28	0	28
Уральский федеральный округ			
Ханты-Мансийск	8	1	7
Нижневартовск	20	3	17
Сургут	23	2	21
Ноябрьск	141	111	30
Сибирский федеральный округ			
Барнаул	76	17	59
Иркутск	97	14	83
Красноярск	269	192	77
Дальневосточный федеральный округ			
Благовещенск	40	5	35
Хабаровск	82	5	77
Владивосток	40	4	36
Южно-Сахалинск	52	2	50

Основные клинико-эпидемиологические характеристики пациентов из указанных регионов представлены в Таблице 14.

Таблица 14 - Клинико-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфицированных лиц 1-ой и 2-ой группы пациентов

Показатель	1 группа (N=1369)	2 группа (N=1654)
Медиана [МКИ] возраста, лет	43,0 [39,0 – 48,0]	41,0 [36,0 – 47,0]
Пол		
Мужчины, N (%)	804 (58,7)	866 (52,3)
Женщины, N (%)	565 (41,3)	787 (47,6)
Фактор риска заражения ВИЧ-1		
Переливание крови, N (%)	-	1 (0,1)
Гемо-трансмиссивная инфекция в быту, N (%)	-	1, (0,1)
Гетеросексуальный путь, N (%)	632 (46,2)	961 (58,1)
ПИН, N (%)	595 (43,5)	547 (33,0)
Профессиональное заражение, N (%)	-	1 (0,1)
МСМ, N (%)	45 (3,3)	100 (6,0)
Вертикальный путь, N (%)	74 (5,4)	12 (0,7)
Внутрибольничная инфекция, N (%)	2 (0,1)	11 (0,7)
Нет данных, N (%)	21 (1,5)	20 (1,2)
Медиана [МКИ] числа CD4 ⁺ Т-клеток, клетки/мм ³	204,5 [107,0-340,0]	384,0 [238,0-540,0]
Медиана [МКИ] вирусной нагрузки, log ₁₀ копии РНК/см ³	4,4 [3,8-5,0]	4,4 [3,7-5,1]
Стадия ВИЧ-инфекции		
1-я, N (%)	-	38 (2,3)
2-я, N (%)	7 (0,5)	184 (11,1)
3-я, N (%)	282 (20,6)	840 (50,8)
4-я, N (%)	874 (63,8)	498 (30,1)
5-я, N (%)	2 (0,2)	6 (0,4)
Нет данных, N (%)	204 (14,9)	88 (5,3)

Распределение таких клинико-эпидемиологических показателей как возраст, число CD4⁺ Т-клеток, вирусная нагрузка было равномерным (p>0,05). Возраст

пациентов варьировал от 6 лет до 91 года. Более возрастной являлась группа ВИЧ-инфицированных лиц с опытом приема АРТ (медиана 43 года, $p < 0,01$). Для группы пациентов без опыта приема АРТ медиана возраста составила 41 год. В половой структуре ВИЧ-инфицированных лиц из групп пациентов без опыта приема АРТ и пациентов с успехом преобладали лица мужского пола (58,7% для 1-ой группы и 52,3% для 2-ой группы, $p < 0,01$).

Отмечалось разнообразие факторов риска заражения ВИЧ-1. Присутствовали такие факторы, как внутрибольничная инфекция, заражение при переливании крови, гемо-трансмиссивная инфекция в быту, профессиональное заражение, заражение среди мужчин, практикующих секс с мужчинами, а также передача ВИЧ от матери к ребенку. Несмотря на разнообразие, основными факторами передачи ВИЧ оставались гетеросексуальный путь и потребление инъекционных наркотиков, причем гетеросексуальный путь преобладал в 1-ой и 2-ой группах пациентов (46,2% и 58,1% соответственно, $p < 0,01$).

Показатель числа $CD4^+$ Т-клеток пациентов из обеих когорт, для которых данный показатель был известен, находился в интервале от 1 до 2360 клеток/ mm^3 и был выше в группе ВИЧ-инфицированных лиц, не имевших опыт приема АРТ (медиана 204,5 клеток/ mm^3 для 1 группы, медиана 384 клеток/ mm^3 для 2 группы; $p < 0,05$). Медиана вирусной нагрузки в обеих группах пациентов, для которых данный показатель был известен, составлял 4,4 \log_{10} копии РНК/ cm^3 . Стадии ВИЧ-инфекции тоже отличались разнообразием, начиная от острой стадии и заканчивая стадией СПИДа. В выборке пациентов из 1-ой группы преобладала доля лиц с 4-й стадией ВИЧ-инфекции, она составила 63,8% (874/1369, $p < 0,01$). В выборке пациентов из 2-й группы преобладала доля лиц с 3-й стадией ВИЧ-инфекции, она составила 50,8% (840/1654, $p < 0,01$).

3.2 Анализ лекарственной устойчивости среди пациентов с опытом приема антиретровирусной терапии и вирусологической неэффективностью

3.2.1 Анализ применяемых антиретровирусных препаратов и устойчивости к ним

При анализе ЛУ к ИП, НИОТ и ННИОТ среди пациентов с опытом приема АРТ за период от 31.10.2005 по 20.08.2019 г. (даты взятия клинического образца на генотипирование) включали только лиц, у которых была зафиксирована вирусологическая неэффективность и у которых были получены нуклеотидные последовательности фрагментов гена *pol*, кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы (N = 1369). За показатель вирусологической неэффективности принимали уровень ВН свыше 3 log₁₀ копий РНК/см³ (свыше 1000 копий РНК/см³).

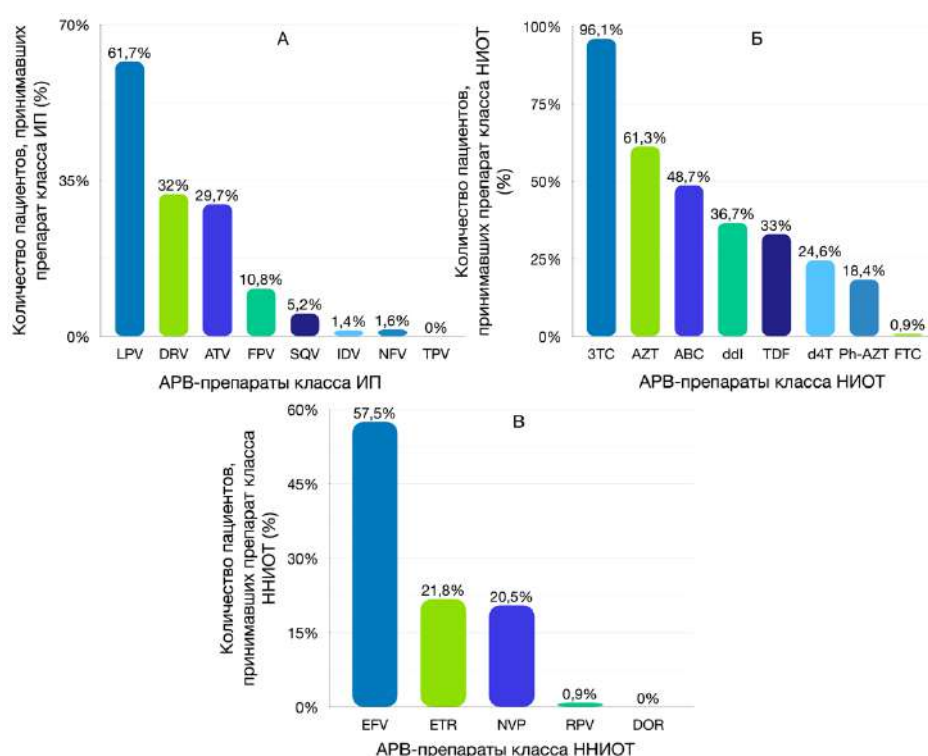


Рисунок 13 – Диаграмма частоты применяемых препаратов АРТ за все годы исследования (2005-2019 гг.). А – количество пациентов, принимавших ИП, Б - количество пациентов, принимавших НИОТ, В - количество пациентов, принимавших ННИОТ

В качестве нуклеозидного основания в 96,1% случаев пациенты принимали ЗТС. Далее следовал AZT (61,3%) и ABC (48,7%) с сочетанием с ЗТС. В качестве третьего препарата схемы наиболее часто назначались препараты класса ИП - LPV (842/1369; 61,7%), DRV (437/1369; 32,0%) и ATV (405/1369; 29,7%) в виде бустированных или не бустированных RTV, и препараты класса ННИОТ - EFV (785/1369; 57,5%), ETR (297/1369; 21,8%) и NVP (280/1369; 20,5%).

Проанализирована частота возникновения ЛУ к индивидуальным препаратам класса ИП, НИОТ и ННИОТ (Рисунок 14).

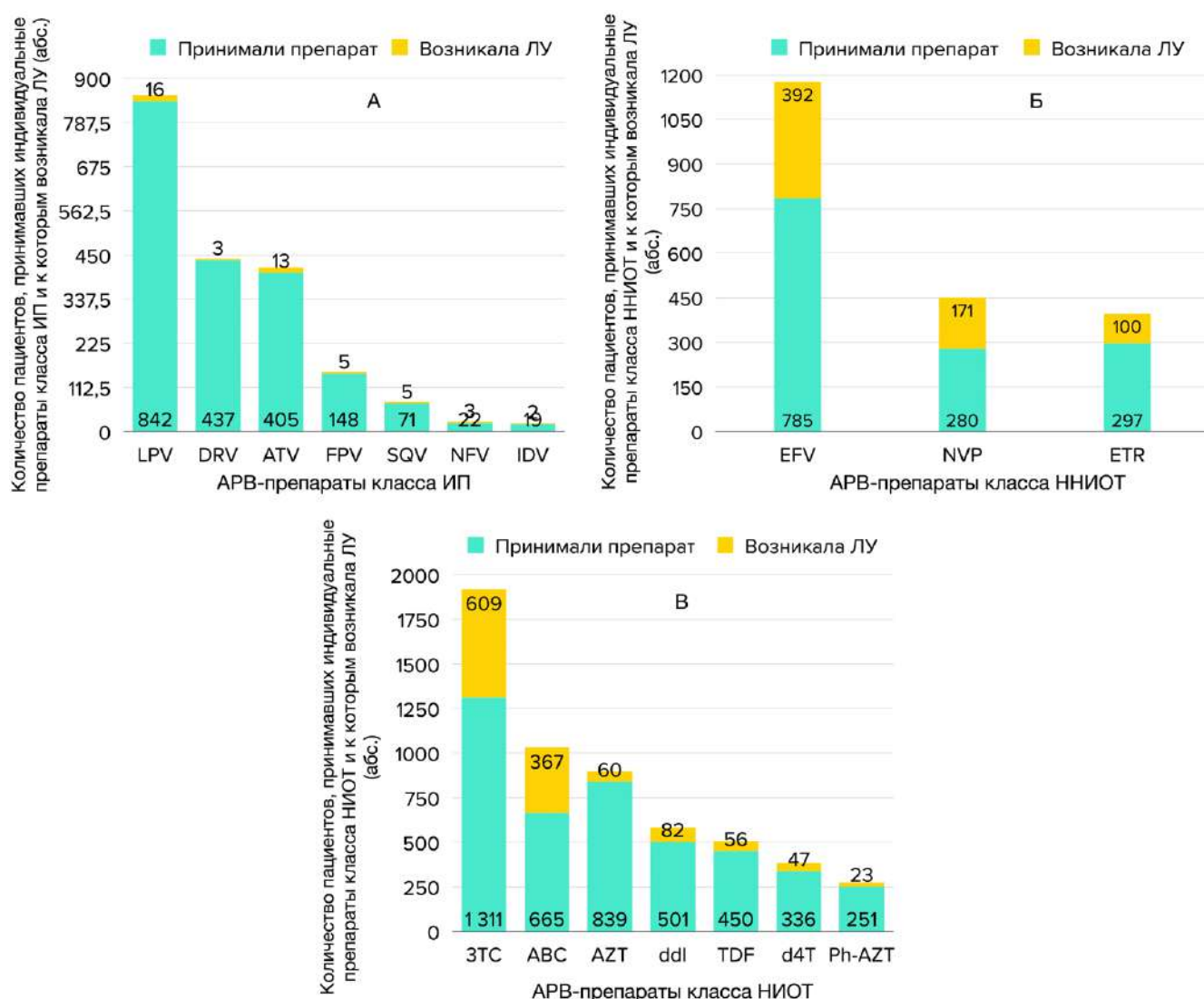


Рисунок 14 – Диаграммы числа случаев возникновения ЛУ к препаратам класса ИП, НИОТ и ННИОТ (абс.). А – количество пациентов, у которых выявлена ЛУ к ИП, Б - количество пациентов, у которых выявлена ЛУ к ННИОТ, В - количество пациентов, у которых выявлена ЛУ к НИОТ

Обнаружено, что при приеме некоторых индивидуальных АРВ-препаратов почти в половине случаев неуспеха выявлялась ЛУ, это препараты класса НИОТ - ЗТС (46,5%, 609/1311), АВС (55,2%, 367/665) и препараты класса ННИОТ - EFV (49,9%, 392/785), NVP (61,1%, 171/280) и RPV (50,0%, 12/6) (для наглядности не указан на Рисунке 14), для которых характерна широкая перекрестная резистентность. Кроме того, отмечен небольшой процент ЛУ к AZT (7,1%; 60/839), хотя он часто присутствовал в схеме АРТ (839/1369; 61,5%). ЛУ к ИП оставалась на низком уровне в силу того, что для приобретения устойчивости к данному классу препаратов требуется формирование порядка 7-8 мутаций резистентности. ЛУ к IDV и NFV возникала чаще, чем к другим ИП (10,5%, 2/19 для IDV и 13,6%, 3/22 для NFV), причем принимали IDV только 1,4% (19) пациентов, а NFV 1,6% (22) пациентов, что сравнимо меньше, чем частота приема других АРВ-препаратов. При приеме TPV не было выявлено пациентов с ЛУ.

Данные о высоком уровне ЛУ к ННИОТ указывают на целесообразность оптимизации схемы первой линии АРТ и замене его на ингибиторы интегразы второго поколения [29].

3.2.2 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам препаратов антиретровирусной терапии

В результате анализа ЛУ среди пациентов с вирусологической неудачей на фоне приема АРТ было выяснено, что причиной вирусологической неэффективности у пациентов с опытом приема АРТ не всегда являлись мутации резистентности. Так, по данным генотипирования за весь период исследования (2005 – 2019 гг.) 18,9% пациентов испытали вирусологическую неудачу в отсутствие каких-либо мутаций. Вирусологическая неэффективность среди данной когорты пациентов, скорее всего, была связана с низкой приверженностью к лечению.

Для оценки распространенности ЛУ к разным классам препаратов были проанализированы основные и надзорные мутации ЛУ в соответствии со списком

ВОЗ [3]. Основные и надзорные мутации ЛУ у пациентов с опытом приема АРТ и вирусологической неэффективностью были представлены как единичными заменами в различных участках гена *pol*, так и несколькими мутациями, ведущими к возникновению ЛУ к двум или более классам препаратов. На Рисунке 15 показано соотношение пациентов, имеющих мутации ЛУ к разным классам препаратов АРТ.

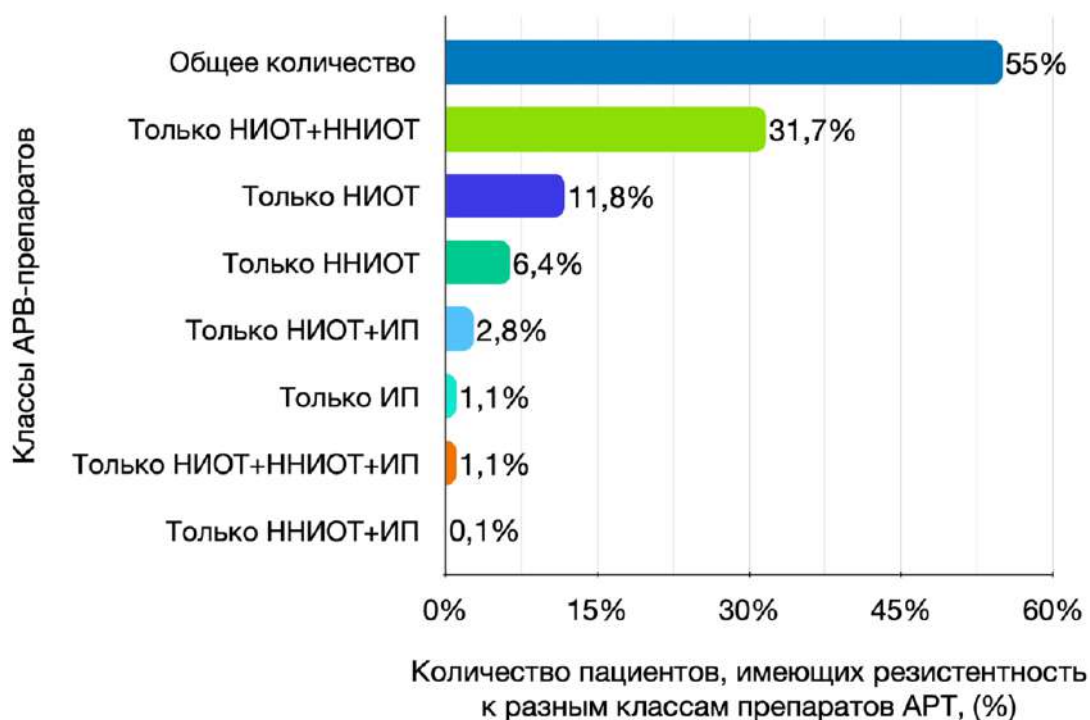


Рисунок 15 – Диаграмма процентного соотношения пациентов с опытом приема АРТ и вирусологической неэффективностью, имеющих мутации ЛУ к разным классам препаратов АРТ за весь период исследования (2005 – 2019 гг.)

Мутации к НИОТ в единичном варианте были обнаружены у 11,8% пациентов (162/1369), мутации к ННИОТ - у 6,4% пациентов (88/1369), к ИП - у 1,1% (16/1369). При анализе схем терапии было обнаружено, что чаще всего в исследуемой когорте пациентов выявляются множественные мутации сразу к двум классам препаратов НИОТ + ННИОТ (31,7%, 434/1369). Множественная устойчивость к НИОТ + ИП выявлялась у 2,8% (38/1369) пациентов с ВИЧ, а сочетанию НИОТ + ННИОТ + ИП - у 1,1% (16/1369). Наконец, реже всего множественные мутации выявлялись к ННИОТ + ИП (0,1%, 1/1369). Эти данные

хорошо соотносятся со схемами терапии, которые наиболее часто назначались пациентам Центрами СПИД, а именно: 2 НИОТ + ННИОТ либо 2 НИОТ + ИП.

3.2.2.1 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов в динамике

Предстояло оценить, как менялось соотношение пациентов, имеющих основные и надзорные мутации к разным классам препаратов АРТ в динамике. Для этого все пациенты, имеющие вирусологический неуспех на фоне приема АРТ, были разделены на группы по годам забора клинического образца на генотипирование. Группы были сформированы с учетом равномерности размера выборки в каждом из периодов. Для учета брали основные и надзорные мутации, входящие в список Стэнфордской базы данных (Рисунок 16).

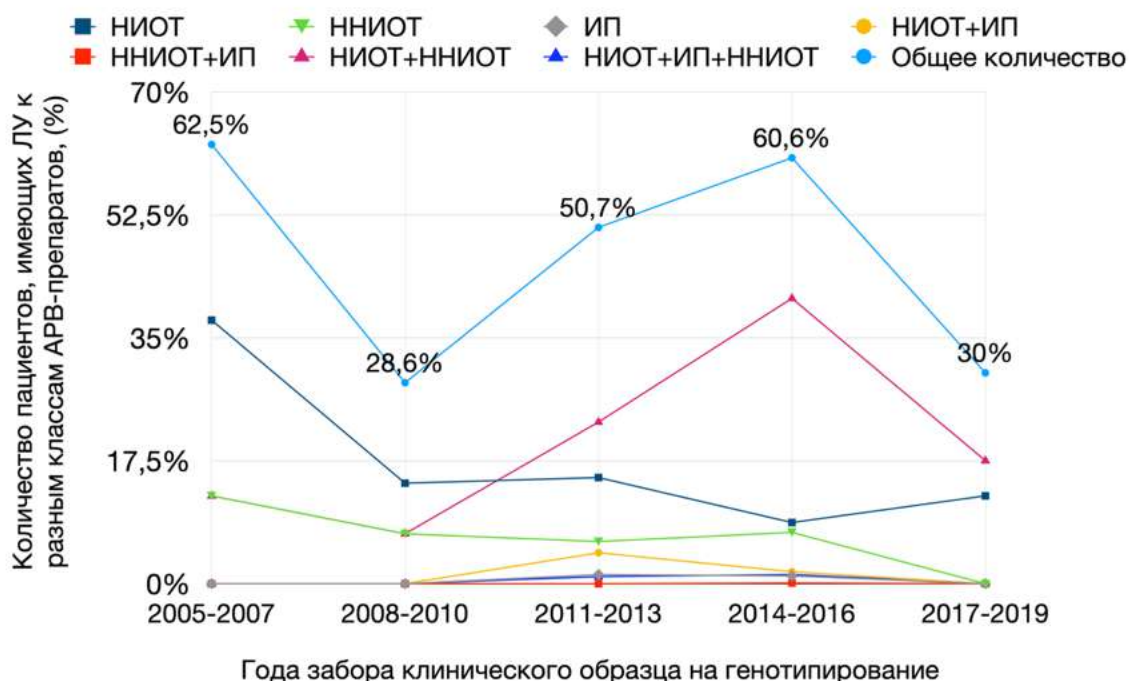


Рисунок 16 – Диаграмма процентного соотношения пациентов, имеющих мутации ЛУ к разным АРВ-препаратам за весь период исследования (2005-2019 гг.)

Ретроспективный анализ показал, что в 2005-2007 гг. и 2014-2016 гг. наблюдались скачки частоты встречаемости ЛУ (62,5% и 60,6% соответственно).

Причем весь период исследования с 2005 года по 2019 год сохранялась тенденция к преобладанию мутаций ЛУ к НИОТ, ННИОТ и НИОТ+ННИОТ. Более того, в 2011-2016 годах наблюдался скачок количества пациентов с мутациями ЛУ к НИОТ+ННИОТ (с 23,0% в 2011-2013 гг. до 40,6% в 2014-2016 гг.) в виду того, что в 2016 г. в России были зафиксированы перебои с поставками лекарств для терапии ВИЧ-инфекции при переходе на новую централизованную систему закупок препаратов. Соответственно не все пациенты смогли продолжить начатый прием АРТ, что являлось хорошим заделом для формирования лекарственно-устойчивых вариантов вируса.

Стабильно редко наблюдались мутации ЛУ к ИП+ННИОТ, ННИОТ+ИП и НИОТ+ННИОТ+ИП. Более наглядно ознакомиться с частотой мутаций ЛУ у пациентов с опытом приема АРТ и неэффективностью терапии в динамике можно в Таблице 15.

Таблица 15 - Частота встречаемости мутаций приобретенной ЛУ у пациентов с неуспехом АРТ за весь период исследования (2005-2019 гг.)

	2005-2007	2008-2010	2011-2013	2014-2016	2017-2019
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Без ЛУ	3 (37,5)	10 (71,5)	294 (49,3)	279 (39,2)	28 (70,0)
НИОТ	3 (37,5)	2 (14,3)	90 (15,1)	62 (8,7)	5 (12,5)
ННИОТ	1 (12,5)	1 (7,1)	34 (6,0)	52 (7,3)	0
ИП	0	0	8 (1,3)	8 (1,1)	0
НИОТ+ННИОТ	2 (12,5)	1 (7,1)	137 (23,0)	288 (40,6)	7 (17,5)
НИОТ+ИП	0	0	26 (4,4)	12 (1,7)	0
ННИОТ+ИП	0	0	0	1 (0,1)	0
НИОТ+ННИОТ+ИП	0	0	5 (1,0)	9 (1,3)	0

3.2.2.2 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов по федеральным округам Российской Федерации

Далее была дана оценка различий в соотношении пациентов с основными и надзорными мутациями ЛУ к разным классам препаратов АРТ по ФО РФ. В Таблице 16 показана распространенность ЛУ к разным классам АРВ-препаратов во всех 7-ми федеральных округах.

Таблица 16 - Частота встречаемости мутаций приобретенной ЛУ у пациентов с неуспехом АРТ по ФО РФ за весь период исследования (2005-2019 гг.)

	Все округа	Центральный	Северо-западный	Приволжский
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Без ЛУ	615 (45,0)	325 (38,2)	9 (81,8)	59 (55,7)
НИОТ	162 (11,8)	106 (12,4)	1 (9,1)	6 (5,7)
ННИОТ	88 (6,4)	59 (6,9)	0	10 (9,4)
ИП	16 (1,1)	9 (1,1)	0	3 (2,8)
НИОТ+ННИОТ	434 (31,7)	318 (37,4)	1 (9,1)	22 (20,7)
НИОТ+ИП	38 (2,8)	23 (2,7)	0	4 (3,8)
ННИОТ+ИП	1 (0,1)	1 (0,1)	0	0
НИОТ+ННИОТ+ИП	16 (1,1)	10 (1,2)	0	2 (1,9)

Продолжение таблицы 16

	Южный	Уральский	Сибирский	Дальневосточный
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Без ЛУ	27 (55,6)	69 (59,0)	111 (50,0)	15 (93,7)
НИОТ	5(11,1)	14 (12,0)	30 (13,5)	0
ННИОТ	1 (2,2)	11 (9,4)	7 (3,1)	0
ИП	1 (2,2)	1 (0,8)	2 (1,0)	0
НИОТ+ННИОТ	13 (28,9)	18 (15,4)	61 (27,4)	1 (6,3)
НИОТ+ИП	0	2 (1,7)	9 (4,0)	0
ННИОТ+ИП	0	0	0	0
НИОТ+ННИОТ+ИП	0	2 (1,7)	2 (1,0)	0

Анализ показал, что чаще всего мутации ЛУ при неуспехе терапии встречались в Центральном (61,8%) и Сибирском ФО (50%), менее пораженными оказались Северо-западный (18,2%) и Дальневосточный ФО (6,3%). Так, уровень ЛУ только к препаратам НИОТ в Центральном и Сибирском округе составил 12,4% и 13,5%, соответственно, в то время как в Северо-западном, Южном и Уральском этот показатель был 9,1%, 11,1%, 12,0%, соответственно. Менее пораженными ЛУ округами оказались Приволжский и Дальневосточный. Показатель ЛУ к НИОТ в данных округах составил 5,7% и 0%, соответственно.

По количеству ЛУ к ННИОТ наиболее пораженными округами оказались Уральский и Приволжский, на их долю пришлось 9,4%. Наименее пораженными округами по количеству ЛУ к ННИОТ оказались Северо-западный и Дальневосточный. В данных округах не было выявлено ЛУ к препаратам класса ННИОТ.

В Центральном округе наблюдался высокий уровень мультирезистентности к НИОТ+ННИОТ, который достигал 37,4%. В остальных округах мультирезистентность к НИОТ+ННИОТ была умеренной: 28,9% в Южном ФО, 27,4% в Сибирском ФО, 20,7% в Приволжском ФО, 15,4% в Уральском ФО, 9,1% в Северо-западном ФО, и наконец 6,3% в Дальневосточном.

Распространенность ЛУ к НИОТ+ИП была наиболее высокой в Сибирском и Приволжском ФО и составила 4,0 и 3,8% соответственно, в то время как в Южном, Северо-западном и Дальневосточном ФО мутаций ЛУ к НИОТ+ИП выявлено не было.

При сравнении частоты встречаемости ЛУ к ННИОТ+ИП не было обнаружено мутаций резистентности ни в одном из округов, кроме Центрального (0,1%).

При сравнении корреляции между исследованными группами были найдены статистически значимые различия ($p < 0,01$; χ^2 – тест).

3.2.3 Частота встречаемости индивидуальных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов

Для оценки распространенности мутаций ЛУ к АРТ препаратам были оценены как основные мутации резистентности, так и надзорные. Частоту встречаемости рассчитывали от количества человек, имеющих хотя бы одну основную/надзорную мутацию ЛУ (1109/1369). В исследование вошли пациенты с вирусологическим неуспехом, имеющих свыше $3 \log_{10}$ копий РНК/см³ или свыше 1000 копий РНК/см³, но не учитывались те, у которых вирусологический неуспех был связан с неприверженностью к лечению.

3.2.3.1 Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам препаратов антиретровирусной терапии

3.2.3.1.1 Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы

Проанализирована частота встречаемости мутаций ЛУ к ИП в исследованной группе пациентов за весь период исследования (2005 – 2019 гг.). За этот период было выявлено 95 мутаций к ИП у 66 пациентов (единичные/в комбинации с другими мутациями к ИП/в комбинации с мутациями к другим АРВ-препаратам). Самой распространенной (31/1109, 2,8%) была мутация в позиции 46 протеазы, при этом аминокислота метионин (М) менялась на I, L, V с различной частотой. Мутации M46I/L вызывают низкий уровень ЛУ к NFV, ATV, APV и LPV. Второй по частоте встречаемости была мутация I50V/L (14/1109, 1,3%), ответственная за возникновение ЛУ практически ко всем ИП, кроме IDV и TPV, и на третьем – L33F (13/1109, 1,2%), вызывающая пониженную чувствительность к LPV, ATV и DRV. Более наглядную информацию о мутациях ЛУ к ИП можно увидеть на Рисунке 17.

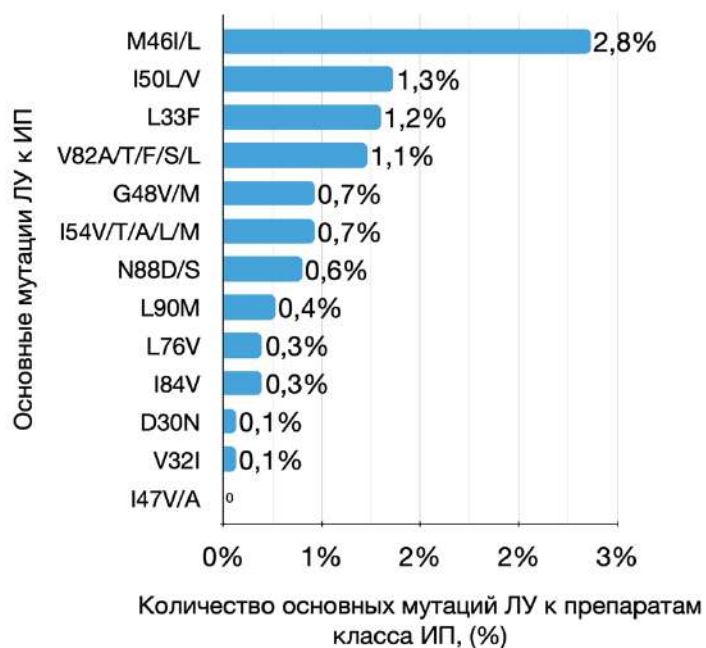


Рисунок 17 – Диаграмма частоты встречаемости основных мутаций ЛУ к ИП (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

При анализе сочетаний мутаций ИП друг с другом было обнаружено, что мутации ЛУ к ИП встречались как в одиночном виде, так и в сочетании с другими мутациями к ИП, такими как:

- D30N, M46I;
- G48M/R/V, I54V, V82A;
- G48V, I54V, L90M;
- G48V, L90M;
- G48V, V82A;
- I50L, L90M;
- I50L, N88S;
- M46I, I54V, L76V, V82A;
- M46I, I54V, L76V, V82F;
- M46I, I54V, V82A;
- M46I, I84V;
- M46I, L76V;
- M46I, V82A;
- M46L, N88S, L90M;
- V32I, M46I.

Кроме основных мутаций, в список надзорных мутаций входили дополнительные (accessory) мутации, такие как: L24I, L23I, F53L/Y, G73S/T/C/A, N83D, а также мутация I85V (other).

Мутация L24I связана со сниженной чувствительностью к FPV, IDV, LPV, SQV, ATV и NFV, при этом она повышает чувствительность к TPV. Данная мутация возникает под действием IDV и реже LPV.

Мутация L23I связана с формированием низкого/среднего уровня устойчивости к NFV. F53L/Y возникает на фоне приема SQV, IDV, ATV, LPV и NFV и отвечает за устойчивость к данным препаратам.

Дополнительная мутация G73S/T/C/A связана со снижением устойчивости ко всем ИП.

И наконец, мутация N83D связана с пониженной чувствительностью к ATV, SQV, NFV, IDV и TPV. Частоту возникновения надзорных мутаций ЛУ к ИП можно увидеть на Рисунке 18.

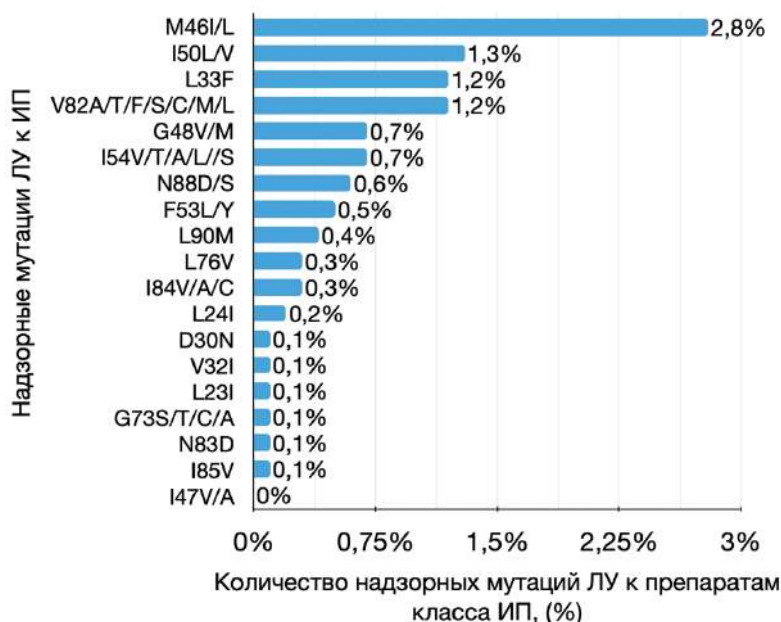


Рисунок 18 – Диаграмма частоты встречаемости надзорных мутаций ЛУ к ИП (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

3.2.3.1.2 Анализ частоты встречаемости основных и надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

Как уже отмечалось ранее, основную структуру НИОТ составляют аналоги природных нуклеозидов, а именно: тимидин, аденозин, цитидин и гуанозин. Благодаря этой структуре происходит блокировка обратной транскриптазы ВИЧ-1 и, соответственно, ингибирование репликации вирусной ДНК. К не-тимидиновым аналогам НИОТ относят: аналог аденозина — ddI; аналоги цитидина — FTC, 3TC; аналог гуанозина – ABC. К группе тимидиновых аналогов НИОТ относят AZT и d4T. TDF и Ph-AZT представляют собой аналоги нуклеотидов.

Проанализирована частота встречаемости мутаций ЛУ к не-тимидин-аналоговым НИОТ (nonTAMs) и тимидин-аналоговым НИОТ (TAMs) в группе

пациентов хотя бы с одной основной и надзорной мутацией ЛУ к препаратам АРТ (1109 человек) за весь период исследования (2005-2019 гг.).

Мутации ЛУ к НИОТ были разделены на две группы: основные и надзорные. Наиболее часто встречающимися основными мутациями (54,5%, 605/1109) были M184V/I, при этом преобладала мутация M184V (558/605). Помимо замены метионина в позиции 184 обратной транскриптазы на валин (M184V), отмечались также замены в этой позиции на изолейцин (I), смесь метионина (M) с валином и изолейцином и их различные сочетания. За все годы такие замены метионина на изолейцин - у 46 пациентов (46/605).

Далее за мутацией M184V/I следовала L74V/I (8,1%, 90/1109), ответственная за возникновение ЛУ к AZT, ABC и TDF. При этом L74V встретила у 90 пациентов (90/92), а в сочетании L74I у 9 пациентов.

На третьем месте находилась тимидин-аналоговая мутация T215F/Y (4,7%, 52/1109).

Остальные мутации встречались редко и примерно с одинаковой частотой (Рисунок 19).

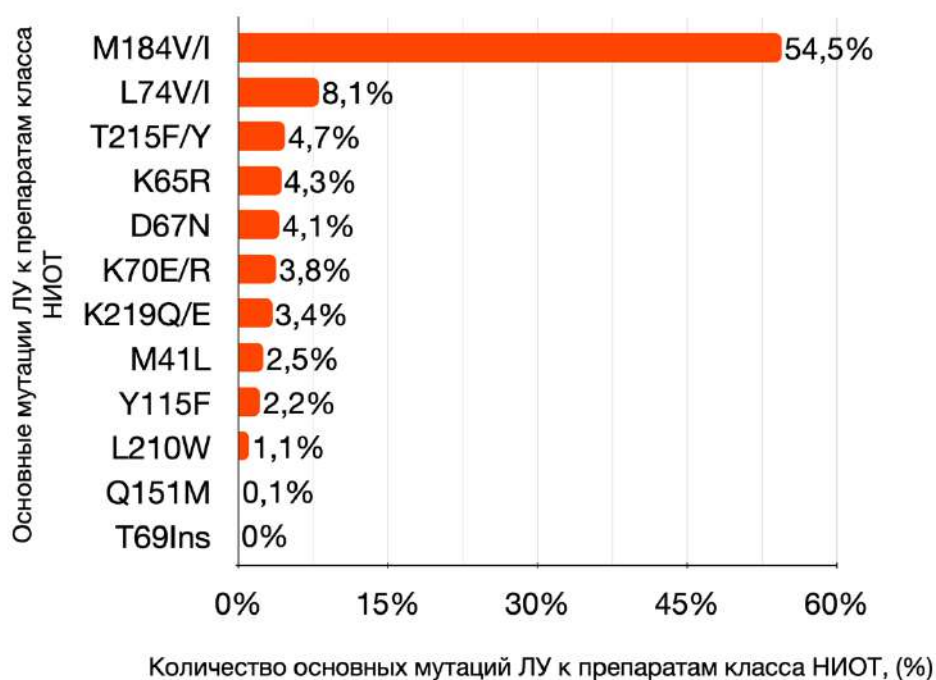


Рисунок 19 – Диаграмма частоты встречаемости основных мутаций ЛУ к НИОТ (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

Анализ надзорных и полиморфной мутаций к НИОТ выявил схожий паттерн устойчивости в сравнении с основными мутациями ЛУ (Рисунок 20). Разница наблюдалась в дополнении к основному списку мутаций некоторых замен, а именно A62V, V75A/M/S/T, F116Y и F77L. При анализе частоты встречаемости надзорных и полиморфной мутаций к НИОТ выявлена замена A62V (63,5%), которая часто встречается у суб-субтипа А6 ВИЧ-1 и не влияет на устойчивость к препаратам класса НИОТ у данного варианта вируса, если она наблюдается в отсутствии других мутаций ЛУ к НИОТ. Для мутации V75 добавлялись замены валина на метионин (V75M) и серин (V75S), валина на треонин (V75T) и аланин (V75A). V75T появляется, в первую очередь, под действием d4T и ddI и снижает восприимчивость к этим НИОТ. V75M появляется у пациентов, получающих лечение, содержащее d4T и 3ТС, особенно при наличии вирусов субтипа CRF01_AE. Относительно мутаций V75S/A на сегодняшний день имеется недостаточный объем информации.

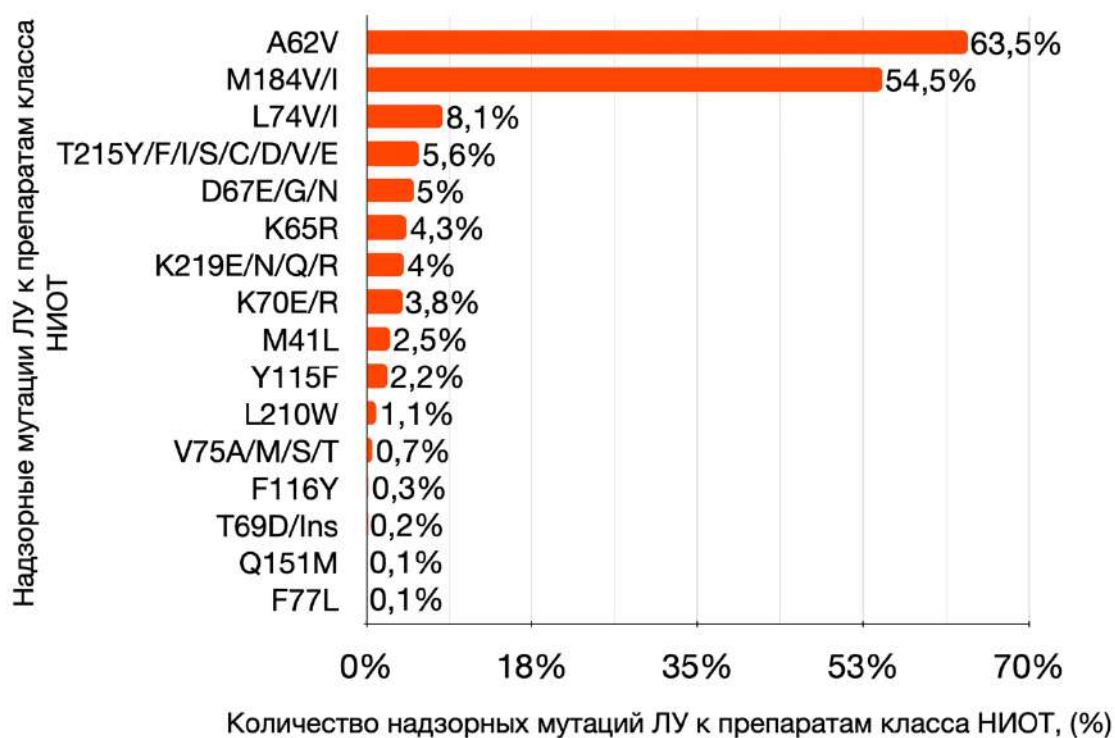


Рисунок 20 - Диаграмма частоты встречаемости надзорных и полиморфной мутаций ЛУ к НИОТ (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

3.2.3.1.3 Анализ частоты возникновения основных и надзорных мутаций к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

Проанализирована частота встречаемости основных и надзорных мутаций ЛУ к ННИОТ в группе пациентов, имеющих хотя бы одну мутацию ЛУ к АРТ (1109 человек) за весь период исследования (2005 – 2019 гг.). За эти годы основные мутации ЛУ к ННИОТ (единичные/в комбинации с другими мутациями к ИП/в комбинации с мутациями к другим АРВ-препаратам) встретились у 597 человек.

Частота встречаемости основных мутаций представлена на Рисунке 21.



Рисунок 21 – Диаграмма частоты встречаемости основных мутаций к ННИОТ (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

Наиболее часто встречающейся (295/1109; 26,6%) была мутация в позиции 190 обратной транскриптазы, в которой аминокислота глицин (G) менялась на другие аминокислоты с различной частотой (смотри текст ниже), вызывая устойчивость ко всем ННИОТ. На втором месте – мутация K103N/S (201/1109, 18,1%), ответственная за возникновение ЛУ к EFV и NVP, и на третьем – K101E/P (159/1109, 14,3%), связанная с устойчивостью ко всем ННИОТ.

Остальные мутации встречались с низкой частотой (0,6 – 9,8%) (Рисунок 21). Мутации в позиции 190 встречались чаще всего. В нашем исследовании частота аминокислотных замен в этой позиции выглядела следующим образом: G190S — 271 (91,9%), G190A — 24 (8,1%).

В 198 (98,5%) случаях встречалась замена K103N. У 3 (1,5%) пациентов была определена мутация K103S – как в единичном варианте, так и совместно с другими мутациями ЛУ к ННИОТ.

Аминокислотные замена K101E встретилаь у 152 (95,6%) пациентов, K101P — у 7 (4,4%). K101E встречается при приеме всех препаратов класса ННИОТ кроме DOR в силу того, что нет достаточных данных. K101E снижает чувствительность вируса к NVP, EFV, ETR и RPV.

Частота встречаемости надзорных мутаций представлена на Рисунке 22. В целом, частоты встречаемости основных и надзорных мутаций ЛУ к ННИОТ схожи с друг другом, но в основных мутациях наблюдается большее разнообразие замен аминокислот.

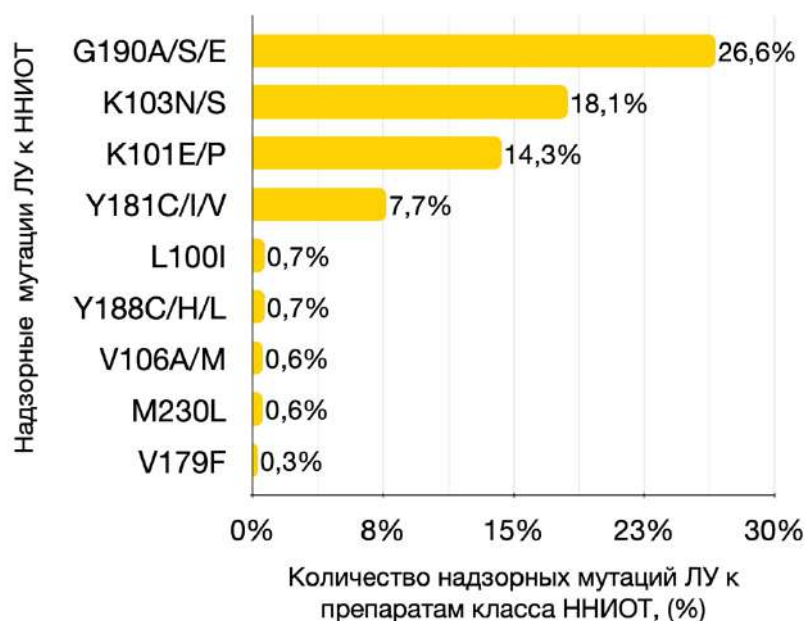


Рисунок 22 – Диаграмма частоты встречаемости надзорных мутаций к ННИОТ (%) за весь период исследования (2005-2019 гг.)

3.2.4 Оценка мультирезистентности к разным классам антиретровирусных препаратов

Была проанализирована множественная ЛУ (мультирезистентность) к разным классам препаратов АРТ, таких как: НИОТ+ИП, ННИОТ+ИП, НИОТ+ННИОТ, НИОТ+ИП+ННИОТ. При анализе множественной ЛУ учитывались все пациенты с вирусологическим неуспехом, включая неприверженных пациентов (1369 человек). Расчет велся с учетом пациентов, имеющих мутации ЛУ только к НИОТ+ННИОТ, далее только к НИОТ+ИП, только к ННИОТ+ИП и, наконец, только к НИОТ+ИП+ННИОТ (Рисунок 23).

Было показано, что чаще всего выявлялась мультирезистентность к НИОТ+ННИОТ (434/1369, 31,7%). Заметно реже множественная ЛУ выявлялась к НИОТ+ИП (38/1369, 2,8%), к ННИОТ+ИП (1/1369, 0,1%) и, наконец, к НИОТ+ИП+ННИОТ (16/1369, 1,1%). Данный показатель хорошо соответствует свойствам наиболее часто применяемых препаратов для лечения ВИЧ-инфекции, а именно НИОТ и ННИОТ.

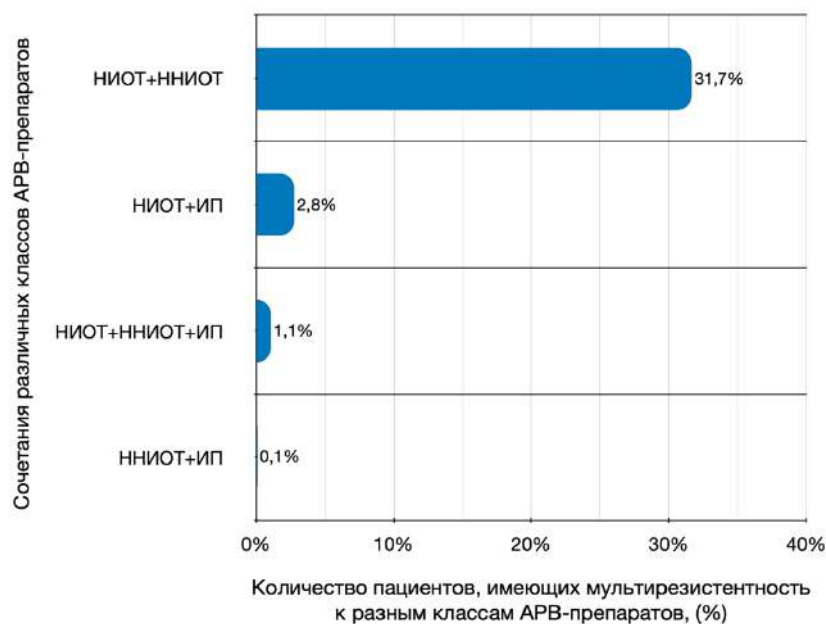


Рисунок 23 – Диаграмма распространенности мультирезистентности к разным классам АРВ-препаратов среди пациентов с опытом приема АРТ и вирусологической неэффективностью за весь период исследования (2005-2019 гг.)

Далее необходимо было оценить, какие именно мутации и в каком соотношении играют роль в развитии множественной ЛУ. Анализ структуры мультирезистентности к НИОТ+ННИОТ осуществляли, учитывая самые распространенные мутации ЛУ, встречающиеся в данной работе (M184V/I – НИОТ; G190A/S/E, K103N/S, Y181C/I/V и K101E/P – ННИОТ) и с расчетом на 434 пациента, у которых данная множественная ЛУ была выявлена. Как было выяснено, при мультирезистентности НИОТ+ННИОТ наиболее часто выявлялось сочетание мутаций M184V/I+G190A/S/E (245/434, 56,5%), вызывающая устойчивость разного уровня ко всем ННИОТ и ABC и ddI. Далее с частотой 14,7% (64/434) следовало сочетание M184V/I+Y181C/I/V и сочетание M184V/I+K101E/P с частотой 11,5% (50/434) (устойчивость к NVP). Наконец, сочетание M184V/I+K103N/S (устойчивость к NVP и EFV) встречалось с частотой 11,3% (49/434) (Рисунок 24).

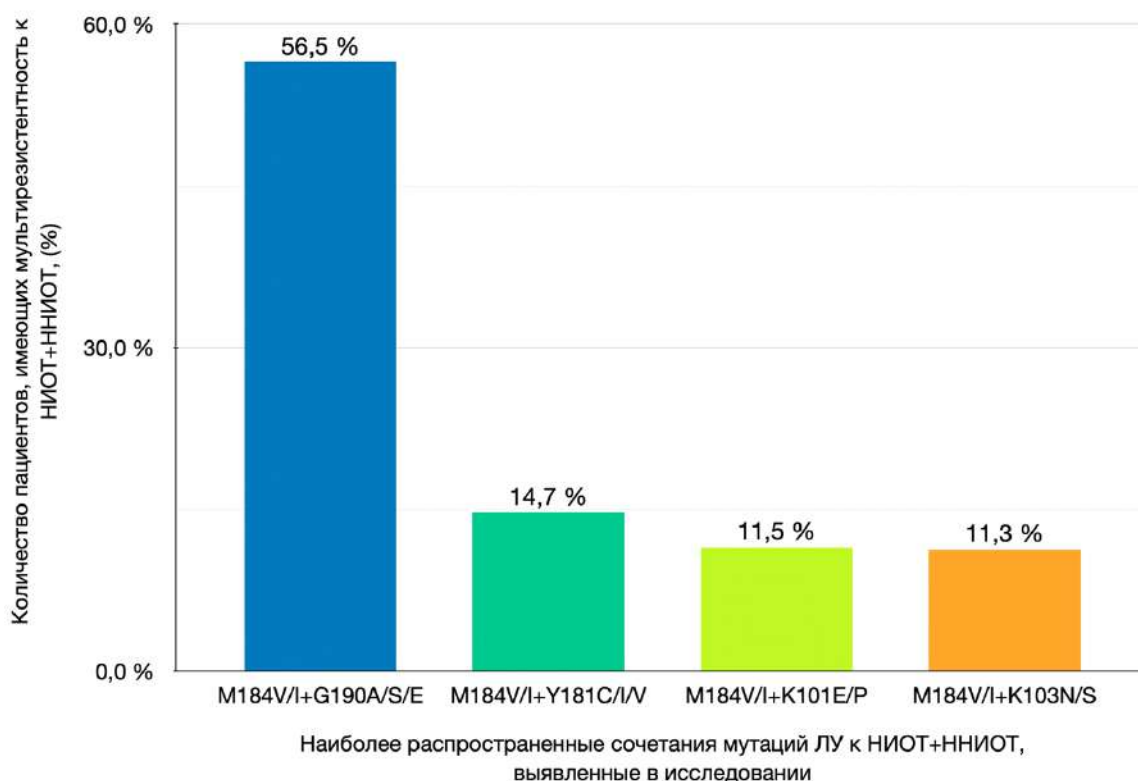


Рисунок 24 – Диаграмма частоты встречаемости мультирезистентности НИОТ+ННИОТ, учитывая наиболее распространенную мутацию ЛУ к НИОТ (M184V/I) в сочетании с мутациями ЛУ к препаратам класса ННИОТ

Анализ структуры мультирезистентности к НИОТ+ИП осуществляли, учитывая также мутацию к НИОТ M184V/I и самые распространенные мутации ЛУ к ИП, встречающиеся в данной работе: M46I/L, V82A, N88S, I50L. Расчет велся на 38 пациентов, у которых данная множественная ЛУ была выявлена. Было обнаружено, что для распространенной замены M184V/I наблюдалось разнообразие сопряженных с ней мутаций к ИП. Так, в большинстве случаев M184V/I встречалась в паре с мутацией M46I/L (52,6%), вызывая устойчивость к ЗТС, FTC, ATV и LPV; с V82A (15,8%), вызывая устойчивость к ЗТС, FTC, ATV и LPV; с N88S (13,2%), вызывая устойчивость к ЗТС, FTC и ATV; и с I50L (5,3%), вызывая устойчивость к ЗТС, FTC и ATV, причем мутация I50L не была сопряжена ни с одной другой мутацией к НИОТ, кроме M184V/I (Рисунок 25).

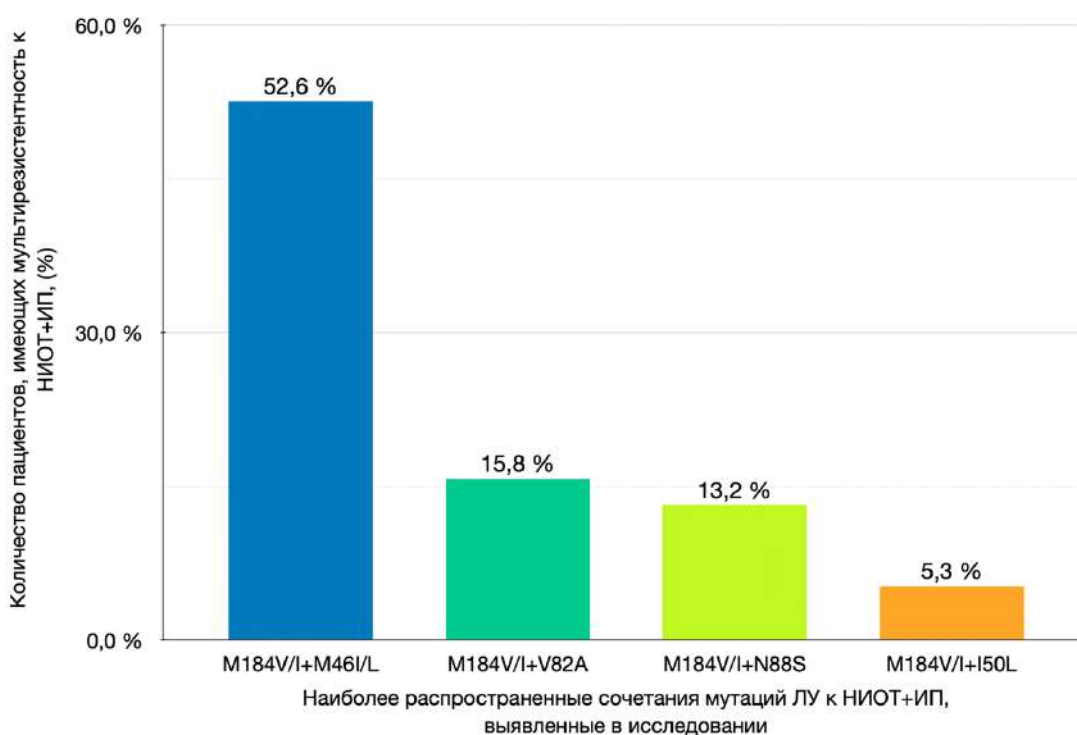


Рисунок 25 - Диаграмма частоты встречаемости мультирезистентности НИОТ+ИП, учитывая наиболее распространенную мутацию ЛУ к НИОТ (M184V/I) и мутации ЛУ к препаратам класса ИП

При анализе структуры мультирезистентности только к ННИОТ+ИП было выявлено только одно сочетание множественной ЛУ – G190S/K101E+L23I. Причем

мутация L23I, как уже говорилось ранее является достаточно редкой надзорной мутацией.

При исследовании мультирезистентности ко всем трем АРВ-препаратам, а именно НИОТ+ИП+ННИОТ выявились следующие сочетания (Таблица 17). Наиболее распространенным сочетанием оказалось M184V+M46I+K103N (31,2%), данные мутации вызывают устойчивость к ННИОТ - EFV, NVP, НИОТ – ABC, 3ТС, FTC и ddI и ИП – ATV и LPV. Остальные сочетания встречались реже.

Таблица 17 - Частота наиболее встречающихся сочетаний мутаций НИОТ+ИП+ННИОТ

ИП	НИОТ	ННИОТ
I50L	L74V, V75M, F77L, M184V, T215F	Y188L
G48V, L90M	D67N, K70R, K219E	Y181C, P225H
I50L	L210W, T215Y	K103N
G73F	M184V	K101E, G190S
M46I	L74V, Y115F, M184V	G190S
M46I	M184I/V	K103N
M46I	L74V, M41L	Y181C, G190S
M46I, I54V, L76V, V82A	L74I, L210W, T215Y, K219Q	K103N, Y181C, P225H
G48V, I54V, L90M	D67N, K70R, M184V, T215I, K219E	K101E
I50L	M184V	K103N, P225H
M46I	M184V	K103N
M46I	M184V	K103N
M46I	M184V, K219E	K103N, Y181I
N88S	M184V	G190A
M46I, I54V, L76V, V82F	T215NSY	K103N
M46I	D67N, K70R, K219Q	K103N

3.2.5 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам

3.2.5.1 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к препаратам класса ингибиторов протеазы

При анализе чувствительности вируса к АРВ-препаратам расчет вели от выборки пациентов, для которых вирусологический неуспех не связан с полным отсутствием приверженности (N = 1109). Существует 5 уровней, которые

позволяют оценить чувствительность ВИЧ-1 к препаратам АРТ и выражаются в сумме баллов. Если сумма баллов представлена 0-9, то тогда вирус считается чувствительным, если 10-14, то чувствительность считается потенциально низкой, если 15-29, то уровень чувствительности определяется как низкий, если 30-59, то уровень чувствительности средний и, наконец, если 60–100, то высокий [3]. Чувствительность вируса к АРВ-препаратам показана на Рисунке 26.

Как следует из полученных данных, наиболее высокий уровень резистентности к ИП был отмечен к NFV (14/1109; 1,3%) прежде всего за счет распространенных в данном исследовании мутаций L90M, D30N, I84V/A/C, которые по шкале резистентности к NFV достигают 60 баллов. Наиболее устойчивыми препаратами к развитию ЛУ оказались DRV и TPV (0,8% для обоих препаратов), и LPV (1,5% - низкий уровень, 1,7% - средний уровень), к которому высокий уровень устойчивости не был обнаружен.

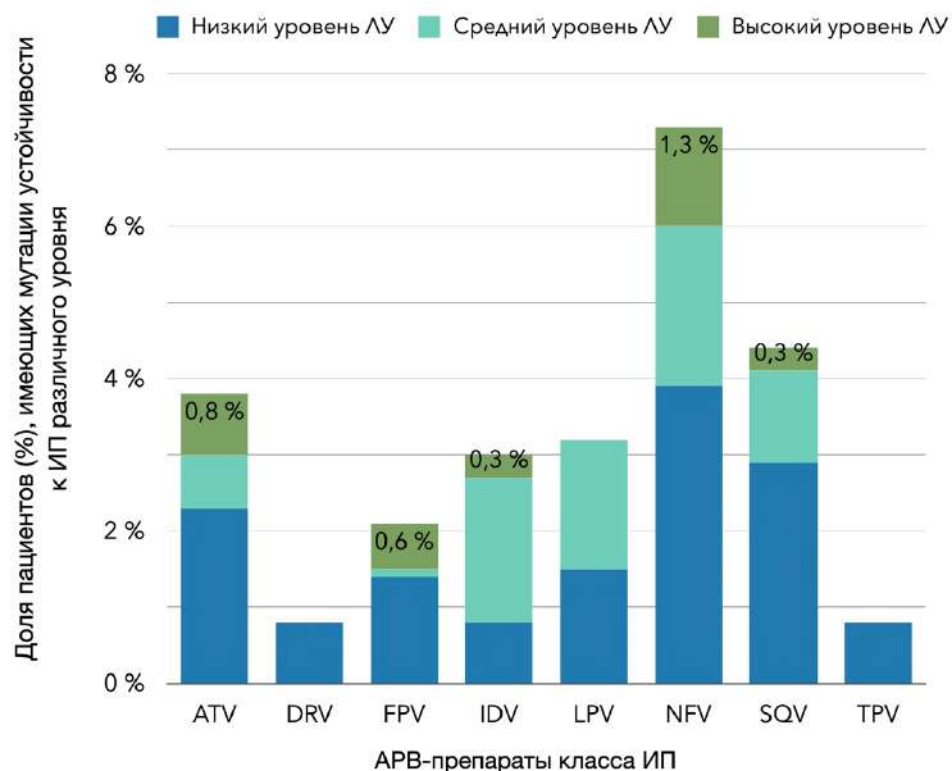


Рисунок 26 – Диаграмма чувствительности вируса к препаратам класса ИП у пациентов с вирусологическим неуспехом терапии

3.2.5.2 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы

Среди НИОТ лидерами по высокому уровню резистентности оказались такие препараты, как ЗТС (604/1109; 54,5%), принимаемый практически всеми пациентами данного исследования, и FTC (604/1109; 54,5%), который имеет схожий с ЗТС профиль резистентности. К данным препаратам выявлялся высокий уровень ЛУ за счет самой распространенной мутации к НИОТ - M184V/I. Наличие данной мутации у вируса свидетельствует о высоком уровне резистентности (60 баллов) к ЗТС и FTC, но к AZT, Ph-AZT, d4T и TDF данная мутация повышает чувствительность. Более того, мутации M184V/I способны замедлять появление других мутаций резистентности к этим препаратам, поэтому при обнаружении таких замен в геноме ВИЧ целесообразно не менять схему АРТ, включающую ЗТС и FTC [41]. Кроме того, более чем у 70% таких пациентов отмечена чувствительность вируса к таким НИОТ, как TDF (1239/1109; 88,3%), d4T (1134/1109; 78,8%), ddI (1165/1109; 81,6%) (Рисунок 27).

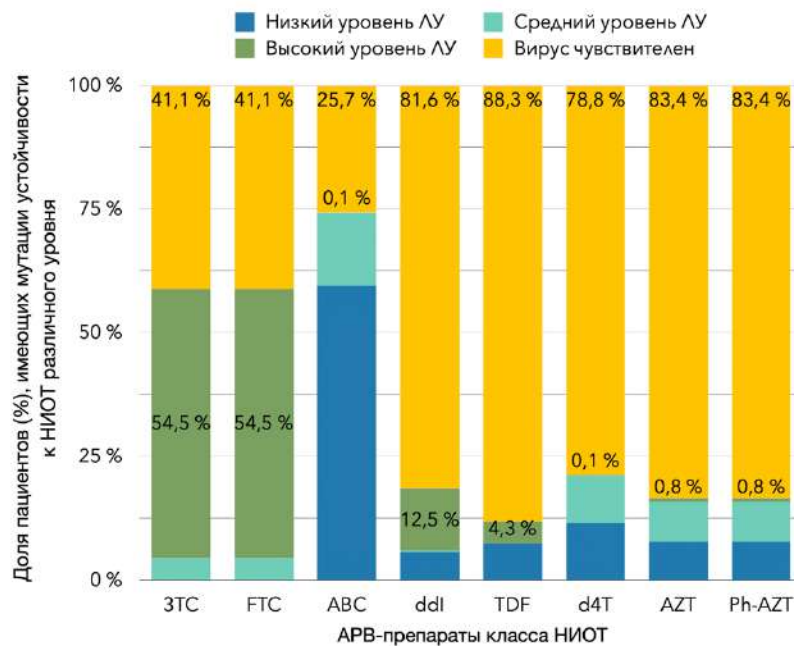


Рисунок 27 – Диаграмма чувствительности вируса к препаратам класса НИОТ у пациентов с вирусологическим неуспехом терапии

3.2.5.3 Анализ уровня лекарственной вируса к препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы

Среди препаратов класса ННИОТ высокий уровень резистентности наблюдался к EFV (487/1109; 43,9%) и NVP (633/1109; 57,1%), которые наиболее часто принимались пациентами данного исследования. К данным препаратам выявлялся высокий уровень ЛУ за счет самых распространенных мутаций к ННИОТ - G190A/S и K103N. Данные мутации вызывают высокий уровень устойчивости (50 баллов) к EFV и NVP, к остальным ННИОТ данные мутации не снижают чувствительность. Наиболее чувствительными вирусы оказались к препарату ETR (531/1109; 47,9%) и DOR (513/1109; 46,2%), который относительно недавно был введен к употреблению в России (Рисунок 28).

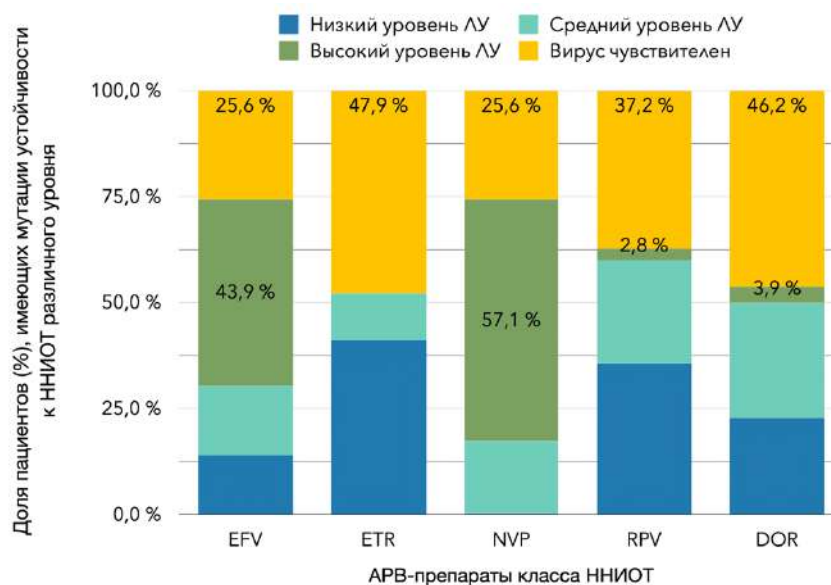


Рисунок 28 – Диаграмма чувствительности вируса к препаратам класса ННИОТ у пациентов с вирусологическим неуспехом терапии

3.2.6 Анализ факторов, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости

Для проведения многофакторного логистического регрессионного анализа мы использовали выборку из 1369 ВИЧ-инфицированных лиц с опытом приема

АРТ и подтвержденной вирусологической неэффективностью, для которых имелась информация по всем рассматриваемым независимым переменным: возрасту (в годах), гендеру (мужчины/женщины), региону (Центральный, Приволжский, Уральский, Северо-западный, Южный, Сибирский, Дальневосточный), стадии ВИЧ-инфекции (1, 2, 3, 4, 5), пути передачи (гетеросексуальный, потребление инъекционных наркотиков, МСМ, нозокомиальный, профессиональное заражение, переливание крови, вертикальный), вирусной нагрузке (≤ 500 копий РНК/см³, 500-1000 копий РНК/см³, > 1000 копий РНК/см³, $\geq 50\,000$ копий РНК/см³), количеству CD4+ клеток (< 350 клеток/мм³, ≥ 350 клеток/мм³) и субтипу ВИЧ-1 (A6, B, C, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AB, CRF11_cpx, CRF63_02A1, D, G, URF).

Использовалась скорректированная логистическая модель, в которую были включены только те независимые переменные, которые были обнаружены в значительной степени в ходе одномерного анализа. Многопараметрический анализ выявил наличие связи пути передачи ВИЧ-инфекции и субтипа с предрасположенностью к развитию ЛУ (Таблица 18).

Таблица 18 – Многофакторный анализ отдельных характеристик популяции ВИЧ-инфицированных лиц с опытом приема терапии и вирусологической неэффективности в регионах Российской Федерации.

Факторы	Оценка	Стандартное отклонение	P значение (тест Вальда)	Отношение шансов [95%, CI]
Возраст (в годах)	0,011	0,014	0,445	1,011 [0,982-1,040]
Гендер (мужчина/женщина)	-0,241	0,293	0,409	0,785 [0,440-1,399]
Регион	0,174	0,118	0,141	1,191 [0,942-1,505]
Стадия ВИЧ	-0,455	0,277	0,101	0,634 [0,366-1,095]
Путь передачи	0,166	0,082	0,045	1,180 [1,003-1,390]
Вирусная нагрузка	0,516	0,269	0,054	1,676 [0,987-2,847]
CD4+ клетки	-0,136	0,307	0,658	0,872 [0,476-1,598]
Субтип	0,265	0,124	0,032	1,304 [1,021-1,666]

Так, отношение шансов (ОШ) связи между субтипом и наличием приобретенной ЛУ у ВИЧ-инфицированных пациентов оценивалось как 1,304 [1,021-1,666] ($p = 0,032$), а ОШ между путем передачи и развитием приобретенной ЛУ – как 1,180 [1,003-1,390] ($p = 0,045$). В связи с тем, что связь между путем передачи и развитием приобретенной ЛУ была минимальной, в дальнейшем мы не учитывали ее в ходе анализа. Однако, мы обнаружили, что вероятность встретить ЛУ варианты вируса, принадлежащим к различным уникальным рекомбинантам, была выше, чем у других субтипов. Так, среди вариантов вируса, относящихся к уникальным рекомбинантам (URF_A6/B, URF_B/A6, URF_B/CRF02, URF_CRF02/A6), в 73,3% (33/45) случаев при применении пациентами терапии выявлялась ЛУ. Среди остальных субтипов вирусов, в том числе относящихся к циркулирующим рекомбинантным формам (CRF), ЛУ выявлялась в 54% случаев ($p = 0,013$, χ^2 тест с поправкой Йейтса).

Доказательств связи других факторов с развитием ЛУ не было найдено.

3.2.7 Анализ корреляции между продолжительностью приема антиретровирусной терапии и возникновением лекарственной устойчивости

Для проведения анализа корреляции между продолжительностью приема АРТ и возникновением ЛУ использовался корреляционный тест Кендалл Тау. Продолжительность приема АРТ оценивалась в месяцах.

При изучении корреляции между возникновением ЛУ ВИЧ-1 и длительностью приема АРТ были выявлены статистически значимые различия ($p = 0,036$): наличие мутаций ЛУ у пациентов с более длительным приемом терапии встречалось чаще, чем у пациентов с меньшей продолжительностью АРТ. Однако сила взаимосвязи признаков (длительность приема терапии и наличие мутаций ЛУ) была не столь значительна, и сказать с уверенностью, что чем дольше пациент принимает терапию, тем больше вероятность возникновения ЛУ, не представляется возможным (Рисунок 29).

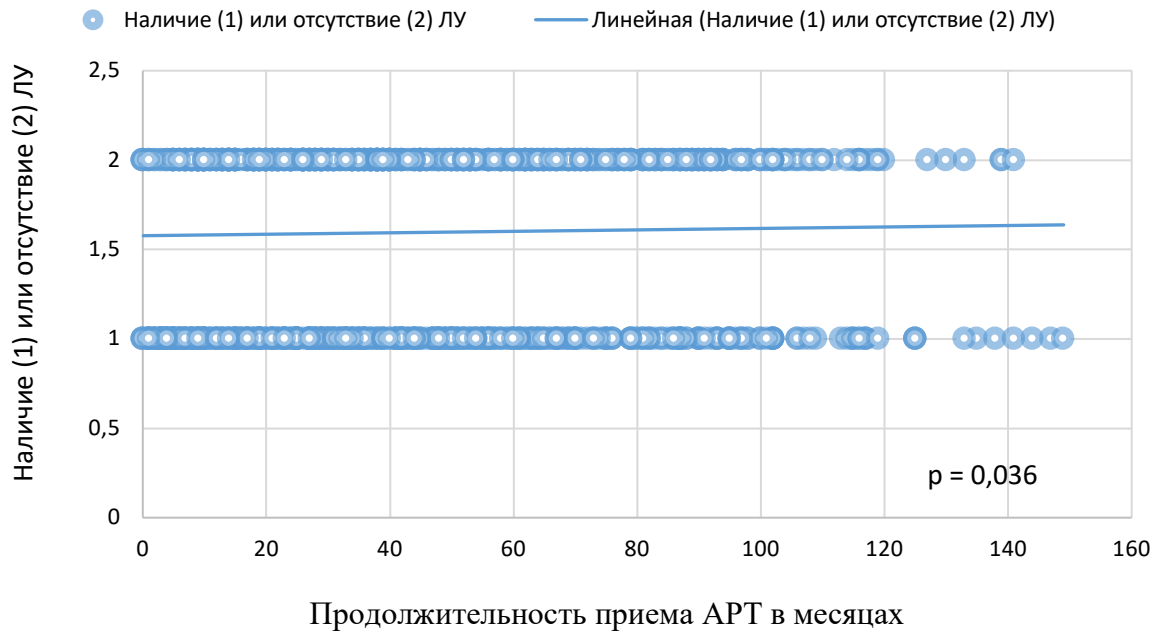


Рисунок 29 – Диаграмма корреляции между продолжительностью приема АРТ и возникновением ЛУ ВИЧ

3.3 Анализ лекарственной устойчивости среди пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии

3.3.1 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов

В анализ ЛУ среди пациентов без опыта приема АРТ включали пациентов, которые на момент исследования не получали терапию АРВ-препаратами. Данными о предшествующем опыте АРТ мы не располагали. В период от 2002 по 2020 гг. (даты взятия клинического образца на генотипирование) всего было включено 1654 пациента. Для оценки распространенности ЛУ к разным классам препаратов АРТ были проанализированы надзорные мутации ЛУ (SDRM) в соответствии со списком ВОЗ [29]. Надзорные мутации ЛУ у 1654 пациентов были представлены как единичными заменами в различных участках гена *pol*, так и несколькими мутациями, ведущими к возникновению ЛУ к двум или более классам препаратов.

На Рисунке 30 показано соотношение пациентов, имеющих мутации ЛУ к разным классам препаратов АРТ. Хотя бы одна мутация ЛУ к АРВ-препаратам была обнаружена у 130 пациентов (7,9%). Мутации к НИОТ в единичном варианте встретились у 1,5% пациентов (25/1654), мутации к ННИОТ встретились у 2,6% пациентов (43/1654), к ИП у 1,1% (18/1654). При анализе схем терапии было обнаружено, что чаще всего в исследуемой когорте пациентов выявлялись мутации к схемам, состоящим из НИОТ + ННИОТ (2,1%, 34/1654). К схемам, состоящим из НИОТ + ИП ЛУ устойчивость выявлялась у 0,5% (9/1369) пациентов с ВИЧ, в то же время к схемам ННИОТ + ИП ЛУ обнаруживалась у 0,1% (1/1654). Наконец, мутации ЛУ не выявлялись к схемам терапии, в которую входили все классы препаратов НИОТ+ННИОТ+ИП.

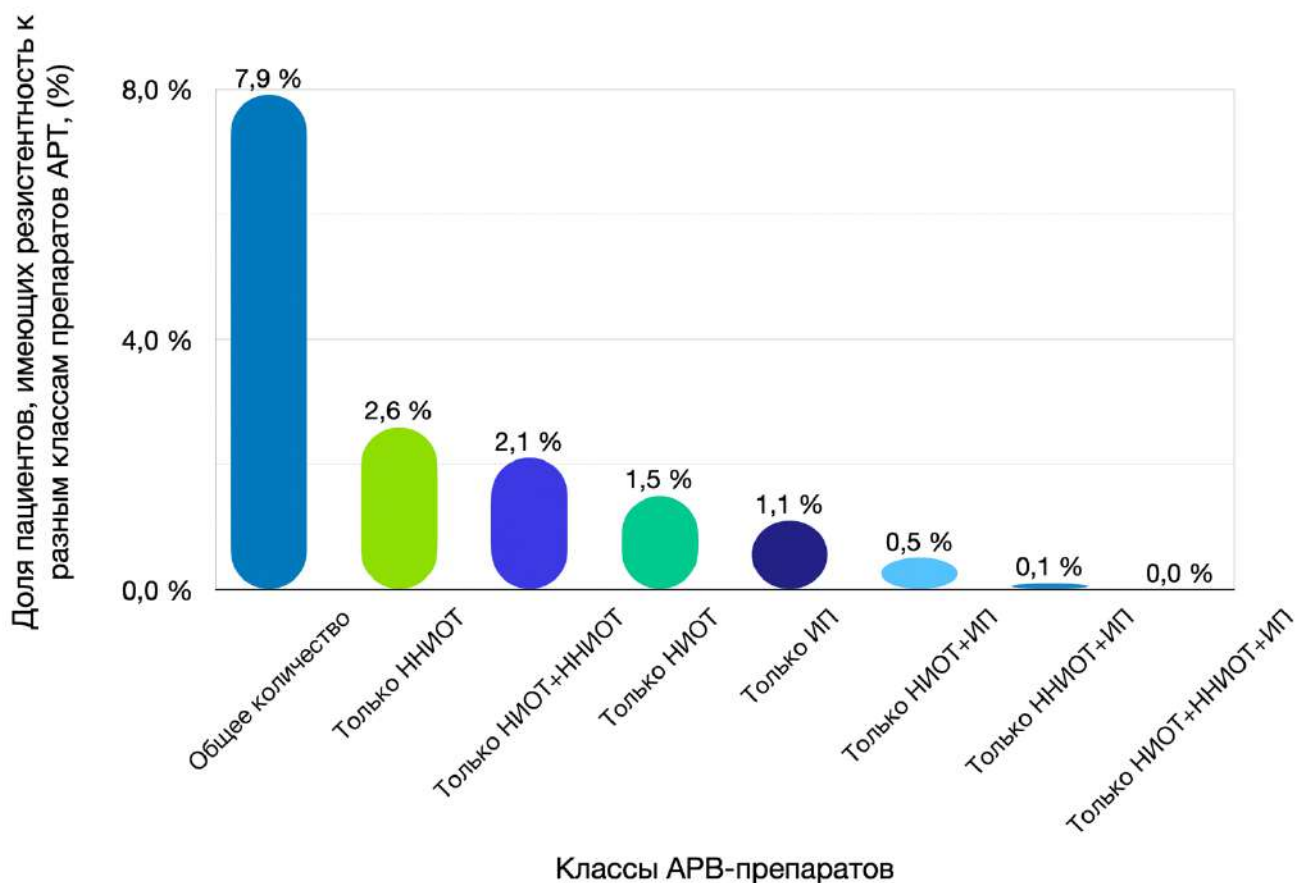


Рисунок 30 – Диаграмма частоты встречаемости ЛУ ВИЧ-1 к разным классам АРВ-препаратов у пациентов перед началом АРТ за весь период исследования (2002-2020 гг.)

3.3.1.1 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов по федеральным округам Российской Федерации

Далее было выяснено, как различается распространенность надзорных мутаций ЛУ к разным классам АРВ-препаратов между ФО Российской Федерации. Результаты представлены на Рисунке 31.

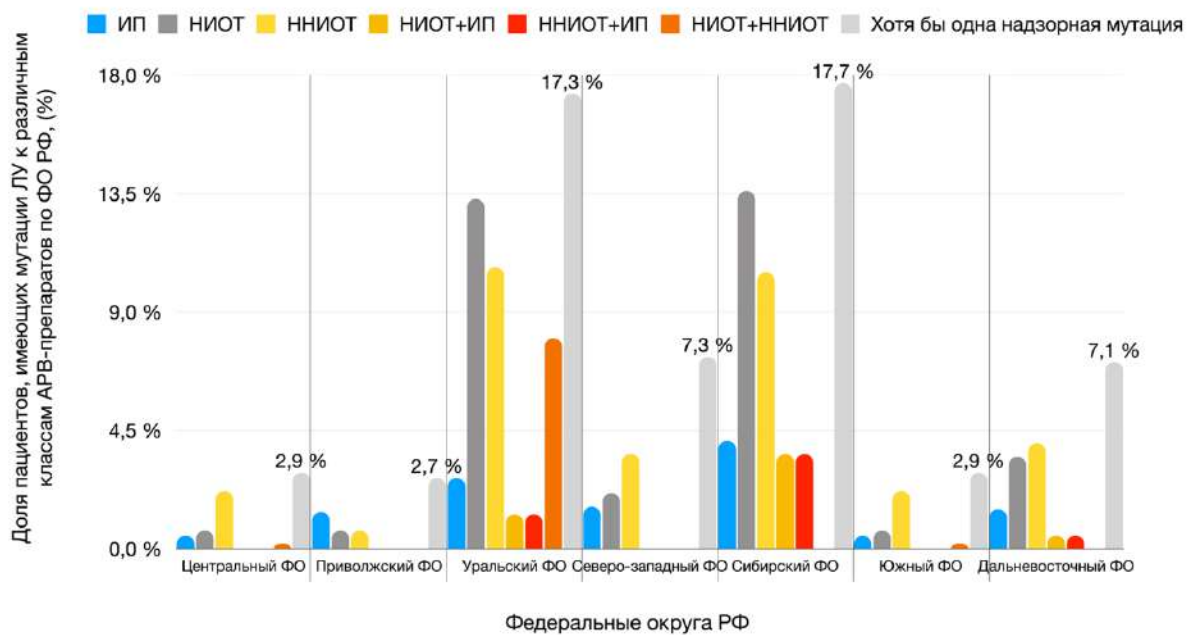


Рисунок 31 – Диаграмма частоты встречаемости ЛУ ВИЧ-1 к разным АРВ-препаратам у «наивных» пациентов по округам РФ за весь период исследования (2002-2020 гг.)

Наиболее распространенной ЛУ была в Уральском и Сибирском ФО. Так, хотя бы одна надзорная мутация к АРВ-препаратам была найдена в 17,3% случаев в Уральском округе и 17,7% - в Сибирском.

При анализе частоты встречаемости мутаций ЛУ к ИП было обнаружено, что наибольшая распространенность (4,1%) резистентности отмечалась в Сибирском ФО.

Максимальной была частота ЛУ к препаратам НИОТ: в Уральском ФО она составила 13,3%, а в Сибирском ФО - 13,6%, в то время как в остальных округах, а

именно в Центральном, Приволжском, Южном, Северо-Западном и Дальневосточном этот показатель варьировал от 0,7% до 3,5%, то есть был значительно ниже.

По распространенности ЛУ к ННИОТ, как и к НИОТ, наиболее пораженными округами также оказались Уральский и Сибирский, где было выявлено 10,7% и 10,5% вирусов с ЛУ, соответственно. Остальные регионы имели низкую распространенность мутаций резистентности к ННИОТ (0,7 - 4,0%). В тех же регионах наблюдался высокий уровень мультирезистентности к НИОТ+ННИОТ. Так, в Уральском округе этот показатель достигал 8,0%, а в Сибирском - 7,3%. В остальных округах мультирезистентность к НИОТ+ННИОТ была низкой: 1,3% в Южном ФО, 0,0% в Приволжском ФО, 0,0% в Северо-западном ФО, 0,2% в Центральном ФО, и наконец - 1,5% в Дальневосточном.

Сочетания мутаций к НИОТ+ИП также чаще всего выявляли в Уральском и Сибирском округах (2,7% и 3,6%, соответственно).

Резистентность к сочетаниям ННИОТ+ИП во всех федеральных округах была низкой и колебалась в пределах от 0,0% до 1,3%. Мутаций к ИП+НИОТ+ННИОТ не было найдено ни в одном из округов.

Высокий показатель устойчивости в Уральском и Сибирском округах был связан, прежде всего с такими городами, как Сургут (Уральский ФО) и Красноярск (Сибирский ФО). В соответствии с рекомендациями ВОЗ, при показателях распространенности устойчивости ВИЧ-1 более 10% у пациентов перед началом АРТ тест на резистентность должен проводиться обязательно.

При сравнении корреляции между исследуемыми округами были найдены статистически значимые различия ($p < 0,01$; χ^2 – тест).

3.3.1.2 Распространенность лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов в динамике

Эта часть работы дала ответ на вопрос, как менялось соотношение пациентов, имеющих мутации к индивидуальным классам препаратов АРТ с течением

времени. Для этого все пациенты, не имеющие опыт приема АРТ, были разделены на группы по годам забора клинического образца на генотипирование: 2002-2007, 2008-2012, 2013-2015, 2016-2018, 2019-2020. Группы были разделены таким образом из соображений того, чтобы в каждом конкретном периоде времени (группе) количество пациентов было равномерным. Для учета брали надзорные мутации, входящие в список ВОЗ. Анализ учитывал количество пациентов с мутациями ЛУ только к НИОТ, только к ННИОТ, только к ИП и т.д..

Анализ динамики показал, что за весь период исследования с 2002 года по 2020 год ЛУ не была стабильной и менялась в зависимости от годов исследования и классов препаратов. Диаграмма динамики ЛУ ВИЧ-1 по годам исследования (забора крови на генотипирование) у «наивных» пациентов представлена на Рисунке 32.

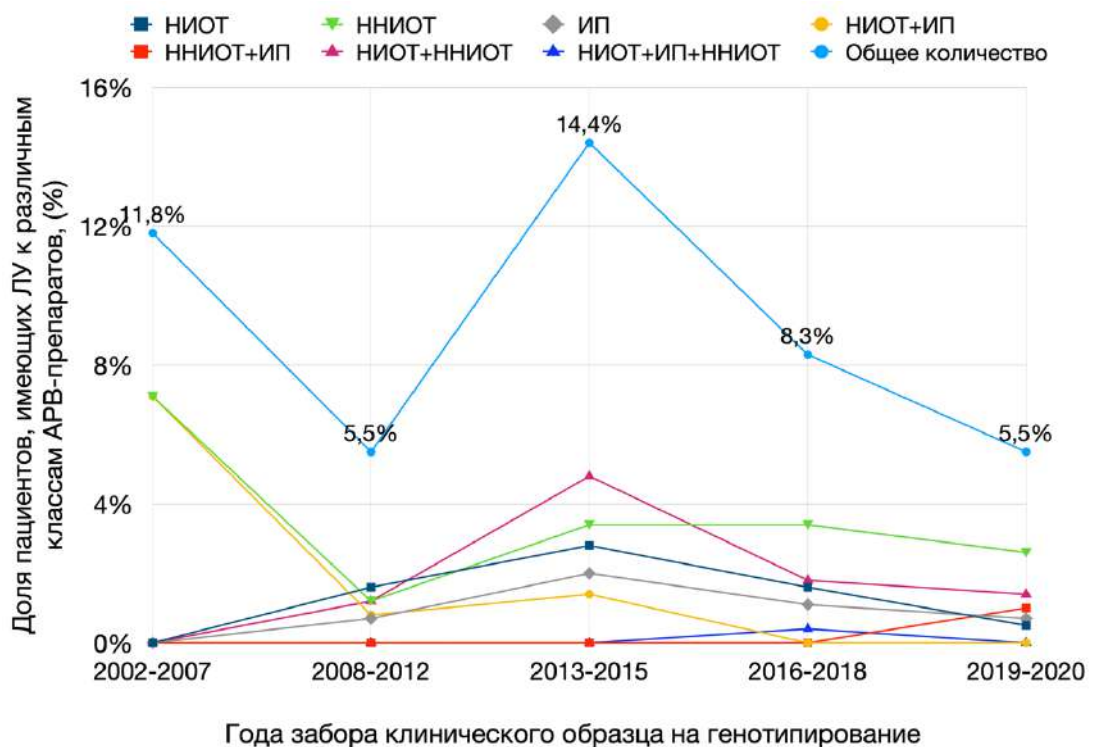


Рисунок 32 – Диаграмма динамики ЛУ ВИЧ-1 к разным классам АРВ-препаратов по периодам забора крови на генотипирование за весь период исследования (2002-2020 гг.)

Мы наблюдали, что в 2002-2007 гг. и в 2013-2015 гг. наблюдалось наибольшее количество пациентов с мутациями ЛУ (11,8% и 14,4% соответственно).

Согласно полученным результатам, в 2002-2007, когда в России активно стала применяться АРТ, наблюдались пики резистентности к ННИОТ (7,1%) и НИОТ+ИП (7,1%). В 2008-2012 гг. наиболее часто встречалась резистентность к НИОТ (1,6%), ННИОТ (1,2%) и НИОТ+ННИОТ (1,2%). В 2013-2015 гг. максимальной частота встречаемости ЛУ была для классов препаратов НИОТ+ННИОТ (4,8%), ННИОТ (3,4%) и НИОТ (2,8%). В 2016-2018 гг. и в 2019-2020 гг. наиболее распространенной была устойчивость только к ННИОТ (3,4% и 2,6% соответственно).

3.3.2 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к разным классам антиретровирусных препаратов

Для оценки распространенности мутаций ЛУ к АРТ препаратам были оценены надзорные мутации, входящие в список ВОЗ. Частоту встречаемости рассчитывали от количества человек, которые никогда не принимали АРТ в период с 2002 по 2020 гг. (N=1654).

3.3.2.1 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы

В целом мутации к ИП среди наивных пациентов встречались довольно редко - за весь период исследования (2002 – 2020 гг.) было обнаружено 40 мутаций ЛУ к ИП (единичные или в комбинации друг с другом или с мутациями ЛУ к другим классам препаратов АРТ) у 27 пациентов. Наиболее часто встречающейся (14/1654, 0,8%) была мутация в позиции 46 протеазы, при этом аминокислота метионин (M)

менялась на I и L с разной частотой (M46I – 92,9%, M46L – 7,1%). Мутации M46I/L вызывают низкий уровень ЛУ к NFV, ATV, FPV и LPV.

Некоторые мутации, а именно D30N, I50V/L, F53L/Y, V82A/T/F/S/C/M/L, I85V встречались с частотой 0,2%. Мутации L23I, L24I, G73S/T/C/A, I84V/A/C, N88D/S встречались с частотой 0,1% (Рисунок 33).

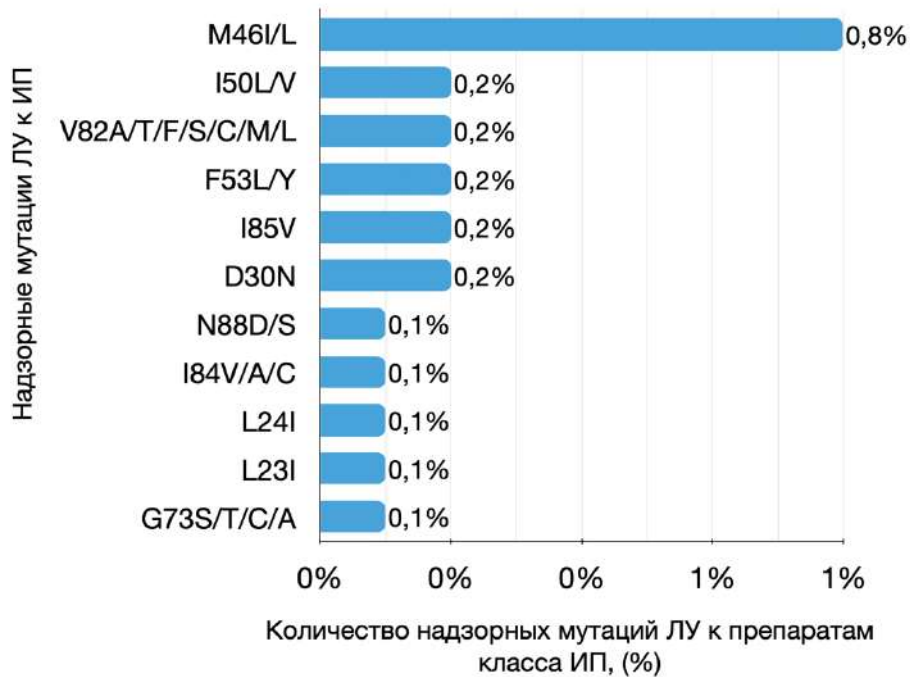


Рисунок 33 – Диаграмма частоты встречаемости надзорных мутаций ЛУ к ИП (%) среди пациентов без опыта приема АРТ за весь период исследования (2002-2020 гг.)

3.3.2.2 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

Также проанализирована частота встречаемости надзорных мутаций ЛУ к не-тимидин-аналоговым НИОТ (nonTAMs), тимидин-аналоговым НИОТ (TAMs), а также полиморфной мутации A62V в группе «наивных» пациентов (N=1654) за весь период исследования (2002-2020 гг.). Полиморфная для суб-субтипа A6 мутация A62V встречалась у 36,0% (594/1654) пациентов. Наиболее часто

встречающейся основной мутацией (3,2%, 53/1654) была M184V/I, при этом преобладала мутация M184V (51/53). Помимо замены метионина в позиции 184 гена обратной транскриптазы на валин (M184V), отмечались также замены в этой позиции на изолейцин (I). За все годы такие замены метионина на изолейцин встретились у 2 пациентов (2/53).

Далее за мутацией M184V/I следовала замена D67N/G/E (0,6%, 10/1654), ответственная за возникновение ЛУ к d4T, при этом D67N встретилась у 6 пациентов (6/10), а в сочетании D67G и D67E встретилась у 3 и 1 пациентов, соответственно. На четвертом месте - тимидин-аналоговая мутация T215Y/F/I/S/C/D/V/E (0,5%, 9/1654). Остальные мутации встречались реже и примерно с одинаковой частотой (Рисунок 34).

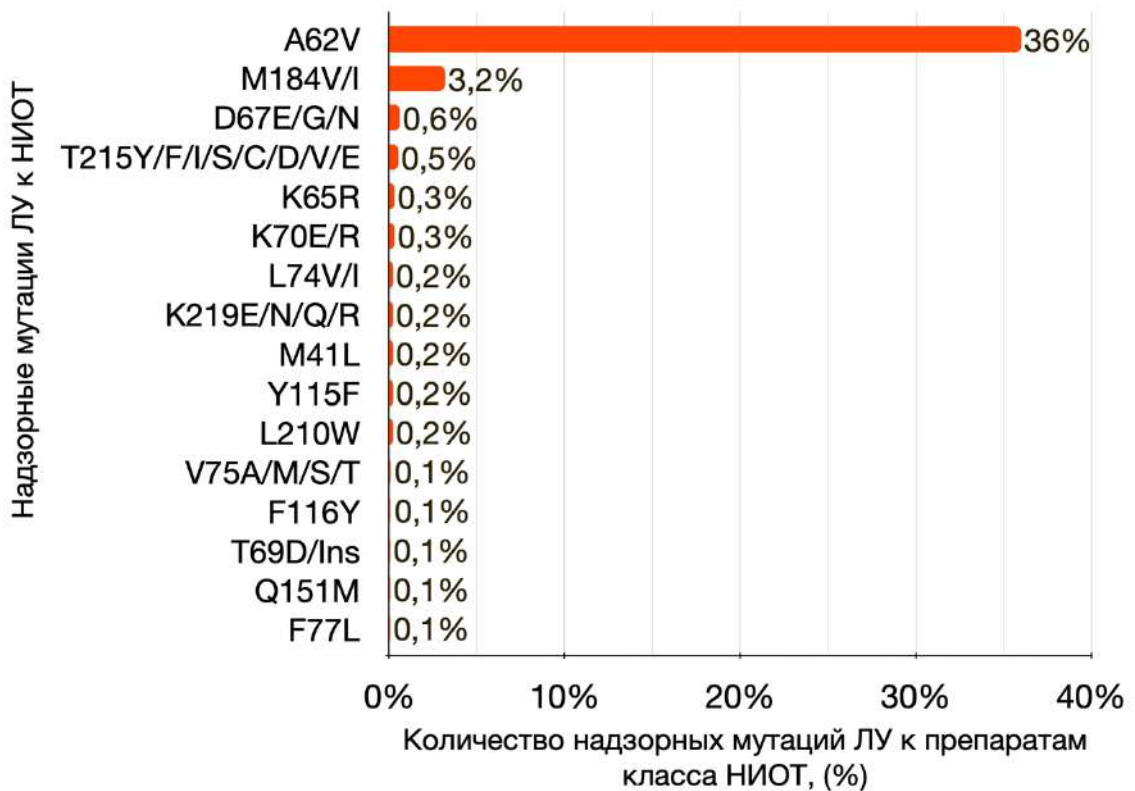


Рисунок 34 – Диаграмма частоты встречаемости надзорных мутаций ЛУ к НИОТ (%) среди пациентов без опыта приема АРТ за весь период исследования (2002-2020 гг.)

3.3.2.3 Частота встречаемости индивидуальных надзорных мутаций лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы

Надзорные мутации ЛУ к ННИОТ (единичные или в комбинации друг с другом или с мутациями ЛУ к другим классам АРТ) за все годы исследования (2002-2020) у наивных пациентов встретились 192 раза (Рисунок 35).

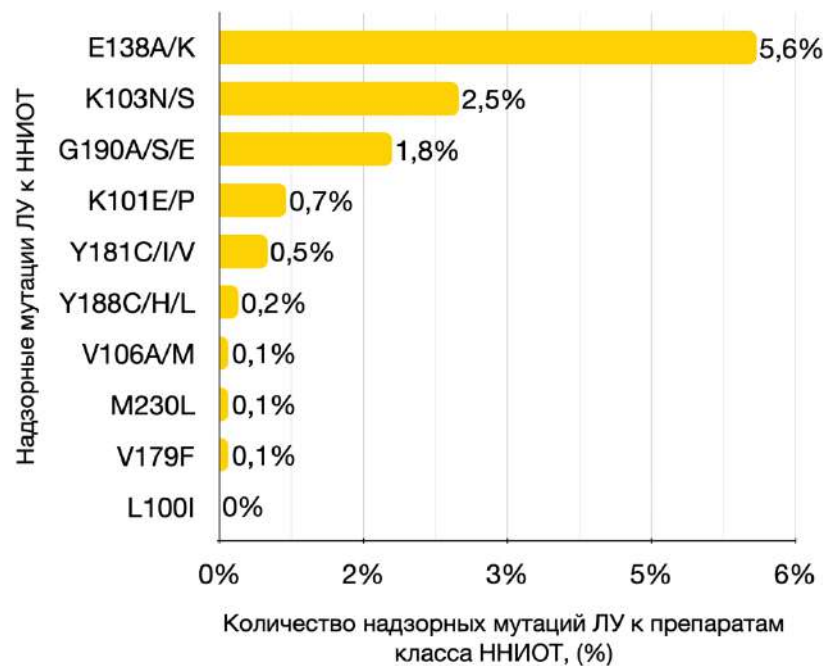


Рисунок 35 – Диаграмма частоты встречаемости мутаций ЛУ к ННИОТ (%) за весь период исследования (2002-2020 гг.)

Наиболее часто встречающейся (92/1654; 5,6%) была мутация в позиции 138 обратной транскриптазы, в которой глутаминовая кислота (E) менялась на аминокислоты аланин (A) и лизин (K) с различной частотой, вызывая низкий и средний уровни устойчивости к RPV. В нашем исследовании частота аминокислотных замен в этой позиции выглядела следующим образом: E138A — 90 (97,8%), E138K — 2 (2,2%).

На втором месте – мутация K103N/S (41/1654; 2,5%), ответственная за возникновение ЛУ к EFV и NVP, причем в 38 случаях это была замена K103N. У 3

пациентов была определена мутация K103S – как в единичном варианте, так и совместно с другими мутациями ЛУ к ННИОТ.

На третьем месте – мутация – G190A/S/E (29/1654, 1,8%), связанная с устойчивостью ко всем ННИОТ. Аминокислотные замены в 190 позиции встречались чаще всего в сочетании, где глицин (G) менялся на серин (S; 29/30) и гораздо реже, где глицин менялся на аланин (A; 1/29).

Остальные мутации встречались с низкой частотой (0,1 – 0,7%), при этом частота их встречаемости была несопоставимо ниже частоты встречаемости трех описанных выше мутаций (Рисунок 35).

3.3.3 Оценка мультирезистентности к разным классам антиретровирусных препаратов

Проанализирована множественная ЛУ (мультирезистентность) среди «наивных» пациентов к схемам, состоящим из разных классов АРВ-препаратов: НИОТ+ИП, ННИОТ+ИП, НИОТ+ИП+ННИОТ и НИОТ+ННИОТ.

Как было сказано выше, при неуспехе АРТ чаще всего выявлялась мультирезистентность к НИОТ+ННИОТ, заметно реже - к НИОТ+ИП, к ННИОТ+ИП - лишь у одного пациента, а к НИОТ+ИП+ННИОТ не выявлялась вовсе.

Далее представлялось оценить какие именно мутации и в каком соотношении играют роль в развитии множественной ЛУ. Так, при мультирезистентности НИОТ+ННИОТ всегда встречалась в различных сочетаниях замена M184V/I. Наиболее часто выявлялось сочетание мутаций M184V/I+G190A/S (61,8%), вызывающее устойчивость разного уровня ко всем ННИОТ и АВС, ddI, 3ТС и FТС. Далее наиболее часто встречаемым сочетанием НИОТ+ННИОТ было M184V/I+K101E (26,5%), вызывающее высокую устойчивость к 3ТС и FТС, низкую устойчивость к АВС, ddI и низкую или среднюю устойчивость ко всем ННИОТ. Сочетание M184V/I+K103N встречалось в данном исследовании в 17,6% случаев, что влияло на устойчивость высокого уровня к EFV и NVP и снижение

чувствительности к ЗТС, FTC и ABC. Наглядно соотношение мутаций можно увидеть на Рисунке 36.

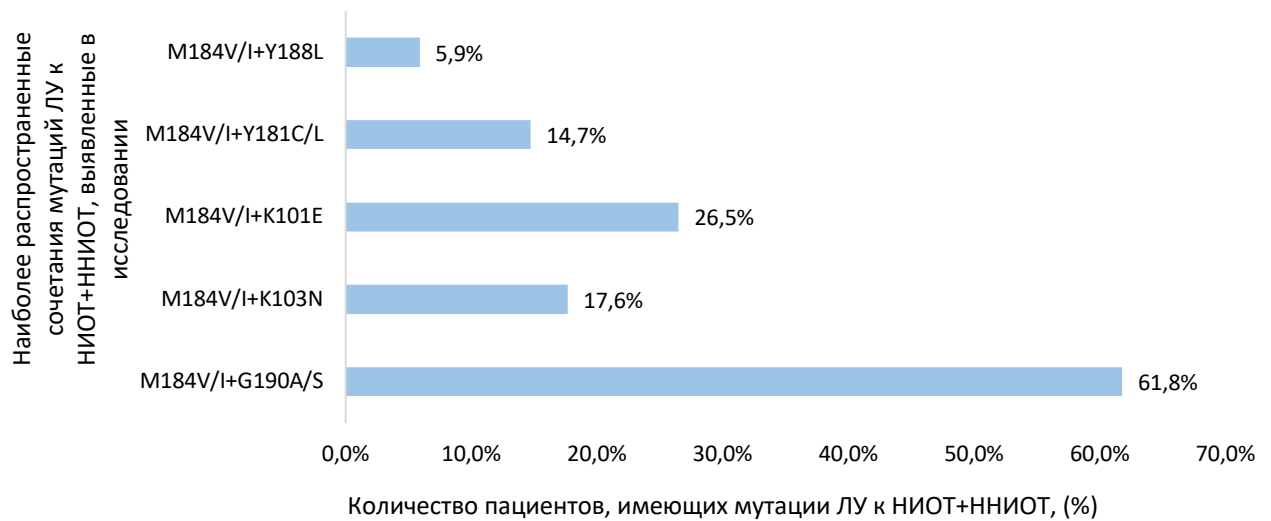


Рисунок 36 – Диаграмма соотношения мутаций ЛУ ВИЧ-1 при резистентности к НИОТ+ННИОТ (%) за весь период исследования (2002-2020 гг.)

При исследовании мультирезистентности к НИОТ+ИП было обнаружено, что, как при мультирезистентности к НИОТ+ННИОТ во всех сочетаниях всегда участвовала мутация M184V (Рисунок 37).

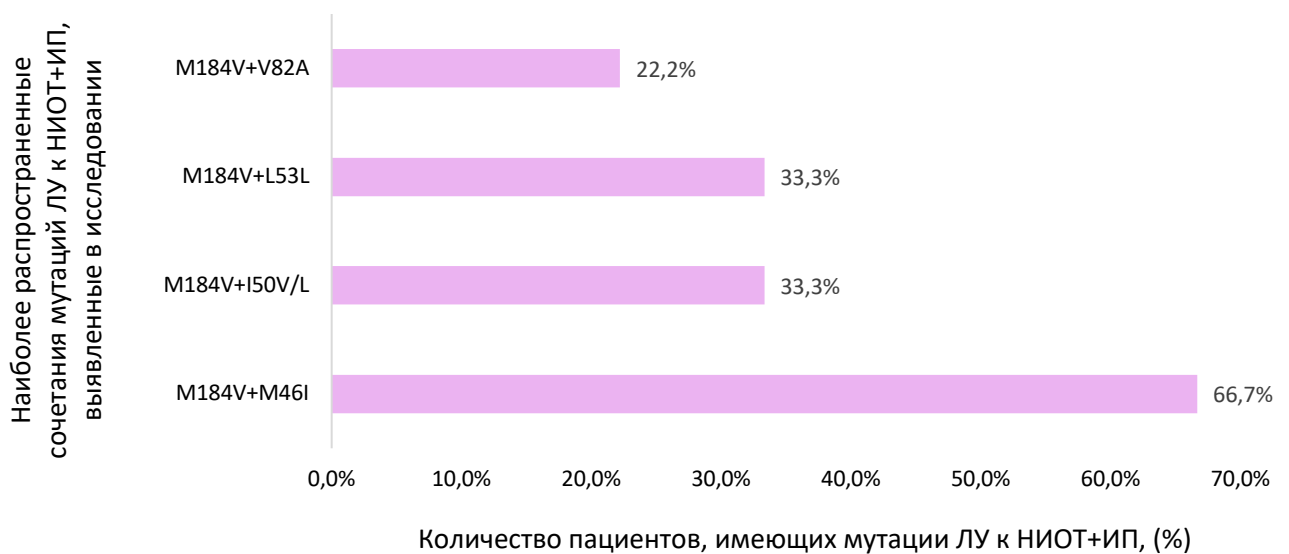


Рисунок 37 – Диаграмма соотношения мутаций ЛУ ВИЧ-1 при резистентности к НИОТ+ИП (%) за весь период исследования (2002-2020 гг.)

Наиболее часто она была сопряжена с мутацией ЛУ к ИП М46I (66,7%), вызывая устойчивость к АВС, ЗТС, FTC, ddI, NFV, ATV, APV и LPV. Далее по частоте встречаемости ЛУ к НИОТ+ИП было обнаружено сочетание М184V+I50V/L (33,3%), а также М184V+L53L (33,3%). В случае сочетания М184V+I50V/L снижение чувствительности наблюдалось к таким препаратам, как АВС, ЗТС, FTC, ddI и ко всем ИП кроме TPV. В случае с сочетанием М184V+L53L устойчивость возникала к АВС, ЗТС, FTC, ddI и SQV. Наконец, сочетание М184V+V82А встречалось в данном исследовании в 22,2% случаев, что влияло на снижение чувствительности вируса к LPV и в меньшей степени к ATV.

3.3.4 Анализ лекарственной устойчивости к индивидуальным антиретровирусным препаратам

ЛУ вируса к различным ИП, НИОТ и ННИОТ оценивали в выборке пациентов, не принимавших АРТ на момент исследования (N = 1654). На Рисунке 38 представлена диаграмма, показывающая частоту встречаемости ЛУ у «наивных» пациентов к каждому конкретному препарату.

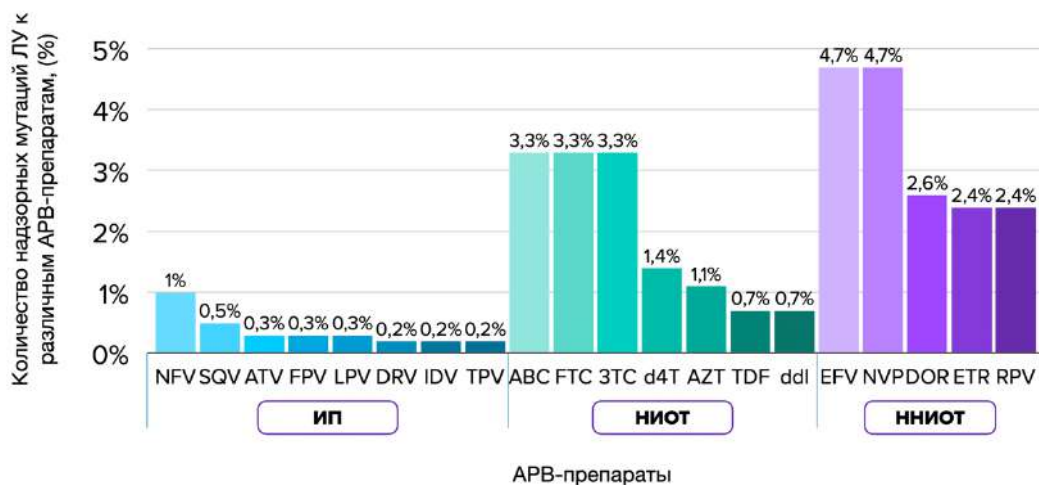


Рисунок 38 – Диаграмма частоты встречаемости ЛУ ВИЧ-1 к определенным АРВ-препаратам у «наивных» пациентов за весь период исследования (2002-2020 гг.)

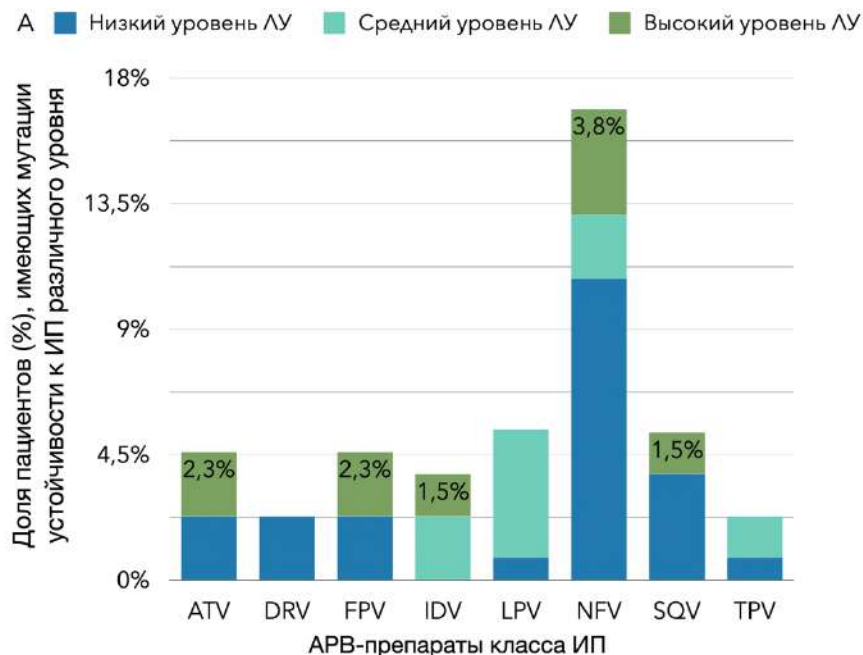
Как следует из Рисунка 38, как в случае с пациентами, имеющих опыт приема АРВ-препаратов, так и у большего числа «наивных» пациентов ЛУ к ИП обнаруживалась гораздо реже, чем к НИОТ и ННИОТ. ЛУ к SQV и NFV обнаруживалась чаще, чем к другим ИП: 0,5% для SQV и 1,0% для NFV.

Немного иначе выглядел профиль ЛУ к НИОТ и ННИОТ, но в целом вероятность ЛУ к АРВ-препаратам у «наивных» пациентов оставалась невысокой. В частности, ЛУ к НИОТ чаще всего выявлялась к АВС (55/1654; 3,3%), ЗТС (54/1654; 3,3%) и FTC (54/1654; 3,3%). Среди ННИОТ ЛУ выявлялась чаще всего к EFV и NVP (78/1654; 4,7%) для обоих препаратов.

3.3.5 Анализ уровня лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам

Для анализа прогностического уровня ЛУ к АРВ-препаратам использовали базу данных Стэнфордского университета HIVdb (v. 8.5) [127], как указано в разделе 3.2.5.1. При анализе чувствительности вируса к АРВ-препаратам расчет вели от выборки пациентов, имеющих надзорные мутации ЛУ (N = 130).

В целом, в большинстве случаев вирус оставался чувствительным к препаратам АРТ (Рисунок 39).



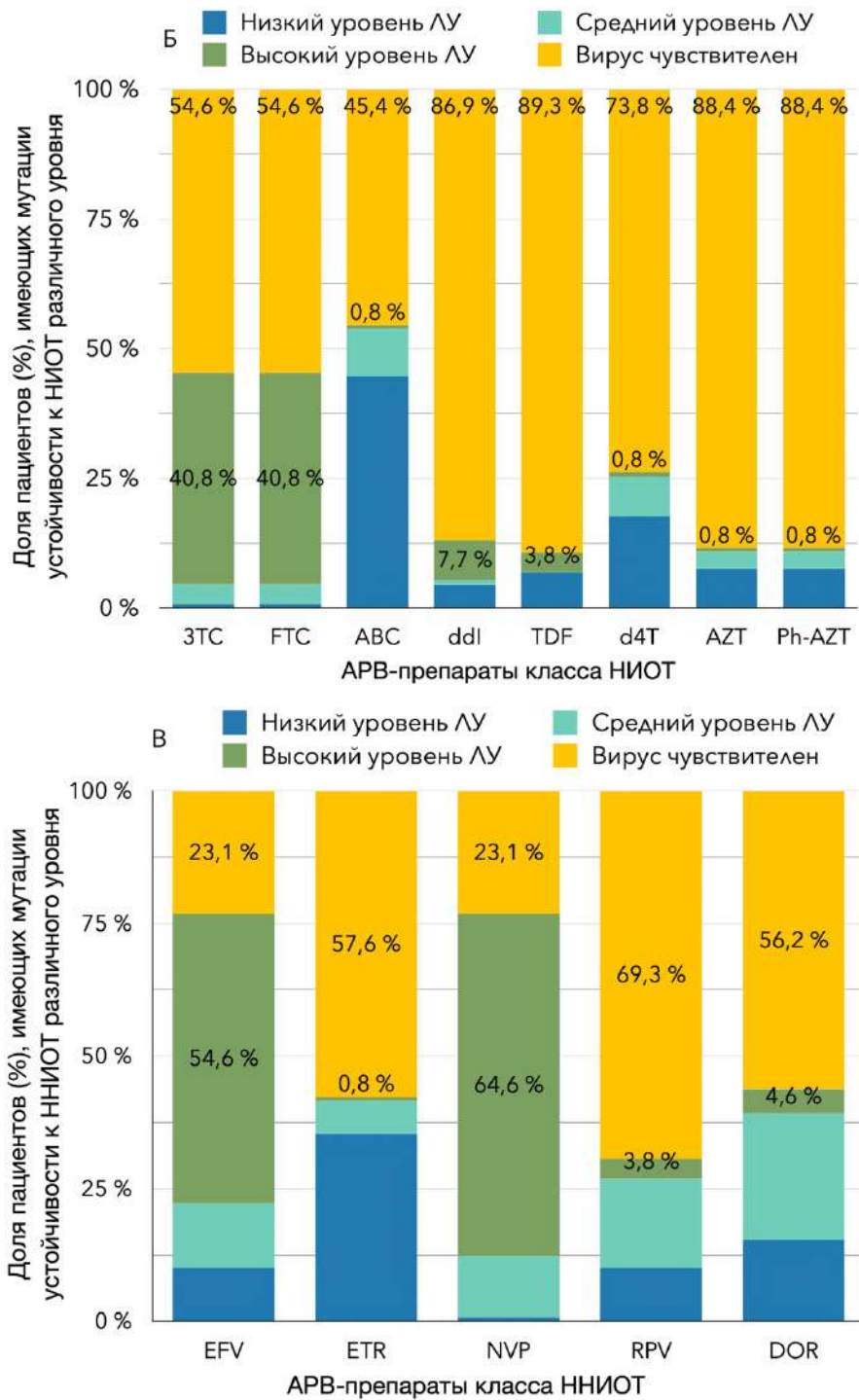


Рисунок 39 – Диаграммы прогнозируемой ЛУ ВИЧ-1 к АРВ-препаратам среди «наивных» пациентов за весь период исследования (2002-2020 гг.). А – уровни ЛУ к ИП, Б – уровни ЛУ к НИОТ, В – уровни ЛУ к ННИОТ

Реже всего мутации, ассоциированные с ЛУ высокого уровня, обнаруживались к препаратам класса ИП, чаще всего - к препарату NFV (3,8%),

прежде всего за счет мутации M46I/L, которая часто встречалась в данной когорте пациентов по сравнению с другими мутациями.

Среди НИОТ высокий уровень резистентности наблюдался к таким препаратам, как ЗТС и FTC (40,8% для обоих препаратов) за счет часто встречающейся мутации M184V/I. Что касается ННИОТ, как и следовало ожидать, высокий уровень резистентности здесь наблюдался к препаратам EFV и NVP (54,6% и 64,6%, соответственно), в первую очередь из-за замен G190A/S и K103N/S.

3.3.6 Анализ факторов, ассоциированных с лекарственной устойчивостью

Для проведения логистического регрессионного многофакторного анализа мы использовали выборку из 1654 ВИЧ-инфицированных лиц без опыта приема АРТ, для которых имелась информация по всем рассматриваемым переменным: возрасту (в годах), гендеру (мужчины/женщины), региону (Центральный, Приволжский, Уральский, Северо-западный, Южный, Сибирский, Дальневосточный), стадии ВИЧ-инфекции (1, 2, 3, 4), пути передачи (гетеросексуальный, потребление инъекционных наркотиков, МСМ, нозокомиальный, профессиональное заражение, переливание крови, вертикальный), вирусной нагрузке (≤ 500 копий РНК/см³, 500-1000 копий РНК/см³, > 1000 копий РНК/см³, $\geq 50\ 000$ копий РНК/см³), количеству CD4+ клеток (< 350 клеток/мм³, ≥ 350 клеток/мм³) и субтипу ВИЧ-1 (A6, B, C, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AB, CRF11_cpx, CRF63_02A1, D, G, URF). Использовалась скорректированная логистическая модель, в которую были включены только те независимые переменные, которые были обнаружены в значительной степени в ходе одномерного анализа.

Многопараметрический анализ выявил связь между стадией ВИЧ-инфекции и предрасположенность к развитию ЛУ перед лечением (ОШ = 1,651, 95% ДИ = 1,122-2,429, $p = 0,01$) (Таблица 19). Так, у ВИЧ-инфицированных с 4 стадией инфекции ЛУ выявлялась чаще и составила 8,4%, с 3 стадией 4,6%, со 2 стадией

6,0% и с 1 стадией 2,7% ($p = 0,033$, χ^2 тест с поправкой Йейтса). Доказательств связи других факторов с развитием ЛУ перед лечением не было найдено.

Таблица 19 – Многофакторный анализ отдельных характеристик популяции ВИЧ-инфицированных лиц без опыта приема терапии в регионах Российской Федерации

Факторы	Оценка	Стандартное отклонение	P значение	Отношение шансов [95%, ДИ]
Возраст (в годах)	0,009	0,012	0,426	1,009 [0,985-1,035]
Гендер (мужчина/женщина)	0,253	0,256	0,322	1,288 [0,779-2,129]
Регион	0,083	0,056	0,137	1,086 [0,973-1,213]
Стадия ВИЧ-1	0,501	0,196	0,010	1,651 [1,122-2,429]
Путь передачи	-0,012	0,075	0,873	0,988 [0,851-1,146]
Вирусная нагрузка	0,051	0,192	0,786	1,053 [0,722-1,535]
CD4+ клетки	-0,192	0,257	0,455	0,824 [0,497-1,367]
Субтип	0,064	0,043	0,139	1,066 [0,979-1,161]

3.3.7 Анализ генетических сетей передачи

На основании данных о нуклеотидных последовательностях ВИЧ-1 были анализированы генетические сети передачи для преобладающих в данном исследовании субтипов ВИЧ-1 (A6, B, CRF63_02A6) с различными генетическими порогами (диапазон 1,5-2,5%).

Обнаружение надзорных мутаций ЛУ свидетельствовало о наличии прогностической ЛУ (Рисунок 40).

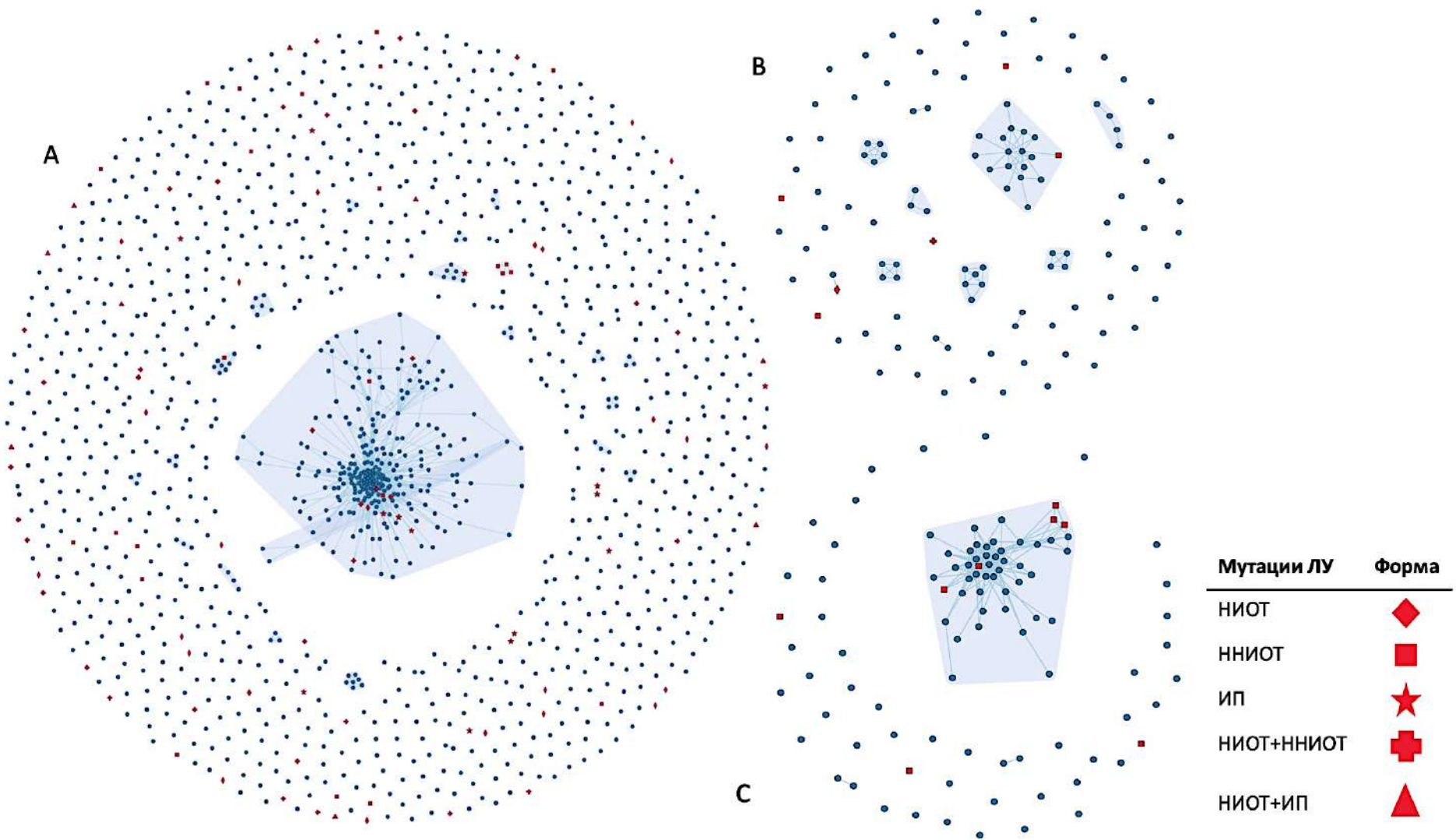


Рисунок 40 - Сети молекулярной передачи, связанные с ЛУ ВИЧ-1 перед лечением. Красные узлы представляют пациентов с ЛУ ВИЧ-1, а синие узлы представляют пациентов без ЛУ ВИЧ-1. А соответствует суб-субтипу А6, В – субтипу В, С – рекомбинанту CRF63_02A6

Обнаружено, что генетический порог 2,0% позволял получить большее количество кластеров молекулярной сети передачи высокого разрешения для суб-субтипа А6, для субтипа В этот показатель был 2,5%, в то время как для субтипа CRF63_02A6 пороговое генетическое расстояние с наибольшим количеством кластеров передачи приходилось на 1,5%.

При применении наиболее подходящего порогового генетического расстояния 2,0% для суб-субтипа А6 всего было использовано 1329 последовательностей гена *pol*, которые образовывали 72 кластера (от 2 до 264 человек) молекулярной сети передачи. Сто шесть (106/1329; 7,9%) последовательностей с ЛУ перед лечением были обнаружены в 7 кластерах (4 диады, 3 кластера из трех и более человек). Данные кластеры были представлены вирусами с ЛУ к НИОТ+ННИОТ (34/106; 32%), НИОТ (25/106; 23,6%), ННИОТ (24/106; 22,6%), ИП (14/106; 13,2%) и ИП+НИОТ (9/106; 8,5%). Следует отметить, что доля лиц с мутациями ЛУ, принадлежащих к кластеру, была ниже, чем у лиц без PDR ($p < 0,001$).

В кластере суб-субтипа А6 в самой крупной сети передачи (264 пациента) попало 12 пациентов с ЛУ к ННИОТ за счет мутаций G190S и K101E, к НИОТ – за счет мутаций M184V (80%), T215N (20%), L210W (20%) и K70R (20%), НИОТ+ННИОТ – за счет мутаций K103N+M184V, G190S+M184V, G190S+L210W, K101E+M184V, K101E, G190S+M184V, то есть чаще всего встречались такие варианты мутаций, как M184V (4/5; 80%) и G190S (3/5; 60%).

В кластере субтипа В было зарегистрировано 6 (6/117; 5,1%) пациентов с ЛУ ВИЧ-1 перед лечением, распределенных только в 2 кластерах; в первом кластере, состоящем из 18 человек, вариант вируса был устойчив к ННИОТ с мутацией K103N. Во втором кластере-диаде был пациент с устойчивостью также к ННИОТ.

Для кластера рекомбинанта CRF63_02A6 8 случаев ЛУ ВИЧ-1 с мутацией K103N были обнаружены только в одном кластере, где все пациенты проживают в одном округе (Барнаул и Красноярск).

3.3.8 Анализ индикаторов раннего предупреждения

Исследование ИРП проводилось с участием 62 субъектов РФ, входящих в 8 ФО. В 82 Центров СПИД были разосланы письма, включающие анкету, содержащую информацию об ИРП, а также объяснение, содержащее информацию о смысле и важности проводимой работы. Согласились участвовать в данном исследовании только 11 Центров СПИД, а именно: Нижний Новгород, Амурская область, Владивосток, Кировская область, Республика Крым, Московская область, Республика Мордовия, Хабаровск, Ямало-Ненецкий автономный округ, Республика Башкортостан и Республика Алтай. Всего поучаствовало в исследовании 6 Федеральных округов: Центральный, Дальневосточный, Приволжский, Южный, Уральский и Сибирский. Данные были собраны и обработаны в 2022 году.

После того, как были получены от 11 Центров СПИД заполненные анкеты, был проведен собственно анализ ИРП, результаты которого представлены далее.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ [2] анализу подлежат 8 индикаторов, из которых 4 (% пациентов, «потерянных» для наблюдения через 12 месяцев после начала лечения, % пациентов, на 100% своевременно являющихся для получения препаратов в течение 12 месяцев наблюдения, % пациентов, продолжающих наблюдаться через 12 месяцев после начала лечения, % пациентов, на 100% своевременно являющихся в клинику для обследования в течение 12 месяцев наблюдения) дают возможность ориентировочно оценить уровень приверженности пациентов, 3 других (% пациентов, получающих лечение в течение 12 месяцев в соответствии с национальным протоколом, % месяцев, в которых был хотя бы один день отсутствия препаратов на складе в течение 12 месяцев, % пациентов, имеющих результат определения ВН в течение 12 месяцев) дают возможность оценить правильность лечения и его назначения, (% пациентов, у которых наблюдается вирусная нагрузка <1000 копий РНК/мл через 12 месяцев после начала лечения) дает возможность оценить вероятность распространения резистентных вариантов ВИЧ-1 (Рисунок 41).



Рисунок 41 – Анализ 8 ИРП для 11 Центров СПИД. Красный цвет соответствует «красной карточке», желтый цвет – «желтой карточке», зеленый цвет – «зеленой карточке». Цифрами 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 указаны пункты, соответствующие каждому показателю ИРП

В целом, суммарно по всем показателям ИРП «красную карточку» получили 5 регионов (45,4%), при этом только два центра достигли рекомендуемого показателя.

Анализ первого ИРП, то есть получения всеми пациентами лечения при постановке на диспансерный учет показало, что с этой задачей успешно (100%) справляются 6 центров (54,5%) (Пункт 1 на Рисунок 41), все остальные показали результат <100%.

По второму пункту (Пункт 2 на Рисунок 41), который характеризует потерянных для наблюдения пациентов через 12 месяцев после назначения терапии, то есть приверженность пациента к лечению, всего 3 Центра СПИД получили «желтую карточку» (27,3%), остальные центры получили «зеленую карточку».

Анализ показателя своевременно являющихся для получения препаратов в течение 12 месяцев (Пункт 3 Рисунок 41) продемонстрировал «желтую карточку» у 36,4% Центров СПИД.

Еще один показатель приверженности к лечению пациентов (Пункт 4 Рисунок 41) показал, что в 3-х Центрах СПИД 80-90% пациентов являются за препаратами в течение 12 месяцев терапии («желтая карточка»).

О существовании перерывов в поставках антиретровирусных препаратов сообщил лишь 1 из 11 регионов (9,1%) (Пункт 5 Рисунок 41).

Показатель приверженности лечению, где хотя бы более 90% пациентов должны своевременно посещать клинику для обследования, показал средние результаты: 5 из 11 Центров СПИД сообщили, что наблюдаются у них примерно 80-90% пациентов (45,4%), и 1 (9,1%) СПИД-Центр сообщил о том, что клинику посещают <80% пациентов (Пункт 6 Рисунок 41).

Только 5-ти Центрам СПИД (45,4%) удалось подавить вирусную нагрузку у своих пациентов до значений менее 1000 копий РНК/мл (Пункт 7 на Рисунок 41).

Показатель имеющих результат определения вирусной нагрузки в течение 12 месяцев показал хорошие результаты, где все центры сообщили о более 70% (Пункт 8 на Рисунок 41).

Средняя оценка условной «приверженности», рассчитанная как среднее по 2, 3, 4 и 6 пунктам ИРП, составила 88,5%. Средняя доля пациентов с вирусной нагрузкой более 1000 копий РНК/мл составила 14,9%.

Проведенное исследование имеет несколько ограничений, связанных с тем, что количество Центров СПИД, согласившихся на исследование, оказалось чрезвычайно низким, а также мы не обладали динамическими данными, которые бы охватывали разные периоды времени. Тем не менее, это исследование все равно носит важный характер, поскольку даже небольшая выборка Центров СПИД, включенных в анализ, позволяет сделать некоторые выводы.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

До настоящего времени масштабных и систематических исследований, посвященных оценке ЛУ среди «наивных» и, имеющих опыт приема АРТ пациентов, в России не проводилось. Между тем задача максимального охвата ВИЧ-инфицированных пациентов лечением становится все более и более важной, поскольку очевидно, что эта мера является ведущей для решения задачи предотвращения роста эпидемии и со временем – ее искоренения. В то же время, повышение охвата лечением всех вновь инфицированных ВИЧ пациентов влечет за собой рост случаев возникновения ЛУ, анализ которой в этих условиях безусловно является первостепенным и крайне актуальным.

Основным объектом настоящей работы стала база данных, состоящая из нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1, полученных от ВИЧ-инфицированных лиц, проживающих на территории России, включая 7 ФО, которым перед началом АРТ или в ситуации вирусологического неуспеха в период с 2002 по 2020 гг. проводили анализ на определение ЛУ к АРТ.

Используемый в настоящей работе набор данных включал последовательности участка генома ВИЧ-1 (*pol*), включающего всю область протеазы и 2/3 обратной транскриптазы от 3023 пациентов (1369 пациентов с опытом приема АРТ и 1654 «наивных» пациентов).

Основные клинико-эпидемиологические характеристики лиц, включенных в исследование, отображают основные тенденции, характерные для эпидемиологического процесса в РФ в целом. Так, в когорте лиц с опытом приема АРТ, так же, как и в когорте пациентов без опыта приема, преобладали мужчины (58,7% и 52,3%, соответственно). Медиана возраста пациентов в обеих когортах составила больше 40 лет, что в условиях хронической гиперактивации иммунной системы на фоне длительной персистенции вируса в организме влечет за собой появление соматических заболеваний. Гетеросексуальный путь заражения преобладал также в обеих группах пациентов, что означает, что ВИЧ в процессе

развития эпидемии перешел из строго определенных групп риска в общую часть популяции.

В настоящем исследовании большая часть пациентов с вирусологической неэффективностью находились на 4-ой стадии ВИЧ-инфекции, для которой характерен выраженный иммунодефицит, проявляющийся многочисленными оппортунистическими заболеваниями, в то время как «наивные» пациенты находились с большим перевесом на 3-ей стадии инфекции. Данный факт может указывать на недостаточную эффективность программ АРТ, несвоевременное осведомление пациентами о своем ВИЧ-статусе и обращение для назначения терапии. В свою очередь, данные факторы препятствуют ограничению распространения ВИЧ-инфекции среди населения России.

За все время исследования 55,0% (753/1369) пациентов с вирусологической неэффективностью приобрели ЛУ, в то время как у остальных пациентов (616/1369; 45,0%) мутаций резистентности не наблюдалось, и причиной неэффективности АРТ, по-видимому, могла стать низкая приверженность пациентов к лечению, которая, в свою очередь, является основополагающим фактором для достижения вирусологического, иммунологического, и, соответственно, клинического успеха лечения. Рассмотрение факторов, которые были связаны с приверженностью пациентов к лечению не входило в задачи настоящей работы, поэтому данный факт просто отмечен по ходу обсуждения полученных результатов. В популяции «наивных» пациентов за все годы исследования ЛУ была выявлена у 7,9% пациентов (130/1654).

При анализе ЛУ среди пациентов, получающих АРТ и имеющих вирусологическую неэффективность на фоне приема терапии за все годы наблюдения резистентность была часто связана с множественной ЛУ к НИОТ и ННИОТ (31,7%). Данный факт был ожидаем, так как наиболее часто используемая в России схема терапии состояла из 2 НИОТ + ННИОТ. В свою очередь, некоторые препараты группы НИОТ, которые как раз в настоящем исследовании использовались чаще всего пациентами с неуспехом терапии, и препараты группы

ННИОТ обладают низким генетическим барьером и широкой перекрестной резистентностью, поэтому к ним часто возникает ЛУ.

Суммарно от общего числа лиц, получавших АРТ, за все годы исследования мутации ЛУ к препаратам группы НИОТ (единичные) возникали в 11,8% случаев, ЛУ к ННИОТ - в 6,4% случаев, а к ИП - в 1,1%.

Ретроспективный анализ ЛУ за 15 лет (2005 — 2019 гг.) не продемонстрировал рост выявления мутаций резистентности среди пациентов с опытом приема АРТ. Наибольшую распространенность устойчивости ко всем препаратам АРТ мы выявили в 2005-2007 гг. (62,5%) и 2014-2016 гг. (60,6%). Однако наблюдалась тенденция к преобладанию ЛУ к препаратам класса НИОТ+ННИОТ, а также отдельно к препаратам класса НИОТ и ННИОТ, при этом пик для НИОТ+ННИОТ приходился на 2014-2016 гг. (40,6%), а пик для НИОТ и ННИОТ в отдельности приходился на 2005-2007 гг. (37,5% и 12,5% соответственно). Это может быть связано с тем, что в 2014-2016 гг., в частности в 2016 году, когда мы наблюдали наибольшую распространенность устойчивых вариантов вирусов по сравнению с 2014 и 2015 гг., были зафиксированы перебои в поставках АРВ-препаратов. Пациенты жаловались на замену препаратов без медицинских показаний, что вызывало непереносимость новых выданных АРВ-препаратов взамен отсутствующих, а также зафиксированы жалобы на отказ в выдаче всей схемы АРТ [14]. Все вышеперечисленное могло сказаться на качестве терапии ВИЧ-инфекции, что поспособствовало появлению ЛУ у пациентов.

Мы наблюдали, что чаще всего в схеме АРТ пациенты принимали EFV (ННИОТ), 3ТС (НИОТ), AZT (НИОТ) и LPV (бустированный RTV/не бустированный RTV; ИП), что обусловлено наличием данных препаратов в клинических рекомендациях Минздрава России по лечению ВИЧ-инфекции, довольно невысокой стоимостью перечисленных препаратов по сравнению с другими и относительной эффективностью при соблюдении определенных правил приема (приверженность). С другой стороны, было обнаружено, что у пациентов с опытом терапии, вирусологическая неэффективность в половине случаев была связана с резистентностью при приеме 3ТС, АВС и всех препаратов класса

ННИОТ, включая EFV, для которого характерна широкая перекрестная резистентность и острые побочные эффекты. Более того, мы выявили устойчивость к RPV, который является ННИОТ второго поколения и считается эффективным в отношении вирусов, имеющих мутации к EFV и NVP, а также используется в современной терапии пролонгированного действия. Эти данные свидетельствуют о целесообразности оптимизации современных клинических рекомендаций в пользу более эффективных препаратов, для которых вероятность возникновения ЛУ остается минимальной, а также препаратов с большей переносимостью для формирования приверженности у пациентов. В виду того, что препарат класса ИП – LPV принимался часто пациентами с ВИЧ-инфекцией (61,5%), ЛУ к нему и в целом ко всему классу оставалась на низком уровне весь период наблюдения и не имела тенденции к росту. Представленные данные согласуются с другим исследованием, проведенным во многих регионах России, где аналогично прослеживалась тенденция к росту устойчивости лишь к НИОТ и ННИОТ [8].

Наиболее часто встречающейся мутацией, вызывающей ЛУ к препаратам группы НИОТ, была замена M184V/I, вызывающая высокий уровень устойчивости (*in vitro* и *in vivo*) к ЗТС и FTC и низкий уровень устойчивости - к ABC и ddI. Замена M184V/I обладает уникальным свойством повышать точность работы обратной транскриптазы вируса, тем самым снижать вероятность формирования мутаций к другим препаратам, дополнительно повышая чувствительность к AZT, TDF и d4T [31; 139]. По этой причине наличие M184V/I не является противопоказанием к продолжению лечения ЗТС или FTC, если в схеме присутствуют AZT, TDF и d4T, однако в 15% случаев замена M184V/I встречалась с заменами K65R, T215F/Y, V75M, Q151M, которые вызывают высокий и средний уровень устойчивости к TDF, AZT и d4T. Таким образом, сочетанное наличие данных мутаций может поставить под угрозу эффективность всего спектра препаратов НИОТ. Наиболее часто встречаемыми мутациями, вызывающими ЛУ к препаратам группы ННИОТ, были мутации G190A/S/E. Это непалиморфные мутации, связанные с высокой перекрестной устойчивостью к NVP и EFV. Они обладают высоким уровнем резистентности (более 60 баллов) к NVP и EFV, а к остальным ННИОТ – низким

(15 баллов) и средним (45 баллов) уровнем. Согласно данным исследований, проведенных в Европе [90; 120], у пациентов, инфицированных ВИЧ-1 субтипа В, мутация G190A/S/E выявлялась хотя и часто, но не была преобладающей, как в нашем исследовании: для Европы было характерно преобладание мутации K103N/S. Данный факт может быть связан с тем, что большинство вирусов в нашем исследовании принадлежали к суб-субтипу А6, в котором замена всего одного нуклеотида в 190 положении может приводить к замене глицина (G) на серин (S), тогда как в других субтипах для этого требуется изменение двух нуклеотидов [74]. Таким образом, формирование мутации G190S у вирусов суб-субтипа А6 «облегчается». В классе ИП чаще всего возникала мутация M46/I/L, вызывающая понижение чувствительности вируса преимущественно к NFV, ATV, APV и LPV. Этот результат согласуется с исследованием, проведенным в России [8] и отличается от исследований, проведенных в Европе [90; 120], где преобладающей мутацией к ИП была L90M, вызывающая устойчивость ко всем ИП, кроме DRV и TRV.

Анализ ЛУ ВИЧ-1 в ФО России показал, что чаще всего мутации ЛУ при неуспехе терапии встречались в Центральном (61,8%) и Сибирском ФО (50%). Кроме того, основной вклад вносила множественная ЛУ сразу к двум классам препаратов – НИОТ+ННИОТ (37,4% в Центральном ФО, 27,4% в Сибирском ФО), что очередной раз доказывает целесообразность оптимизации клинических рекомендаций в указанных округах с применением препаратов с более высоким генетическим барьером, например ингибиторов интегразы второго поколения. Сибирский округ входит в перечень округов с наибольшей пораженностью ВИЧ-инфекцией за счет таких городов, как Кемерово, Иркутск, Новосибирск, Красноярск и Томск. В указанных округах регистрировалась наибольшая доля потребителей инъекционных наркотиков среди пациентов (57,4% - в Центральном, 20,1% - в Сибирском). Известно, что для данной категории лиц характерно частое прекращение лечения, в основном связанное с продолжением потребления наркотиков и алкоголя, и, соответственно, низкой приверженностью, что подтверждает высокая вирусная нагрузка в этих группах (Me = 24693 копий

РНК/см³) [150]. Высокий процент приобретенной ЛУ в Центральном округе может также объясняться более длительным и масштабным применением АРТ по сравнению с другими округами России, а значит, и длительному существованию пациентов с ЛУ, передающих устойчивые вирусы в контакте. На основании данных результатов можно сделать вывод о необходимости проведения теста на резистентность как можно в большем количестве Центров СПИД и, в особенности в Центральном и Сибирском округах, пациентам с вирусологической неэффективностью АРТ с целью повышения эффективности схем терапии. Кроме того, использование теста на резистентность позволит минимизировать вероятность возникновения и дальнейшего распространения лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ-1 на территории РФ.

Был проведен многофакторный анализ для оценки факторов, которые могут быть ассоциированы с развитием ЛУ у ВИЧ-инфицированных пациентов с опытом приема терапии и вирусологической неэффективностью. Данное исследование показало, что вероятность встретить ЛУ варианты вируса, принадлежащим к различным уникальным рекомбинантам (URF_A6/B, URF_B/A6, URF_B/CRF02, URF_CRF02/A6) была выше в 1,3 раза (ОШ 1,304 [1,021-1,666] ($p = 0,032$)), чем у других субтипов. Вопрос о существовании различий в эффективности средств АРТ по отношению к пациентам, инфицированным вирусами разных субтипов, дебатировался давно, и в настоящее время большинство ученых склонны считать, что эти различия минимальны [85; 103]. Между тем, профили генетической ЛУ, возникающих в ответ на стандартные схемы лечения, могут различаться между вариантами ВИЧ, и такие данные относительно некоторых вирусов (например, субтипа В и рекомбинанта АЕ) уже существуют. Все чаще в мире отмечают факты, подтверждающие различия в таких наборах мутаций и вероятности их возникновения [89; 147]. Таким образом, информация о генетических особенностях вирусов может служить основой для коррекции назначаемой терапии, дать много сведений об источниках и путях распространения инфекции в различных группах риска, создать основу для научно обоснованной профилактики передачи инфекции на региональном уровне.

При анализе ЛУ среди «наивных» пациентов (никогда не получавших лечения и/или начинающих первую линию терапии) было показано, что в среднем распространенность ЛУ ВИЧ за весь период исследования во всех субъектах Российской Федерации составила 7,9%. Как и при исследовании резистентности среди пациентов, имеющих опыт терапии, ЛУ в основном выявлялась к НИОТ, ННИОТ и НИОТ+ННИОТ (1,5%, 2,6% и 2,1%, соответственно). Однако больший вклад вносила не множественная ЛУ сразу к двум классам препаратов НИОТ+ННИОТ, как в случае с приобретенной ЛУ, а резистентность отдельно к классу препаратов ННИОТ. Данный факт может объясняться тем, что в исследовании первичной ЛУ мы в большей степени выявляли мутации резистентности M184V/I и K103N/S. Как известно, для мутаций M184V/I характерно такое понятие как «реверсия», то есть в отсутствие селективного давления лекарства данная мутация быстро возвращается до дикого варианта вируса в силу того, что при наличии этих замен у вируса наблюдается пониженный фитнес, что крайне невыгодно для продолжения репликации ВИЧ-1 в условиях отмены терапии. Другая ситуация обстоит с вирусами, у которых выявлены мутации K103N/S. Данные замены не влияют на репликативную способность вируса и поэтому сохраняются в популяции даже после отмены АРТ [137; 148].

По сравнению с приобретенной ЛУ, у пациентов с первичной ЛУ за вклад в развитие ЛУ к ННИОТ была ответственна замена K103N/S, в отличие от G190A/S/E - распространенной мутацией ЛУ к ННИОТ среди пациентов с опытом приема терапии. Эти данные согласовались с исследованиями, проведенными как в России, так и в Европе, где тоже преобладающей мутацией среди пациентов без опыта приема терапии была K103N/S [9; 90]. Как и в случае с приобретенной ЛУ, у «наивных» пациентов более распространенной мутацией к НИОТ была M184V/I (3,2%). Интересно, что в приведенном выше исследовании в когорте пациентов из Европы мутация к НИОТ M41L выявлялась чаще всего и составляла 3,2%, тогда как в нашем исследовании данная мутация не встретилась ни разу. Ранее было сообщено, что мутация M41L в большей степени распространена в вариантах вируса В субтипа [91]. Авторами было предположено, что различия в

аминокислотных последовательностях ОТ между субтипами ВИЧ-1, возникающие в результате природного полиморфизма, могут оказывать негативное влияние на развитие мутационных паттернов M41L. Мутации к ИП выявлялись гораздо реже в силу высокого генетического барьера данного класса препаратов и чаще всего это была замена M46I/L (0,8%).

На следующем этапе настоящей работы нам хотелось понять, как менялась ЛУ к АРВ-препаратам в динамике среди пациентов без опыта приема терапии. Для этого был аналогично проведен ретроспективный анализ первичной ЛУ, который не выявил роста распространенности ЛУ с течением времени. Максимальной частота встречаемости ЛУ ко всем препаратам АРТ была в 2002-2007 гг. (11,8%) и в 2013-2015 гг. (14,4%), где особую роль играл город Красноярск, в котором было выявлено значительное количество пациентов с ЛУ перед лечением и генотипирование таким пациентам проводили как раз в 2013-2015 гг.. Мы также наблюдали преобладание пациентов с множественной ЛУ к НИОТ+ННИОТ, в обеих когортах, а также отдельно к препаратам класса НИОТ и ННИОТ. Преобладание множественной ЛУ к НИОТ+ННИОТ среди пациентов без опыта приема терапии может объясняться широким применением данных классов препаратов в схемах терапии среди пациентов с опытом приема, которые могли передавать заведомо устойчивые варианты вирусов другим людям.

Лидерами по уровню пораженности устойчивыми вариантами вирусов среди округов России оказались Сибирский и Уральский ФО (17,7% и 17,3%, соответственно), в частности, в Сибирском ФО высокий уровень приобретенной ЛУ был обнаружен в Красноярске, а в Уральском ФО – в Сургуте. В единственном исследовании, посвященном распространенности первичной ЛУ, в котором была проанализирована и описана большая часть ФО России и в котором имелась внушительная выборка пациентов (1560 чел.), результаты анализа показали высокую распространенность лекарственно-устойчивых вариантов вируса в Центральном ФО в виду более масштабного и длительного применения АРТ в указанном регионе, а также умеренную распространенность (<5%) в Сибирском и Уральском ФО с датой постановки диагноза 1998-2017 [9]. Эти данные говорят о

том, что эпидемия ВИЧ-инфекции развивается и распространенность ЛУ в зависимости от выборки пациентов может различаться, поэтому для более репрезентативных результатов необходимо использовать больший охват пациентов, для которых будет проведено генотипирование. Более того, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, в которых указано, что присутствие более 10% ЛУ вариантов ВИЧ-1 в регионе, у всех пациентов перед началом лечения требуется проведение обязательного генотипирования, чтобы прогнозировать эффективность первой схемы АРТ.

Вероятность ЛУ к АРВ-препаратам у «наивных» пациентов оставалась невысокой (0,2% до 4,7% в зависимости от препарата) и была связана с теми же препаратами, что и в случае неуспеха терапии. В частности, наиболее часто мутации ЛУ ВИЧ-1 выявлялись к таким препаратам, как ЗТС, FTC, ABC, NVP, EFV, и только к одному препарату класса ИП - DRV мутаций, ассоциированных с резистентностью, выявлено не было. Данные результаты согласуются с исследованиями, проведенными в различных регионах РФ и обоснованы преимущественным применением указанных препаратов в популяции людей с опытом АРТ, которые по тем или иным причинам заражать ранее неинфицированных людей [9; 64].

В работе был проведен многофакторный анализ для оценки факторов, которые могут влиять на развитие ЛУ перед лечением у «наивных» ВИЧ-инфицированных пациентов. Данное исследование показало, что максимальная вероятность наличия ЛУ перед началом терапии наблюдается у пациентов с 4-ой стадией ВИЧ-инфекции. Эта стадия классифицируется как стадия вторичных заболеваний, для нее характерно истощение популяции CD4+ Т-клеток на фоне продолжения репликации вируса, развитие оппортунистических инфекционных и онкологических вторичных заболеваний. Факт наличия связи между развитием ЛУ и стадией ВИЧ-инфекции носит интересный характер, потому что самой распространенной мутацией в данном исследовании была M184V, для которой характерно в условиях отсутствия барьера (лечения) исчезать из популяции в течение недель или месяцев [68]. В то же время, распространенность 4 стадии ВИЧ-

инфекции среди популяции лиц без приема терапии указывает на то, что большая доля таких пациентов имели длительную ВИЧ-инфекцию и у них было достаточно времени для исчезновения мутаций ЛУ (M184V) и соответственно «ослабления» ЛУ перед началом лечения.

Кластерный анализ генетических сетей, выявленных в этом исследовании, выявил один крупный кластер суб-субтипа А6, содержащий одинаковые мутации ЛУ, в основном связанные с мультирезистентностью к НИОТ+ННИОТ (M184V, G190S). Для вариантов ВИЧ-1 CRF63_02A1 и В были выявлены также по одному крупному кластеру, содержащему мутацию K103N к ННИОТ. Эти факты указывают на то, что лекарственно-устойчивые вирусы уже распространяются горизонтально в популяции людей. Заметим, что в нашем исследовании ВИЧ-позитивные лица не были недавно инфицированы, но не принимали терапию. Вполне вероятно, что лекарственно-устойчивые штаммы успели «исчезнуть» из популяции вирусов, будучи замещены чувствительными, и не могли быть обнаружены [100; 130], поэтому связь между общими показателями кластеризации и ЛУ перед лечением была ослаблена, и в действительности показатель передачи устойчивых вирусов может быть еще выше. Этот результат указывает на необходимость вмешательства для предотвращения распространения лекарственно-устойчивых штаммов.

Наше исследование имеет ограничения в связи с тем, что секвенирование по Сэнгеру позволяет выявить лекарственно-устойчивые варианты ВИЧ-1 в вирусных популяциях только при условии, что они составляют более 15-20% популяции пациента, и ЛУ перед лечением в этом исследовании может быть недооценена [86]. Мы надеемся, что в будущем секвенирование нового поколения позволит выявить варианты ВИЧ, устойчивых к лекарствам с частотой их в популяции всего 0,4%.

Еще одну большую часть настоящей работы составил анализ ИРП распространения ЛУ. ИРП это показатели, которые оценивают состояние назначения и эффективности терапии в отдельно взятом медицинском учреждении. В их числе находится оценка некоторых показателей таких как соблюдение пациентами всех рекомендаций врача, правильность работы Центров СПИД, а

также эффективность АРТ, что вкупе позволяет понять вероятность распространения резистентных вариантов вирусов, а также, что немаловажно, позволяет сформулировать и определить некоторые выводы. Оценка ИРП, в первую очередь, определила, что готовность Центров СПИД к систематическому слежению за лекарственно-устойчивыми ВИЧ-1 остается низкой, о чем свидетельствует тот факт, что только 11 из 82 Центров СПИД дали свое согласие на проведение мониторинга. Вероятно, эти данные показывают, что в настоящее время до сих пор продолжает сохраняться непонимание клиницистами необходимости таких исследований, а также существование настороженного отношения к предложениям представителей науки о совместных анализах. Наше исследование показало, что предположительный риск распространения лекарственно-устойчивых штаммов вируса, который можно оценить по показателю ВН более 1000 копий РНК/мл, составлял 14,9%, так как при таком уровне нагрузки можно говорить о неэффективности терапии и/или приверженности пациента к лечению и о том, что пациент может передавать заведомо устойчивый вирус другому человеку. Было показано, что самая большая проблема была связана с тем, что не все пациенты при постановке на диспансерный учет в итоге получали рекомендуемое лечение в течение 12 месяцев наблюдения, при этом 45,5% Центров СПИД полностью не достигли целевого показателя. Также основной проблемой, с которой сталкивались Центры СПИД было недостаточная эффективность терапии, которая не проявлялась снижением вирусной нагрузки, здесь 27,3% Центров СПИД не достигли целевого значения. Похожие результаты были отображены в исследовании [13], где 9 Центров СПИД также сообщили о проблемах снижения ВН в крови у пациентов, при этом только 33,3% медицинских учреждений, занимающиеся лечением ВИЧ-инфекции, достигли целевого показателя. Аналогичная ситуация наблюдалась касаясь получения пациентами терапии, здесь только 44,4% Центров СПИД достигли рекомендуемого значения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящего исследования проведен масштабный и систематизированный анализ мутаций ЛУ и профиль резистентности у различных вариантов ВИЧ-1, распространенных на территории РФ, на большой коллекции генотипов ВИЧ-1 из разных регионов России, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов в течение 18 лет эпидемии.

На основании проведенного исследования получены новые данные, касающиеся ЛУ ВИЧ-1 на территории России, дополнившие существующие представления о развитии резистентности, которые смогут оказать влияние на разработку новых стандартов назначения тестов на определение ЛУ ВИЧ, корректировку клинических рекомендаций по лечению ВИЧ-инфекции и сделать существенный вклад в развитие персонализированной медицины в области лечения ВИЧ-инфекции в РФ.

Обобщение полученных результатов позволяет обосновать следующие практические рекомендации:

1. В связи с распространённостью резистентности более 10% рекомендуется обязательно проводить генотипирование для определения лекарственной устойчивости у пациентов, которые только начинают первую линию терапии в Уральском и Сибирском федеральных округах.

2. Рекомендуется оптимизировать клинические рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции в пользу препаратов с более высоким генетическим барьером резистентности.

ВЫВОДЫ

1. Среди анализированных генотипов ВИЧ-1 у пациентов, испытавших неуспех лечения, преобладают устойчивые и множественно-устойчивые варианты вируса к препаратам классов НИОТ (11,8%), ННИОТ (6,4%) и НИОТ+ННИОТ (31,7%), характеризующиеся наличием мутаций M184V/I (54,5%) и G109A/S (27,2%), вызывающих устойчивость к ЗТС, FTC, EFV и NVP, что, вероятно, связано с широким применением схем препаратов классов НИОТ+ННИОТ, имеющих низкий генетический барьер. Лекарственная устойчивость к препаратам класса ИП оставалась на низком уровне и составляла 1,1%.

2. Среди генотипов ВИЧ-1 у пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии выявлены варианты вируса, устойчивые к препаратам классов НИОТ (1,5%), ННИОТ (2,6%) и НИОТ+ННИОТ (2,1%), что обусловлено наличием таких мутаций, как M184V/I (3,2%) и K103N (2,5%). Лекарственная устойчивость к препаратам класса ИП оставалась на низком уровне и составляла 1,1%.

3. Наиболее пораженными федеральными округами по распространенности лекарственно-устойчивых вариантов вируса в случаях неуспеха антиретровирусной терапии являлись Центральный и Сибирский (61,8% и 50,0% соответственно).

4. В Уральском и Сибирском округах уровень лекарственной устойчивости перед лечением составил 17,3% и 17,7%, что требует проведения анализа генотипа ВИЧ-1 перед назначением первой линии терапии у всех пациентов в данных округах.

5. Преобладание множественной лекарственной устойчивости в структуре устойчивости у пациентов с опытом приема терапии и вирусологической неэффективностью ВИЧ-1 сохраняется в динамике всего периода наблюдения. Эти данные требуют пересмотра спектра применяемых схем терапии на общенациональном уровне в пользу препаратов с высоким генетическим барьером.

6. Кластерный анализ генетических сетей передачи для доминирующих вариантов ВИЧ-1: суб-субтипа А6, В и CRF63_02А6 обнаружил, что вирусы с

мутациями к ННИОТ и НИОТ+ННИОТ, такими как M184V, K103N, G190S способны передаваться горизонтально в популяции.

7. Анализ индикаторов раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в 11-ти регионах Российской Федерации продемонстрировал, что основной причиной ее формирования являются проблемы, связанные с недостаточной приверженностью пациентов, проявляющейся несвоевременным приемом препаратов, получением лекарств и несистематическим обследованием.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АРВ-препараты	антиретровирусные препараты
АРТ	антиретровирусная терапия
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВН	вирусная нагрузка
ВОЗ	всемирная организация здравоохранения
ДИ	доверительный интервал
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИИ	ингибиторы интегразы
ИРП	индикаторы раннего предупреждения
ЛЖВ	лица, живущие с ВИЧ
ЛУ	лекарственная устойчивость
МСМ	мужчины, практикующие секс с мужчинами
НИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
ННИОТ	ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
ОШ	отношение шансов
РНК	рибонуклеиновая кислота
СПИД	синдром приобретенного иммунодефицита
ФО	Федеральный округ
ADR	приобретенная лекарственная устойчивость (acquired drug resistance)
CA	капсид (capsid)
CC	хемокиновые рецепторы (chemokine receptors)
CCR5	С-С рецептор хемокина 5-го типа (С-С chemokine receptor type 5)
CD	маркер клеточной дифференциации (cluster of differentiation)
CPR	выверенная устойчивость популяции (calibrated population resistance)

CXCR4	С-Х-С рецептор хемокина 4-го типа (C-X-C chemokine receptor type 4)
Env	оболочка (envelope);
Gag	группоспецифический антиген (group specific antigen)
LTR	длинные концевые повторы (long terminal repeats)
MA	матрикс (matrix)
NC	нуклеокапсид (nucleocapsid)
Non-TAM	не-тимидин-аналоговые мутации (non-thymidine analogue mutation)
PDR	лекарственная устойчивость перед лечением (pretreatment drug resistance)
SDRM	надзорные мутации лекарственной устойчивости (surveillance drug resistance mutations)
TAM	тимидин-аналоговые мутации (thymidine analogue mutation)
TDR	передающаяся лекарственная устойчивость (transmitted drug resistance)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобкова, М. Р. Лекарственная устойчивость ВИЧ / М. Р. Бобкова. — Москва : Человек, 2014. — 288 с. — ISBN 978-906131-42-3.
2. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ). Глобальный отчет о показателях раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ: технический отчет : официальный сайт. — 2022. — URL : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/246219> (дата обращения: 09.03.2022).
3. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ). Устойчивость ВИЧ к лекарственным препаратам : официальный сайт. — 2022. — URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/hiv-drug-resistance> (дата обращения: 02.03.2022).
4. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Руководство по мониторингу и оценке совместной деятельности по борьбе с ТБ/ВИЧ : официальный сайт. — 2015. — URL : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/90792?locale-attribute=ru&> (дата обращения: 09.03.2022).
5. Дементьева, Н. Е. Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга / Н. Е. Дементьева, Н. В. Сизова, Н. А. Беляков [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2011. — Т.3, №4. — С. 34–43.
6. Елисеева, В. С. Распространенность мутаций резистентности ВИЧ-1 к препаратам АРВТ в Приморском крае / В. С. Елисеева, С. П. Кругляк, Е. С. Махно [и др.] // ВИЧ-инфекции и иммуносупрессии. — 2015. — Т.7, №2. — С. 49-54.
7. Зайцева, Н. Н. Анализ распространенности первичной резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе / Н. Н. Зайцева, О. В. Парфенова, О. Ю. Пекшева [и др.] // Медицинский альманах. — 2016. — Т.3, №43. — С. 93–95.

8. Кириченко, А. А. Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в России (2013–2021 гг.) / А. А. Кириченко, Д. Е. Киреев, В. В. Покровский [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2021. — №3. — С. 53-62.
9. Кириченко, 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 / А. А. Кириченко, Д. Е. Киреев, А. Э. Лопатухин [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2019. — №11. — С. 75-83.
10. Кириченко, А. А. Структура и уровень мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неудачей лечения / А.А. Кириченко, А. В. Мурзакова, Д. Е. Киреев [и др.] // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». — 2017. — С. 462–463.
11. Коломеец, А. Н. Показатели лекарственной устойчивости вируса иммунодефицита человека к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-инфицированных лиц в Сибирском федеральном округе в 2010–2012 гг. / А. Н. Коломеец, Е. С. Довгополюк, И. В. Сергеева [и др.] // Вопросы вирусологии. — 2015. — Т.60, №2. — С. 20–23.
12. Лага, В. Ю. Молекулярно-генетический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в республике Крым / В. Ю. Лага, А. В. Немыкин, Е. Н. Бегма [и др.] // ВИЧ-инфекции и иммуносупрессии. — 2019. — Т.11, №4. — С. 91-97.
13. Лебедева, Н. Н. Индикаторы раннего предупреждения лекарственной устойчивости и их оценка в некоторых регионах России / Н. Н. Лебедева, С. Я. Зверев, М. Р. Бобкова [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2018. — Т.10, №4. — С. 67-75.
14. Международная коалиция по готовности к лечению (ITPSru): Анализ закупок АРВ-препаратов в Российской Федерации в 2019 году : официальный сайт. — 2020. — URL : https://makemedicinesaffordable.org/wp-content/uploads/2020/08/itpcru-otchet-arv-preparaty-2019-28.04.20-final_prep.pdf (дата обращения 12.08.2022).

15. Международная коалиция по готовности к лечению (ITPSru): Анализ закупок средств диагностики для лечения ВИЧ в России в 2020-2021 годах : официальный сайт. — 2022. — URL : <https://itpc-eeca.org/wp-content/uploads/2022/07/monitoring-testov-vich-2020-21-gg-1.pdf> (дата обращения 12.08.2022).
16. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых : официальный сайт. — 2020. — URL: <https://aids43.ru/doc/КР79%20ВИЧ%20взрослые%202020.pdf> (дата обращения 14.12.2022).
17. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Стандарт первичной медико-санитарной помощи взрослым при ВИЧ-инфекции (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение) : электронный источник : сайт. — 2022. — URL: <https://base.garant.ru/405059469/53f89421bbdaf741eb2d1ecc4ddb4c33/> (дата обращения 14.12.2022).
18. Ладная, Н. Н. Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам / Н. Н. Ладная [и др.] // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Женщины и ВИЧ». — 2017. — 386 с.
19. Национальная вирусологическая ассоциация. Клинические рекомендации: ВИЧ-инфекция у взрослых : официальный сайт. — 2020. — URL: <https://nvarus.ru/klinicheskie-rekomendacii/> (дата обращения: 02.03.2022).
20. Останкова, Ю. В. Молекулярная эпидемиология и фармакорезистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии в Архангельской области / Ю. В. Останкова, А. Н. Щемелев, Е. Б. Зуева [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2019. — Т.11, №4. — С. 79–90.
21. Покровский, В. И. Клиническая классификация ВИЧ-инфекции / В. И. Покровский, В. В. Покровский, О. Г. Юрин [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — №1. С. 7–10.

22. Плотникова, Ю. К. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на территории Иркутской области / Ю. К. Плотникова, А. О. Ревизор, О. А. Пономарева [и др.] // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». — 2017. — С. 479–480.
23. ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2021 г. : официальный сайт. — 2022. — URL: <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2022/03/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2021-g..pdf> (дата обращения: 06.12.2022).
24. ЮНЭЙДС. Информационный бюллетень – 90-90-90: Лечение для всех : официальный сайт. – 2014. – URL: <https://www.unaids.org/ru/resources/909090> (дата обращения: 06.12.2022).
25. Хаитов, Р. М. СПИД / Р. М. Хаитов. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. — 496 с. — ISBN 978-5-9704-4482-5.
26. Assoumou, L. Prevalence of HIV-1 drug resistance in treated patients with viral load >50 copies/mL: a 2014 French nationwide study / L. Assoumou, C. Charpentier, P. Recordon-Pinson, [et.al.] // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 72, № 6. — P. 1769-1773.
27. Barber, T. J. Frequency and patterns of protease gene resistance mutations in HIV-infected patients treated with lopinavir/ritonavir as their first protease inhibitor / T. J. Barber, L. Harrison, D. Asboe [et.al.] // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2012. — Vol. 67, № 4. — P. 995-1000.
28. Bartlett, J. A. An updated systematic overview of triple combination therapy in antiretroviral-naïve HIV-infected adults / J. A. Bartlett, M. J. Fath, R. Demasi [et.al.] // *Aids*. — 2006. — Vol. 20, № 16. — P. 2051-2064.

29. Bennett, D. E. HIV drug resistance early warning indicators in cohorts of individuals starting antiretroviral therapy between 2004 and 2009: World Health Organization global report from 50 countries / D. E. Bennett, M. R. Jordan, S. Bertagnolio [et.al.] // *Clinical Infectious Diseases*. — 2012. — Vol. 54, № 4. — P. 280-289.
30. Blanco, J. L. HIV-1 integrase inhibitor resistance and its clinical implications / J. L. Blanco, V. Varghese, S. Y. Rhee [et.al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. — 2011. — Vol. 203, № 9. — P. 1204-1214.
31. Borroto-Esoda, K. A comparison of the phenotypic susceptibility profiles of emtricitabine and lamivudine / K. Borroto-Esoda, N. Parkin, M. D. Miller [et.al.] // *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*. — 2007. — Vol. 18, № 5. — P. 297-300.
32. Boucher, C. A. High-level resistance to (-) enantiomeric 2'-deoxy-3'-thiacytidine in vitro is due to one amino acid substitution in the catalytic site of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase / C. A. Boucher, N. Cammack, P. Schipper [et.al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 1993. — Vol. 37, № 10. — P. 2231-2234.
33. Boyer, P. L. YADD mutants of human immunodeficiency virus type 1 and Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase are resistant to lamivudine triphosphate (3TCTP) in vitro / P. L. Boyer, H. Q. Gao, P. K. Clark [et.al.] // *Virology*. — 2001. — Vol. 75, № 14. — P. 6321-6328.
34. Brenner, B. G. Development of a G118R mutation in HIV-1 integrase following a switch to dolutegravir monotherapy leading to cross-resistance to integrase inhibitors / B. G. Brenner, R. Thomas, J. L. Blanco [et.al.] // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2016. — Vol. 71, № 7. — P. 1948-1953.
35. Brut, M. Toward in silico biomolecular manipulation through static modes: atomic scale characterization of HIV-1 protease flexibility / M. Brut, A. Estève, G. Landa [et.al.] // *The Journal of Physical Chemistry B*. — 2014. — Vol. 118, № 11. — P. 2821-2830.
36. Cardoso, M. Two cases of dolutegravir failure with R263K mutation / M. Cardoso, T. Baptista, I. Diogo [et.al.] // *AIDS*. — 2018. — Vol. 32, № 17. — P. 2639-2640.

37. Castagna, A. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study / A. Castagna, F. Maggiolo, G. Penco [et.al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. — 2014. — Vol. 210, № 3. — P. 354-362.
38. Chaudhury, S. Identification of structural mechanisms of HIV-1 protease specificity using computational peptide docking: implications for drug resistance / S. Chaudhury, J. J. Gray [et.al.] // *Structure*. — 2009. — Vol. 17, № 12. — P. 1636-1648.
39. Chiu, T. K. Structure and function of HIV-1 integrase / T. K. Chiu, D. R. Davies [et.al.] // *Current Topics In Medicinal Chemistry*. — 2004. — Vol. 4, № 9. — P. 965-977.
40. Clavel, F. HIV drug resistance and viral fitness / F. Clavel, E. Race, F. Mammano [et.al.] // *Advances in Pharmacology*. — 2000. — Vol. 49. — P. 41-66.
41. Clutter, D. S. HIV-1 drug resistance and resistance testing / D. S. Clutter, M. R. Jordan, S. Bertagnolio [et.al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. — 2016. — Vol. 46. — P. 292-307.
42. Coffin, J. HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells / J. Coffin, R. Swanstrom [et.al.] // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. — 2013. — Vol. 3, № 1. — 17 p.
43. CPR: Calibrated Population Resistance Tool – HIV Drug Resistance Database. – 2022. – URL: <https://hivdb.stanford.edu/cpr/> (дата обращения: 09.03.2022).
44. Craigie, R. HIV DNA integration / R. Craigie, F. D. Bushman [et.al.] // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. — 2012. — Vol. 2, № 7. — 19 p.
45. HIV Databases. – 2022. – URL: <https://www.hiv.lanl.gov> (дата обращения: 06.12.2022).
46. De Meyer, S. M. Efficacy of once-daily darunavir/ritonavir 800/100 mg in HIV-infected, treatment-experienced patients with no baseline resistance-associated mutations to darunavir / S. M. De Meyer, S. Spinosa-Guzman, T. J. Vangeneugden [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2008. — Vol. 49, № 2. — P. 179-182.

47. Deeks, S. G. Virologic and immunologic consequences of discontinuing combination antiretroviral-drug therapy in HIV-infected patients with detectable viremia / S. G. Deeks, T. Wrin, T. Liegler [et.al.] // *The New England Journal of Medicine*. — 2001. — Vol. 344, № 7. — P. 472-480.
48. Delaugerre, C. HIV-1 group N: travelling beyond Cameroon / C. Delaugerre, F. De Oliveira, C. Lascoux-Combe [et.al.] // *Lancet*. — 2011. — Vol. 378, № 9806. — 1894 p.
49. Dolling, D. I. Low frequency of genotypic resistance in HIV-1-infected patients failing an atazanavir-containing regimen: a clinical cohort study / D. I. Dolling, D. T. Dunn, K. A. Sutherland [et.al.] // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2013. — Vol. 68, № 10. — P. 2339-2343.
50. Dou, Z. Progress on China's national free antiretroviral therapy strategy in 2002-2014 / Z. Dou, F. Zhang, Y. Zhao [et.al.] // *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. — 2015. — Vol. 36, № 12. — P. 1345-1350.
51. Eigen, M. The AIDS debate / M. Eigen [et.al.] // *Naturwissenschaften*. — 1989. — Vol. 76, № 8. — P. 341-350.
52. El Bouzidi, K. Protease mutations emerging on darunavir in protease inhibitor-naïve and experienced patients in the UK / K. El Bouzidi, E. White, J. L. Mbisa [et.al.] // *Journal of the International AIDS Society*. — 2014. — Vol. 17, № 4 Suppl 3. — 2 p.
53. Eron, J. J. Safety and efficacy of dolutegravir in treatment-experienced subjects with raltegravir-resistant HIV type 1 infection: 24-week results of the VIKING Study / J. J. Eron, B. Clotet, J. Durant [et.al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. — 2013. — Vol. 207, № 5. — P. 740-748.
54. Fielden, S. J. Nonadherence increases the risk of hospitalization among HIV-infected antiretroviral naive patients started on HAART / S. J. Fielden, M. L. Rusch, B. Yip [et.al.] // *Journal of the International Association of Providers of AIDS Care (JIAPAC)*. — 2008. — Vol. 7, № 5. — P. 238-244.

55. Fokam, J. Short Communication: Population-Based Surveillance of HIV-1 Drug Resistance in Cameroonian Adults Initiating Antiretroviral Therapy According to the World Health Organization Guidelines / J. Fokam, D. Takou, M. M. Santoro [et.al.] // *AIDS Research and Human Retroviruses*. — 2016. — Vol. 32, № 4. — P. 329-333.
56. Foley, B. T. Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature: Review / B. T. Foley, T. Leitner, D. Paraskevis [et.al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. — 2016. — Vol. 46. — P. 150-158.
57. Fun, A. Human Immunodeficiency Virus Gag and protease: partners in resistance / A. Fun, A. M. Wensing, J. Verheyen [et.al.] // *Retrovirology*. — 2012. — Vol. 9. — 63 p.
58. Ganser-Pornillos, B. K. The structural biology of HIV assembly / B. K. Ganser-Pornillos, M. Yeager, W. I. Sundquist [et.al.] // *Current Opinion in Structural Biology*. — 2008. — Vol. 18, № 2. — P. 203-217.
59. Ghosh, A. K. Recent Progress in the Development of HIV-1 Protease Inhibitors for the Treatment of HIV/AIDS / A. K. Ghosh, H. L. Osswald, G. Prato [et.al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2016. — Vol. 59, № 11. — P. 5172-5208.
60. enoRes Study Group. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study / e. S. Group // *The Lancet Infectious Diseases*. — 2016. — Vol. 16, № 5. — P. 565-575.
61. Gupta, R. Emergence of drug resistance in HIV type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: a systematic review of clinical trials / R. Gupta, A. Hill, A. W. Sawyer [et.al.] // *Clinical Infectious Diseases*. — 2008. — Vol. 47, № 5. — P. 712-722.
62. Gupta, U. Non-polymeric nano-carriers in HIV/AIDS drug delivery and targeting / U. Gupta, N. K. Jain [et.al.] // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2010. — Vol. 62, № 4-5. — P. 478-490.

63. Hassounah, S. A. Antiviral Activity of Bictegravir and Cabotegravir against Integrase Inhibitor-Resistant SIVmac239 and HIV-1 / S. A. Hassounah, A. Alikhani, M. Oliveira [et.al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 61, № 12. — 9 p.
64. Ingabire, T. Primary HIV drug resistance among newly HIV type-1 diagnosed patients in St. Petersburg / T. Ingabire, A. V. Semenov, E. V. Esaulenko [et.al.] // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. — 2021. — Vol. 13, № 1. — P. 70–79.
65. Iordanskiy, S. Intracytoplasmic maturation of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcription complexes determines their capacity to integrate into chromatin / S. Iordanskiy, R. Berro, M. Altieri [et.al.] // *Retrovirology*. — 2006. — Vol. 3. — 4 p.
66. Ivanovic, J. Therapeutic drug monitoring in the management of HIV-infected patients / J. Ivanovic, E. Nicastrì, P. Ascenzi [et.al.] // *Current Medicinal Chemistry*. — 2008. — Vol. 15, № 19. — P. 1925-1939.
67. Jacobo-Molina, A. HIV reverse transcriptase structure-function relationships / A. Jacobo-Molina, E. Arnold [et.al.] // *Biochemistry*. — 1991. — Vol. 30, № 26. — P. 6351-6356.
68. Jain, V. Differential persistence of transmitted HIV-1 drug resistance mutation classes / V. Jain, M. C. Sucupira, P. Bacchetti [et.al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. — 2011. — Vol. 203, № 8. — P. 1174-1181.
69. Jin, F. Prevalence and incidence of hepatitis C virus infection in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis / F. Jin, G. J. Dore, G. Matthews [et.al.] // *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. — 2021. — Vol. 6, № 1. — P. 39-56.
70. King, J. R. Pharmacokinetic enhancement of protease inhibitor therapy / J. R. King, H. Wynn, R. Brundage [et.al.] // *Clinical Pharmacokinetics*. — 2004. — Vol. 43, № 5. — P. 291-310.
71. Klatzmann, D. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV / D. Klatzmann, E. Champagne, S. Chamaret [et.al.] // *Nature*. — 1984. — Vol. 312, № 5996. — P. 767-768.

72. Knipe, D. M. *Fields Virology* / D. M. Knipe, P. M. Howley. – 6th Edition. – Vol. 1. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 2455 p. – ISBN-13: 978-1-4511-0563-6
73. Kohlstaedt, L. A. Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor / L. A. Kohlstaedt, J. Wang, J. M. Friedman [et.al.] // *Science*. — 1992. — Vol. 256, № 5065. — P. 1783-1790.
74. Kolomeets, A. N. A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses / A. N. Kolomeets, V. Varghese, P. Lemey [et.al.] // *AIDS*. — 2014. — Vol. 28, № 17. — P. 1-8.
75. Kumarasamy, N. Lopinavir/Ritonavir Monotherapy as Second-line Antiretroviral Treatment in Resource-Limited Settings: Week 104 Analysis of AIDS Clinical Trials Group (ACTG) A5230 / N. Kumarasamy, E. Aga, H. J. Ribaldo [et.al.] // *Clinical Infectious Diseases*. — 2015. — Vol. 60, № 10. — P. 1552-1558.
76. Lapovok, I. Prevalence of HIV-1 drug resistance mutations among ART-naive patients in Russia from 2005 to 2015 / I. Lapovok, A. Murzakova, A. Lopatukhin [et.al.] // *Reviews in Antiviral Therapy: Infectious Diseases*. — 2016. — Vol. 4. — P. 83-84.
77. Larder, B. Mechanisms of HIV-1 drug resistance / B. Larder [et.al.] // *AIDS*. — 2001. — Vol. 15 Suppl 5. — P. 27-34.
78. Larsson, A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets / A. Larsson [et.al.] // *Bioinformatics*. — 2014. — Vol. 30, № 22. — P. 3276-3278.
79. Levison, J. H. The clinical and economic impact of genotype testing at first-line antiretroviral therapy failure for HIV-infected patients in South Africa / J. H. Levison, R. Wood, C. A. Scott [et.al.] // *Clinical Infectious Diseases*. — 2013. — Vol. 56, № 4. — P. 587-597.
80. Li, X. Nationwide Trends in Molecular Epidemiology of HIV-1 in China / X. Li, W. Li, P. Zhong [et.al.] // *AIDS Research and Human Retroviruses*. — 2016. — Vol. 32, № 9. — P. 851-859.

81. Liu, J. Molecular architecture of native HIV-1 gp120 trimers / J. Liu, A. Bartesaghi, M. J. Borgnia [et.al.] // *Nature*. — 2008. — Vol. 455, № 7209. — P. 109-13.
82. López-Cortés, L. F. Clinical and virological efficacy of etravirine plus two active Nucleos(t)ide analogs in an heterogeneous HIV-infected population / L. F. López-Cortés, P. Viciano, J. A. Girón-González [et.al.] // *Public Library of Science One*. — 2014. — Vol. 9, № 5. — 8 p.
83. Maartens, G. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention / G. Maartens, C. Celum, S. R. Lewin [et.al.] // *Lancet*. — 2014. — Vol. 384, № 9939. — P. 258-271.
84. Mahajan, A. P. Stigma in the HIV/AIDS epidemic: a review of the literature and recommendations for the way forward / A. P. Mahajan, J. N. Sayles, V. A. Patel [et.al.] // *AIDS*. — 2008. — Vol. 22, № 2. — P. 67-79.
85. McPhee, E. Short Communication: The Interaction of HIV Set Point Viral Load and Subtype on Disease Progression / E. McPhee, M. K. Grabowski, R. H. Gray [et.al.] // *AIDS Research Human Retroviruses*. — 2019. — Vol. 35, № 1. — P. 49-51.
86. Melikian, G. L. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) cross-resistance: implications for preclinical evaluation of novel NNRTIs and clinical genotypic resistance testing / G. L. Melikian, S. Y. Rhee, V. Varghese [et.al.] // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2014. — Vol. 69, № 1. — P. 12-20.
87. Mesplède, T. Resistance against Integrase Strand Transfer Inhibitors and Relevance to HIV Persistence / T. Mesplède, M. A. Wainberg [et.al.] // *Viruses*. — 2015. — Vol. 7, № 7. — P. 3703-3718.
88. MicrobeTrace: Retooling molecular epidemiology for rapid public health response. — 2022. — URL: <https://microbetrace.cdc.gov/MicrobeTrace/> (дата обращения: 09.03.2022).
89. Mikasi, S. G. Interaction analysis of statistically enriched mutations identified in Cameroon recombinant subtype CRF02_AG that can influence the development of Dolutegravir drug resistance mutations / S. G. Mikasi, D. Isaacs, R. Chitongo [et.al.] // *BMC Infection Disease*. — 2021. — Vol. 21, № 1. — 379 p.

90. Miranda, M. N. S. Trends of Transmitted and Acquired Drug Resistance in Europe From 1981 to 2019: A Comparison Between the Populations of Late Presenters and Non-late Presenters / M. N. S. Miranda, M. Pingarilho, V. Pimentel [et.al.] // *Frontiers in Microbiology*. — 2022. — Vol. 13. — 12 p.
91. Montes, B. Comparison of drug resistance mutations and their interpretation in patients infected with non-B HIV-1 variants and matched patients infected with HIV-1 subtype B / B. Montes, L. Vergne, M. Peeters [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2004. — Vol. 35, № 4. — P. 329-336.
92. Moris, A. Dendritic cells and HIV-specific CD4+ T cells: HIV antigen presentation, T-cell activation, and viral transfer / A. Moris, A. Pajot, F. Blanchet [et.al.] // *Blood*. — 2006. — Vol. 108, № 5. — P. 1643-1651.
93. Nachega, J. B. HIV treatment adherence, drug resistance, virologic failure: evolving concepts / J. B. Nachega, V. C. Marconi, G. U. van Zyl [et al.] // *Infect Disord Drug Targets*. — 2011. — Vol. 11, № 2. — P. 167-174.
94. Okoye, A. A. CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure / A. A. Okoye, L. J. Picker [et.al.] // *Immunological Reviews*. — 2013. — Vol. 254, № 1. — P. 54-64.
95. Orta-Resendiz, A. HIV-1 acquired drug resistance to integrase inhibitors in a cohort of antiretroviral therapy multi-experienced Mexican patients failing to raltegravir: a cross-sectional study / A. Orta-Resendiz, R. A. Rodriguez-Diaz, L. A. Angulo-Medina [et.al.] // *AIDS Research and Therapy*. — 2020. — Vol. 17, № 1. — 6 p.
96. Panichsillapakit, T. Prevalence of Transmitted HIV Drug Resistance Among Recently Infected Persons in San Diego, CA 1996-2013 / T. Panichsillapakit, D. M. Smith, J. O. Wertheim [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2016. — Vol. 71, № 2. — P. 228-236.
97. Parkin, N. T. Human immunodeficiency virus type 1 gag-pol frameshifting is dependent on downstream mRNA secondary structure: demonstration by expression in vivo / N. T. Parkin, M. Chamorro, H. E. Varmus [et.al.] // *Journal of Virology*. — 1992. — Vol. 66, № 8. — P. 5147-5151.

98. Paterson, D. L. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection / D. L. Paterson, S. Swindells, J. Mohr [et.al.] // *Annals of Internal Medicine*. — 2000. — Vol. 133, № 1. — P. 21-30.
99. Paton, N. I. Assessment of second-line antiretroviral regimens for HIV therapy in Africa / N. I. Paton, C. Kityo, A. Hoppe [et.al.] // *The New England Journal of Medicine*. — 2014. — Vol. 371, № 3. — P. 234-247.
100. Petrella, M. Might the M184V substitution in HIV-1 RT confer clinical benefit? / M. Petrella, M. A. Wainberg [et.al.] // *AIDS Reviews*. — 2002. — Vol. 4, № 4. — P. 224-232.
101. Phillips, A. N. Long term probability of detection of HIV-1 drug resistance after starting antiretroviral therapy in routine clinical practice / A. N. Phillips, D. Dunn, C. Sabin [et.al.] // *AIDS*. — 2005. — Vol. 19, № 5. — P. 487-494.
102. Pineda-Peña, A. C. Automated subtyping of HIV-1 genetic sequences for clinical and surveillance purposes: performance evaluation of the new REGA version 3 and seven other tools / A. C. Pineda-Peña, N. R. Faria, S. Imbrechts [et.al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. — 2013. — Vol. 19. — P. 337-348.
103. Posada-Céspedes, S. Comparing mutational pathways to lopinavir resistance in HIV-1 subtypes B versus C / S. Posada-Céspedes, G. Van Zyl, H. Montazeri [et.al.] // *PLoS Computational Biology*. — 2021. — Vol. 17, № 9. — 25 p.
104. Prabu-Jeyabalan, M. Substrate shape determines specificity of recognition for HIV-1 protease: analysis of crystal structures of six substrate complexes / M. Prabu-Jeyabalan, E. Nalivaika, C. A. Schiffer [et.al.] // *Structure*. — 2002. — Vol. 10, № 3. — P. 369-381.
105. Punyawudho, B. Therapeutic drug monitoring of antiretroviral drugs in HIV-infected patients / B. Punyawudho, N. Singkham, N. Thammajaruk [et.al.] // *Expert Review of Clinical Pharmacology*. — 2016. — Vol. 9, № 12. — P. 1583-1595.
106. Rabi, S. A. Multi-step inhibition explains HIV-1 protease inhibitor pharmacodynamics and resistance / S. A. Rabi, G. M. Laird, C. M. Durand [et.al.] // *Journal of Clinical Investigation*. — 2013. — Vol. 123, № 9. — P. 3848-3860.

107. Rhee, S. Y. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database / S. Y. Rhee, M. J. Gonzales, R. Kantor [et.al.] // *Nucleic Acids Research*. — 2003. — Vol. 31, № 1. — P. 298-303.
108. Rhee, S. Y. HIV-1 protease mutations and protease inhibitor cross-resistance / S. Y. Rhee, J. Taylor, W. J. Fessel [et.al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2010. — Vol. 54, № 10. — P. 4253-4261.
109. Rhee, S. Y. HIV-1 Drug Resistance Mutations: Potential Applications for Point-of-Care Genotypic Resistance Testing / S. Y. Rhee, M. R. Jordan, E. Raizes [et.al.] // *The Public Library of Science*. — 2015. — Vol. 10, № 12. — 17 p.
110. 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 / S. Y. Rhee, J. L. Blanco, M. R. Jordan [et.al.] // *The Public Library of Science Medicine*. — 2015. — Vol. 12, № 4. — 29 p.
111. Rhee, S. Y. HIV-1 Protease, Reverse Transcriptase, and Integrase Variation / S. Y. Rhee, K. Sankaran, V. Varghese [et.al.] // *Journal of Virology*. — 2016. — Vol. 90, № 13. — P. 6058-6070.
112. 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 / L. Rimsky, J. Vingerhoets, V. Van Eygen [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2012. — Vol. 59, № 1. — P. 39-46.
113. Rizzardini, G. Long-Acting Injectable Cabotegravir + Rilpivirine for HIV Maintenance Therapy: Week 48 Pooled Analysis of Phase 3 ATLAS and FLAIR Trials / G. Rizzardini, E. T. Overton, C. Orkin [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2020. — Vol. 85, № 4. — P. 498-506.
114. Rosen, S. The net cost of incorporating resistance testing into HIV/AIDS treatment in South Africa: a Markov model with primary data / S. Rosen, L. Long, I. Sanne [et.al.] // *Journal of the International AIDS Society*. — 2011. — Vol. 14. — 24 p.

115. Ruxrungtham, K. Impact of reverse transcriptase resistance on the efficacy of TMC125 (etravirine) with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in protease inhibitor-naïve, nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced patients: study TMC125-C227 / K. Ruxrungtham, R. J. Pedro, G. H. Latiff [et.al.] // *HIV Medicine*. — 2008. — Vol. 9, № 10. — P. 883-896.
116. Sarafianos, S. G. Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition / S. G. Sarafianos, B. Marchand, K. Das [et.al.] // *Journal of Molecular Biology*. — 2009. — Vol. 385, № 3. — P. 693-713.
117. Schmidt, D. Estimating trends in the proportion of transmitted and acquired HIV drug resistance in a long term observational cohort in Germany / D. Schmidt, C. Kollan, G. Fätkenheuer [et.al.] // *The Public Library of Science*. — 2014. — Vol. 9, № 8. — 12 p.
118. Schmit, J. C. Resistance-related mutations in the HIV-1 protease gene of patients treated for 1 year with the protease inhibitor ritonavir (ABT-538) / J. C. Schmit, L. Ruiz, B. Clotet [et.al.] // *AIDS*. — 1996. — Vol. 10, № 9. — P. 995-999.
119. Schultz, A. K. jpHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus / A. K. Schultz, I. Bulla, M. Abdou-Chekaraou [et.al.] // *Nucleic Acids Research*. — 2012. — Vol. 40. — P. 193-198.
120. Schultze, A. HIV resistance testing and detected drug resistance in Europe / A. Schultze, A. N. Phillips, R. Paredes [et.al.] // *AIDS*. — 2015. — Vol. 29, № 11. — P. 1379-89.
121. SeqMan II expert sequence analysis software. — 2022. — URL : www.dnastar.com/t-seqmanpro.aspx (дата обращения 14.01.2012)
122. Sethi, Ajay K. Association between Adherence to Antiretroviral Therapy and Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance / A. K. Sethi, D. D. Celentano, S. J. Gange [et.al.] // *Clinical Infectious Diseases*. — 2003. — Vol. 37, № 8. — P. 1112-1118.
123. Shafer, R. W. Rationale and uses of a public HIV drug-resistance database / R. W. Shafer [et.al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. — 2006. — Vol. 194 Suppl 1, № Suppl 1. — P. 51-58.

124. Slideshare. HIV drug resistance and its managment. — 2022. — URL : <https://www.slideshare.net/mikhin/hiv-drug-resistance-and-its-management> (дата обращения 05.09.2022)
125. Smith, S. J. Efficacies of Cabotegravir and Bictegravir against drug-resistant HIV-1 integrase mutants / S. J. Smith, X. Z. Zhao, T. R. Burke [et.al.] // *Retrovirology*. — 2018. — Vol. 15, № 1. — 37 p.
126. Stadeli, K. M. Rates of emergence of HIV drug resistance in resource-limited settings: a systematic review / K. M. Stadeli, D. D. Richman [et.al.] // *Antiviral Therapy*. — 2013. — Vol. 18, № 1. — P. 115-123.
127. STANFORD HIV DRUG RESISTANCE DATABASE Major HIV-1 Drug Resistance Mutations – 2022. – URL: <https://cms.hivdb.org/prod/downloads/resistance-mutation-handout/resistance-mutation-handout.pdf> (дата обращения: 07.12.2022).
128. Struck, D. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification / D. Struck, G. Lawyer, A. M. Ternes [et.al.] // *Nucleic Acids Research*. — 2014. — Vol. 42, № 18. — 11 p.
129. Tostevin, A. Recent trends and patterns in HIV-1 transmitted drug resistance in the United Kingdom / A. Tostevin, E. White, D. Dunn [et.al.] // *HIV Medicine*. — 2017. — Vol. 18, № 3. — P. 204-213.
130. Turner, D. Multiple effects of the M184V resistance mutation in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 / D. Turner, B. Brenner, M. A. Wainberg [et.al.] // *Clinical and Vaccine Immunology*. — 2003. — Vol. 10, № 6. — P. 979-981.
131. Van Cleef, G. F. Drug interaction potential with inhibitors of HIV protease / G. F. Van Cleef, E. J. Fisher, R. E. Polk [et.al.] // *Pharmacotherapy*. — 1997. — Vol. 17, № 4. — P. 774-778.
132. van de Vijver, D. A. The calculated genetic barrier for antiretroviral drug resistance substitutions is largely similar for different HIV-1 subtypes / D. A. van de Vijver, A. M. Wensing, G. Angarano [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2006. — Vol. 41, № 3. — P. 352-360.

133. Venkatakrishnan, B. Mining the protein data bank to differentiate error from structural variation in clustered static structures: an examination of HIV protease / B. Venkatakrishnan, M. L. Pali, M. Agbandje-McKenna [et.al.] // *Viruses*. — 2012. — Vol. 4, № 3. — P. 348-362.
134. Viswanathan, S. Adherence and HIV RNA Suppression in the Current Era of Highly Active Antiretroviral Therapy / S. Viswanathan, A. C. Justice, G. C. Alexander [et.al.] // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. — 2015. — Vol. 69, № 4. — P. 493-498.
135. von Wyl, V. Emergence of HIV-1 drug resistance in previously untreated patients initiating combination antiretroviral treatment: a comparison of different regimen types / V. von Wyl, S. Yerly, J. Böni [et.al.] // *Archives of Internal Medicine*. — 2007. — Vol. 167, № 16. — P. 1782-1790.
136. Vonk, J. The Oxford handbook of comparative evolutionary psychology / J. Vonk, T. Shackelford. — New York : Oxford University Press, 2012. - 574 p. — ISBN 97801997381820199738181.
137. Wainberg, M. A. The impact of the M184V substitution on drug resistance and viral fitness / M. A. Wainberg [et.al.] // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. — 2004. — Vol. 2, № 1. — P. 147-151.
138. Wainberg, M. A. HIV-1 resistance to dolutegravir: update and new insights / M. A. Wainberg, Y. S. Han [et.al.] // *Journal of Virus Eradication*. — 2015. — Vol. 1, № 1. — P. 13-6.
139. Wei, X. Negative effect of the M184V mutation in HIV-1 reverse transcriptase on initiation of viral DNA synthesis / X. Wei, C. Liang, M. Götte [et.al.] // *Virology*. — 2003. — Vol. 311, № 1. — P. 202-12.
140. Weinheimer, S. Atazanavir signature I50L resistance substitution accounts for unique phenotype of increased susceptibility to other protease inhibitors in a variety of human immunodeficiency virus type 1 genetic backbones / S. Weinheimer, L. Discotto, J. Friberg [et.al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2005. — Vol. 49, № 9. — P. 3816-24.

141. Wensing, A. M. 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1 / A. M. Wensing, V. Calvez, F. Ceccherini-Silberstein [et.al.] // Topics in Antiviral Medicine. — 2019. — Vol. 27, № 3. — P. 111-121.
142. White, A. B. Antiretroviral interventions for preventing breast milk transmission of HIV / A. B. White, J. F. Mirjahangir, H. Horvath [et.al.] // Cochrane Library: Cochrane Reviews. — 2014. № 10. — 3 p.
143. World health organization (WHO). HIV drug resistance report 2012 : technical report : official site. — 2012. — URL : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75183/9789241503938_eng.pdf (дата обращения: 09.03.2022).
144. World health organization (WHO). HIV drug resistance strategy: 2021 update : technical report : official site. — 2021. — URL : <https://www.hivresist.ru/dokumenty/files/2021%20WHO,%20HIV%20drug%20resistance%20strategy.pdf> (дата обращения: 09.03.2022).
145. Wittkop, L. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study / L. Wittkop, H. F. Günthard, F. de Wolf [et.al.] // Lancet. — 2011. — Vol. 11, № 5. — P. 363-371.
146. Wu, Y. HIV-1 gene expression: lessons from provirus and non-integrated DNA / Y. Wu [et.al.] // Retrovirology. — 2004. — Vol. 1. — 13 p.
147. Xie, Y. N. Distribution characteristics of drug resistance mutations of HIV CRF01_AE, CRF07_BC and CRF08_BC from patients under ART in Ganzhou, China / Y. N. Xie, F. X. Zhu, Y. T. Zhong [et.al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 2021. — Vol. 76, № 11. — P. 2975-2982.
148. Xu, H. T. Differential impact of the HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor mutations K103N and M230L on viral replication and enzyme function / H. T. Xu, M. Oliveira, Y. Quan [et.al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 2010. — Vol. 65, № 11. — P. 2291-2299.

149. Young, T. P. Prevalence, mutation patterns, and effects on protease inhibitor susceptibility of the L76V mutation in HIV-1 protease / T. P. Young, N. T. Parkin, E. Stawiski [et.al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2010. — Vol. 54, № 11. — P. 4903-4906.
150. Zaccarelli, M. Factors related to virologic failure among HIV-positive injecting drug users treated with combination antiretroviral therapy including two nucleoside reverse transcriptase inhibitors and nevirapine / M. Zaccarelli, A. Barracchini, P. De Longis [et.al.] // *AIDS Patient Care STDS*. — 2002. — Vol. 16, № 2. — P. 67-73.
151. Zhang, F. The Chinese free antiretroviral treatment program: challenges and responses / F. Zhang, J. E. Haberer, Y. Wang [et.al.] // *Aids*. — 2007. — Vol. 21, № 8. — P. 143-148.
152. Zhao, S. Prevalence of Transmitted HIV drug resistance in antiretroviral treatment naïve newly diagnosed individuals in China / S. Zhao, Y. Feng, J. Hu, Y. Li [et.al.] // *Scientific Reports*. — 2018. — Vol. 8, № 1. — 8 p.
153. Zheng, H. Incidence and risk factors for AIDS-related mortality in HIV patients in China: a cross-sectional study / H. Zheng, L. Wang, P. Huang [et.al.] // *BMC Public Health*. — 2014. — Vol. 14. — 9 p.
154. Zheng, M. Y. Physician barriers to successful implementation of US Preventive Services Task Force routine HIV testing recommendations / M. Y. Zheng, A. Suneja, A. L. Chou [et.al.] // *Journal of the International Association of Providers of AIDS Care*. — 2014. — Vol. 13, № 3. — P. 200-205.
155. Zhu, P. Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes / P. Zhu, J. Liu, J. Bess [et.al.] // *Nature*. — 2006. — Vol. 441, № 7095. — P. 847-852.

Приложение А

(справочное)

Перечень аббревиатур аминокислот

Таблица 1 - Перечень аббревиатур аминокислот

Аббревиатура однобуквенного кода	Аббревиатура трехбуквенного кода	Аминокислота
A	Ala	Аланин
C	Cys	Цистеин
D	Asp	Аспарагиновая кислота
E	Glu	Глутаминовая кислота
F	Phe	Фенилаланин
G	Gly	Глицин
H	His	Гистидин
I	Ile	Изолейцин
K	Lys	Лизин
L	Leu	Лейцин
M	Met	Метионин
N	Asn	Аспарагин
P	Pro	Пролин
Q	Gln	Глутамин
R	Arg	Аргинин
S	Ser	Серин
T	Thr	Треонин
V	Val	Валин
W	Trp	Триптофан
Y	Tyr	Тирозин
Z	Gln	Глутамин

Приложение Б

(справочное)

Перечень антиретровирусных препаратов и обозначающих их сокращений

Таблица 1 - Перечень антиретровирусных препаратов и обозначающих их сокращений

Международное название препарата	Сокращение
1. Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ)	
Зидовудин	AZT/ZDV
Диданозин	ddI
Ставудин	d4T
Ламивуди	3TC
Абакавир	ABC
Тенофовир	TDF
Эмтрицитабин	FTC
Фосфазид	Ph-AZT
Тенофовира алафенамид	TAF
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ)	
Эфавиренц	EFV
Невирарпин	NVP
Этравирин	ETV
Рилпивирин	RPV
Доравирин	DOR
Элсульфавирин	ESV
Ингибиторы протеазы	
Саквинави	SQV
Ритонавир	RTV
Атазанавир	ATV
Фосампренавир	APV/FPV
Типранавир	TPV

Продолжение таблицы 1

Международное название препарата	Сокращение
Дарунавир	DRV
Ингибиторы интегразы	
Ралтегравир	RAL
Долутегравир	DTG
Каботегравир	CAB
Биктегравир	BIC
Элвитегравир	EVG
Каботегравир пролонгированного действия	CAB-LA