

Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека и антиретровирусная терапия

М.Р. БОБКОВА

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Лекция посвящена анализу современного состояния вопроса о влиянии генетического разнообразия вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ) на характер течения инфекции и эффективность антиретровирусной терапии (АРВТ). Приводятся краткие сведения о происхождении и эволюции ВИЧ, современной классификации их генетических вариантов. Охарактеризована молекулярно-эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в России и сопредельных государствах, основные молекулярные варианты ВИЧ, доминирующие на территории этих стран, их происхождение и динамика распространения. Дан сжатый обзор возможных способов влияния разнообразия ВИЧ на эффективность диагностики, трансмиссивность вируса, характер патогенеза. Приведены сравнительные данные мировой научной литературы по этим вопросам. Более детальное внимание уделено возможным причинам неодинаковой эффективности терапии в отношении разных подтипов ВИЧ, а также особенностям формирования и фенотипического проявления мутаций лекарственной устойчивости к препаратам АРВТ. Обоснована необходимость формирования единой системы наблюдений за лечением ВИЧ-инфицированных пациентов в условиях масштабирования АРВТ, в том числе в целях оценки влияния особенностей генома ВИЧ на действенность схем лечения, применяемых в России.

Ключевые слова: ВИЧ, генетические варианты, антиретровирусная терапия, лекарственная устойчивость.

Genetic diversity of human immunodeficiency viruses and antiretroviral therapy

M.R. BOBKOVA

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Honorary Acad. N.F. Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

The lecture is devoted to the analysis of the state-of-the-art of the impact of genetic diversity of human immunodeficiency (HIV) viruses on the pattern of infection and the efficiency of antiretroviral therapy (ART). It provides brief information on the origin and evolution of HIV and on the current classification of their genetic variants. The molecular epidemiological situation of HIV infection in Russia and nearby states and the major molecular HIV variants that are dominant in these countries, as well as their origin and prevalence trends are characterized. How the diversity of HIV can affect the efficiency of diagnosis, the transmission of the virus, and the pattern of HIV pathogenesis are briefly reviewed. The comparative data available in the world's scientific literature on these topics are given. More detailed attention is given to the possible causes of varying therapeutic effects against different HIV subtypes, as well as to the specific features of the formation and phenotyping manifestation of ART drug resistance mutations. There is evidence for the necessity of forming a unified follow-up system for treated HIV-infected patients during ART scaling, including in an effort to evaluate the impact of the specific features of the HIV genome on the efficiency of treatment regimens used in Russia.

Keywords: HIV, genetic variants, antiretroviral therapy, drug resistance.

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека
ВН — вирусная нагрузка
ИФА — иммуноферментный анализ
ЛУ — лекарственная устойчивость
НИОТ — нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
ННИОТ — ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы

ПИН — потребители инъекционных наркотиков
CRFs — циркулирующие рекомбинантные формы
MTCT — передача ВИЧ от матери ребенку
NFV — нелфинавир
NVP — невирапин
URFs — уникальные рекомбинантные формы

Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ) — следствие его повышенной мутационной активности, которая в свою очередь связана с особенностями способа размножения вируса, использующего в цикле репликации обратную транскриптазу. Результатом частых «ошибок» этого фермента является формирование неоднородной популяции вирусов даже в пределах организма хозяина-человека (от 1 до 10% различий в последовательности генома) [1, 2]. Вторым важным источником вариативности ВИЧ служит его склонность к рекомбинационным процессам, при которых вирусы, по-

падающие в одну и ту же клетку, обмениваются участками своих геномов [3, 4]. Оба эти процесса, принципиально своиственные и другим вирусам, применительно к ВИЧ усилены чрезвычайно высокой скоростью размножения вируса в клетке и составляют основу его эволюционирования.

Контактная информация:

Бобкова Марина Ридовна — д.б.н., зав. лаб. вирусов лейкозов, зав. отд. общей вирусологии; 123098 Москва, ул. Гамалеи, 18; тел./факс: +7(499)190-3063; e-mail: mrbobkova@mail.ru

Значительная изменчивость ВИЧ в сочетании с различными социальными явлениями, в первую очередь миграцией населения всех стран, привела к формированию основных филогенетических групп, распространившихся по миру неравномерно. В результате неоднократной реализации зоонозного пути проникновения вируса в человеческую популяцию от природных хозяев — шимпанзе попали вирусы, принадлежащие к четырем группам — М, N, О и Р (рис. 1) [5]. Большинство случаев заражения ВИЧ в мире вызвано вирусами группы М, которые в ходе дальнейшей дивергенции дали начало нескольким подтипам А, В, С, D, F, G, H, J и K, нескольким под-подтипам (A1—A4 и F1—F2), многочисленным циркулирующим рекомбинантным формам (CRFs) и бесчисленному количеству уникальных рекомбинантных форм (URFs) [1, 6].

Степень различий подтипов ВИЧ между собой достигает 40%, в пределах одного подтипа она также очень высока и составляет от 10 до 20% [1]. Наблюдения, проводимые в отдельных географических регионах, как правило, демонстрируют увеличение генетической дистанции в пределах одного и того же варианта вируса с течением времени; этот показатель зависит также от пути передачи вируса и бывает максимален в группах лиц, заразившихся гетеросексуальным путем [7]. Доля рекомбинантных форм в общей структуре пандемии ВИЧ-инфекции также неуклонно возрастает и достигает в настоящий момент 20% [1]. По данным на апрель 2016 г., число зарегистрированных CRFs в базе данных Лос-Аламоса, США составляло 79 (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>). При этом многие из них являются двойными рекомбинантами, т.е. производными ранее зарегистрированных подтипов и рекомбинантов, либо представляют собой мозаичные формы, т.е. включают участки геномов нескольких подтипов. Подробно об эволюции и молекулярной эпидемиологии ВИЧ можно прочесть в многочисленных обзорных статьях на эту тему [1, 3, 5, 6, 8—10].

В России масштабная эпидемия началась в середине 90-х годов прошлого века и характеризовалась исключительно быстрым распространением ВИЧ-1 подтипа А (вариант IDU-A, он же A_{FSU}) практически из одного источника, имеющего происхождение из Демократической Республики Конго [11], причем основной группой заражения стали потребители инъекционных наркотиков (ПИН). В начале 2000-х годов в страны Центральной Азии проник рекомбинантный вариант CRF02_AG из Камеруна (D. Paraskevis, личное сообщение, в печати), который также стремительно вызвал эпидемию среди ПИН и вскоре после этого начал с возрастающей частотой встречаться в России. История этого вопроса подробно освещена во многих публикациях [11—13], здесь же отметим лишь, что в настоящее время эти два генетических варианта, сохраняя высокую генетическую гомогенность, а также их производные, доминируют в России и СНГ, причем обнаруживаются в равной степени как среди ПИН, так и среди лиц, заразившихся гетеросексуальным путем.

Таким образом, разнообразие ВИЧ в России по причинам объективного характера имеет тенденцию к увеличению. На протяжении всего периода изучения ВИЧ тема влияния вариативности вируса на его эпидемиологические и биологические характеристики не могла не волновать ученых, и в данной краткой лекции будут описаны некоторые результаты соответствующих исследований, а

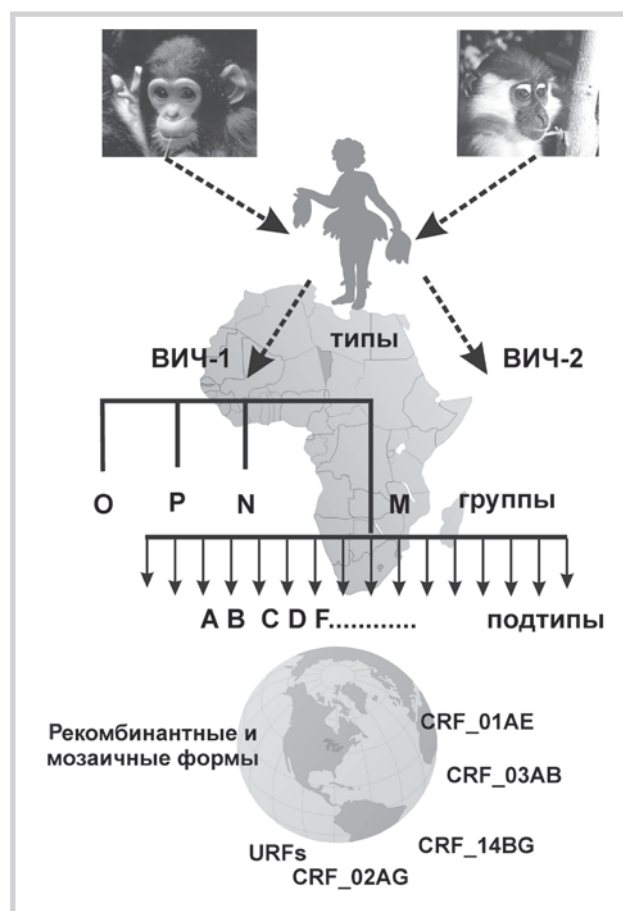


Рис. 1. Происхождение и эволюция основных генетических форм ВИЧ-1.

ВИЧ-1, вызвавший пандемию в мире, включает 4 группы — М, N, О и Р; первые три соответствуют трем независимым заносам вируса шимпанзе (SIVcpz) в популяцию людей, последний (SIVgor), по-видимому, является результатом межвидового заражения горилл вирусом шимпанзе с последующей передачей человеку [1, 3, 5, 8—10]. Группы N и О представлены немногими случаями, регистрируемыми в Камеруне и соседних странах [5]. Группа Р выявлена в 2009 г. всего у 2 пациентов также в Камеруне. Формирование подтипов ВИЧ-1 началось около 1960 г. и привело к существованию девяти подтипов (А—D, F—H, J, K), под-подтипов (A1—A4, F1, F2) и циркулирующих рекомбинантных форм (CRFs) (на 2016 г. зарегистрировано 79 CRFs, <http://www.hiv.lanl.gov/>).

также поставлены задачи будущих изысканий, способные дать практический выход.

Основные вопросы, связанные с генетическим разнообразием ВИЧ, носили практический характер и выглядели примерно так:

— одинаково ли выявляются разные варианты ВИЧ серологическими методами (иммуноферментный анализ — ИФА и иммуноблот)?

— одинакова ли чувствительность молекулярных тестов для выявления провирусной ДНК и оценки количества РНК (вирусной нагрузки — ВН) в отношении всех вариантов?

— различаются ли генетические варианты ВИЧ (далее этот термин будет применяться для обозначения всех подтипов и рекомбинантов) по своей способности к передаче вируса в популяции людей (трансмиссивности)? Зависит ли это от пути передачи?

— есть ли особенности патогенеза ВИЧ-инфекции, вызванной разными вариантами ВИЧ?

— одинакова ли эффективность АРВТ для разных вариантов ВИЧ?

— как связана вариабельность ВИЧ с лекарственной устойчивостью (ЛУ) вируса?

Диагностика. Вопрос о чувствительности серологических диагностических тестов для установления диагноза ВИЧ-инфекции разрешился уже в первые годы их применения, и в настоящее время можно с уверенностью констатировать, что все существующие коммерческие ИФА-тесты, включая иммуноблотинг, выявляют все варианты доминирующей в мире группы М ВИЧ с одинаковой эффективностью. Некоторые данные указывают на существование затруднений при выявлении вирусов группы О, не имеющей заметного распространения за пределами Африки [6].

Несколько сложнее обстояло дело с молекулярными тестами — качественными (для провирусной ДНК ВИЧ) и количественными (для определения ВН). В основе таких тестов всегда заложено использование зондов и праймеров — коротких молекул нуклеиновых кислот, имеющих комплементарное сродство к природным молекулам, содержащим последовательности генома ВИЧ, и на определенных этапах анализа выполняющих роль специфического распознавания мишени — ДНК или РНК ВИЧ. Очевидно, что любые изменения в геноме ВИЧ, происходящие в составе участка распознавания, могут в той или иной степени повлиять на эффективность взаимодействия с зондом либо праймером.

В первые годы применения тестов (1999—2001) для выявления провирусной ДНК на российском рынке существовал единственный тест — Amplicor HIV-1, разработанный компанией «Roche Diagnostics» и ориентированный на применение в странах Запада, где широко распространен подтип В ВИЧ. Как показано ранее [14], чувствительность этого теста в России, где с начала масштабной эпидемии преобладал подтип А, составляла чуть более 50%, при этом прогностическая ценность отрицательного результата составляла 82%. Это означало, что 18 из 100 ВИЧ-инфицированных детей не получали истинного диагноза в ранние сроки. Аналогичные полученным в данной работе сведения поступали в то время и из других стран [15, 16], прежде всего африканских, где подтип В практически не встречается среди коренного населения. Следствием такой ситуации стала большая работа, проведенная компанией в целях адаптации тест-систем ко всем вариантам вируса; к этой работе подключились и другие компании, производящие аналогичную продукцию, и с тех пор разработка праймеров и зондов для всех молекулярных систем проводится с учетом генетического разнообразия ВИЧ, что в целом привело к нивелированию различий при выявлении ДНК ВИЧ.

Те же правила применялись и при разработке тестов для ВН, при этом большинством разработчиков признано, что наиболее подходящей мишенью является ген *pol*, особенно в его наиболее консервативном участке, кодирующем интегразу вируса. Результатом этой работы стало создание нескольких одновременно используемых в мире тест-систем, определяющих РНК ВИЧ в линейном диапазоне от 40 до 10 000 000 копий/мл приблизительно одинаково надежно для всех вирусов группы М; некоторые

проблемы с чувствительностью сохраняются в отношении групп О, N и Р [17].

Эпидемиология. Сравнение эпидемического потенциала подтипов ВИЧ представляет собой непростую задачу, и ясности в этом вопросе пока меньше, чем в предыдущих. Главная причина этого заключается в том, что, как ранее упоминалось, генетические варианты вируса распределены по миру неравномерно, и в разных географических зонах преобладают разные подтипы и рекомбинантные формы ВИЧ. Так, подтип В характерен для экономически развитых стран Европы и Северной Америки, Австралии, Японии, тогда как наиболее многочисленный подтип С сосредоточен в Индии и Южной Африке (рис. 2). Больше всего научных данных по понятным причинам получено о подтипе В ВИЧ-1. Поэтому все остальные варианты ВИЧ-1 нередко объединяют наименованием неВ-подтипы, после чего сравнения проводят между В- и неВ-группами.

Первоначальное распределение вариантов ВИЧ-1 в мире стало результатом миграции населения и, по всей очевидности, в первую очередь определялось не свойствами вируса (например, репликативной способностью), а феноменом, который в теории эволюции называется «эффект основателя». Иными словами, на каждой из территорий прежде других распространялся тот вариант, который попал на нее первым. Этот эффект, свойственный всем социально значимым инфекциям, приводил к дальнейшей дивергенции вирусов в пределах исходного генетического варианта.

Именно по этой причине сравнение трансмиссивных свойств ВИЧ, присущих разным подтипам, затруднено присутствием дополнительных обстоятельств — неодинаковостью этнического состава сравниваемых групп людей, культурными особенностями, отношением к лечению, а также различием генетически предопределяемых факторов иммунной системы, детерминирующих характер ее взаимодействия с вирусом на этапах заражения и развития. Достоверных исследований, в которых удалось сравнить близкие по большинству показателей группы людей, живущих в одном и том же регионе и инфицированных разными вариантами ВИЧ, немного, но некоторые выводы из них все же можно сделать.

Так, продолжительные наблюдения, проведенные в Таиланде, позволили отдать предпочтение при передаче рекомбинанту CRF01_AE в сравнении с подтипом В при употреблении внутривенных наркотиков [18]. В Уганде исследование дискордантных пар продемонстрировало существенно более высокую вероятность передачи вирусов подтипа А по сравнению с D в случае заражения гетеросексуальным путем [19].

Различия между подтипами могут быть обусловлены использованием разных корецепторов ВИЧ-1 — CCR5 или CXCR4. Существование такого феномена подтверждено при исследовании подтипа D в сравнении с другими вариантами, распространенными в Уганде [20], при этом вирусы подтипа D гораздо чаще других имели фенотип CXCR4.

В нескольких работах сравнивали вероятность передачи ВИЧ от матери к ребенку (mother to child transmission — МТСТ), при этом получены противоположные по смыслу результаты, например, в Кении вирусы подтипа D передавались чаще вирусов подтипа А [21], в то время как

в Танзании вирусы подтипа D заняли последнее место по частоте МТСТ [22]. Другие авторы не находили достоверной связи между подтиповой принадлежностью ВИЧ и частотой МТСТ [23].

Относительно гетеросексуальной передачи ВИЧ сведения носят отрывочный характер; исследований, сравнивающих варианты ВИЧ в регионах, где они совместно циркулируют, почти нет. Так, в Юго-Восточной Азии этим путем передается преимущественно рекомбинант CRF01_AE, а в странах Африки аналогичную роль играет CRF02_AG [1]; в Уганде вирусы подтипа А опережали подтип D среди гетеросексуалов [19].

Очевидно, что сравнивать все перечисленные и подобные им исследования не представляется возможным. В целом приходится констатировать, что окончательных подтверждений существования связи между генетическими вариантами ВИЧ и эффективностью передачи вируса при реализации всех возможных ее путей пока не существует. Для решения этого вопроса еще предстоит исключить влияние прочих факторов, таких как поведенческие, эпидемиологические и иммунологические (генетические) особенности исследованных популяций людей [6, 24], а для этого понадобится выполнить сравнительное изучение обширных групп людей, проживающих в одном регионе, принадлежащих к одной этнической группе и имеющих сходный образ жизни.

Патогенез. В сравнительных исследованиях, посвященных патогенезу ВИЧ-инфекции, в качестве основных сравниваемых параметров обычно используют скорость снижения числа Т-лимфоцитов CD4⁺ и продолжительность периода до наступления симптомов СПИДа. Несколько независимых работ подтвердили, что по обоим этим показателям подтип D опережает остальные варианты ВИЧ [19, 25], при этом скорость снижения числа Т-лимфоцитов CD4⁺ у него в 4 раза выше; возможно, что

обусловлено наличием у этих вирусов тропности к рецепторам CXCR4 [20].

Обзорный анализ, в котором объединены данные, полученные в разных исследованиях с 1996 по 2010 г., таким образом расположил генетические варианты в порядке убывания агрессивности: С и D > G, CRF01_AE и CRF02_AG > A [26].

Тяжелые осложнения, например деменция [27], также характерны в первую очередь для пациентов, зараженных вирусами подтипа D. В опытах на моделях животных более выраженное нейродегенеративное действие проявляли вирусы подтипы В по сравнению с С [28].

Другим высокопатогенным вариантом оказался рекомбинант CRF14_BG [6, 29], получивший широкое распространение в Испании; доля CXCR4-тропных вирусов среди представителей этого варианта составила 78,9%.

Следует еще раз подчеркнуть, что на достоверности выводов подобных исследований всегда отражаются другие медицинские и околomedicalные факторы, такие как доступ к лечению, характер питания, особенности генетики человека и пр.

В единственном сравнительном исследовании, учитывающем все эти факторы и проведенном в Уганде — регионе, характеризующимся множественностью циркулирующих вариантов ВИЧ, вновь наименее агрессивным признан подтип А ВИЧ-1 [30]. Вероятность достижения уровня CD4⁺ менее 250 кл/мкл для этого подтипа составила 20%, в то время как для других вариантов колебалась от 40 до 53%. Время до наступления признаков СПИДа для подтипа А составило в среднем 8,05 года, для неА-вариантов — от 5,80 до 6,49 года ($p=0,022$).

Лечение. К моменту появления высокоактивных средств лечения больных с ВИЧ-инфекцией о существовании подтипов ВИЧ уже давно известно, и вопрос о различиях между ними в отношении эффективности лекар-

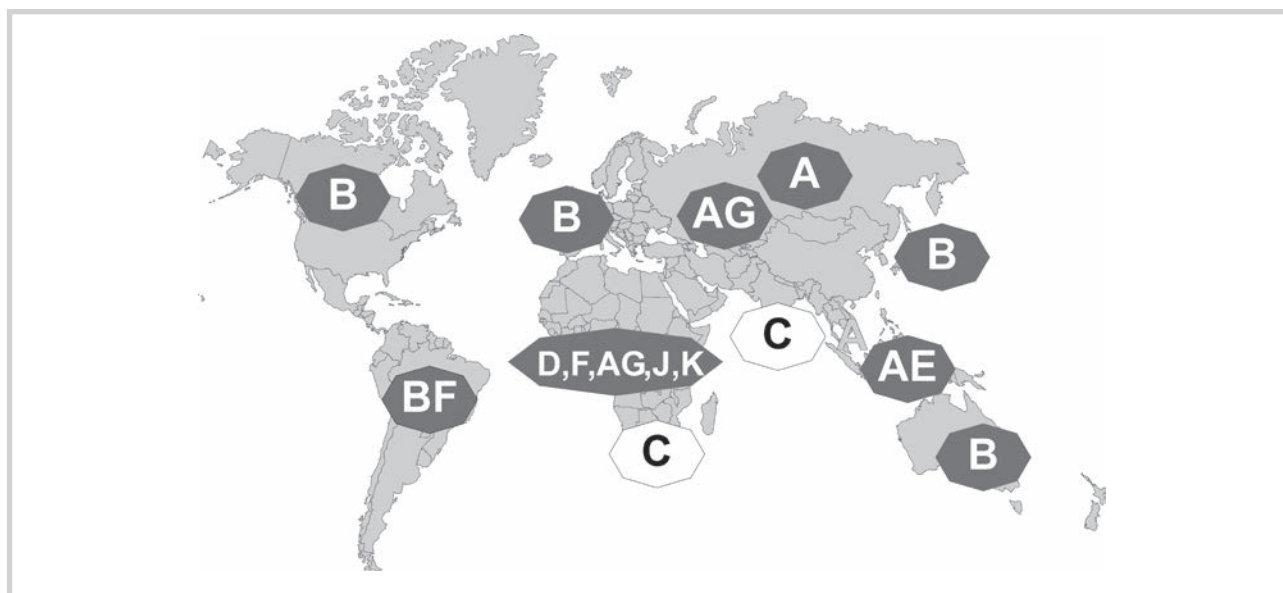


Рис. 2. Распространенность генетических вариантов ВИЧ в мире.

ВИЧ-1 подтипа В доминирует в Европе, Австралии, странах Северной Америки и Японии [1, 3, 8]. В наиболее пораженных ВИЧ-1 странах Южной Африки и Индии преобладает подтип С. В Африке, и в первую очередь Камеруне и Демократической Республике Конго, т.е. в тех регионах, откуда происходит ВИЧ, можно встретить все подтипы и основные CRFs. В некоторых странах, например Юго-Восточной Азии или Бразилии, доминируют CRF01_AE и несколько BF-рекомбинантов, соответственно [5, 8].

ственных препаратов встал незамедлительно. Известно, что наиболее хорошо изученный подтип В ВИЧ-1 не является самым распространенным в мире; его доля в общей структуре пандемии составляет всего около 10%, между тем как подтип С составляет до 50% случаев заражения, а подтип А и CRF02_AG — 8—12% [1, 26]. Внедрение широкомасштабных программ лечения больных с ВИЧ-инфекцией в странах с максимальным ее распространением (Африка, Индия, Южная Америка) потребовало информации об эффективности средств АРВТ в отношении неВ-подтипов ВИЧ-1; с увеличением доли мигрантов в экономически развитых странах этот вопрос стал еще более актуальным.

Все исследования, проведенные с тех пор, носили ретроспективный характер и в большинстве случаев сравнивали между собой ответ на лечение между В и неВ-подтипами ВИЧ-1. Это намеренно упрощало анализ и в то же время снижало ценность полученной информации. Объем исследований обычно не превышал 300 пациентов; статистическая мощность, как правило, была ограниченной; в пределах каждого исследования схемы лечения пациентов были одинаковыми, однако между исследованиями они различались.

В качестве показателей эффективности терапии для сравнения чаще всего применялись срок снижения ВН до неопределяемого (как основная цель лечения) и доля успешных случаев (т.е. недостаточного снижения ВН либо ее возврата после периода недетектируемости вируса).

Суммируя все немногочисленные результаты подобных сравнений, можно заключить, что для достижения вирусологического эффекта при всех подтипах ВИЧ требуется примерно одинаковое время [31, 32]. О вероятности возвращения ВН между подтипами сведения существенно различались: по одним данным [32] статистических различий не обнаружено, а в других работах [33] отсутствие вирусологического эффекта в сочетании с замедленным ростом числа Т-клеток CD4⁺ чаще наблюдалось в случаях заражения вирусом подтипа С. Авторы этих работ отмечали отсутствие возможности достоверного учета соблюдения пациентами схемы назначенного лечения.

Одна из немногих больших работ выполнена в Великобритании с участием 2116 пациентов [33], при этом использован дифференцированный подход с отдельным анализом инфекций, вызванных вирусами подтипов А, В, С, D и рекомбинанта CRF02_AG. Наиболее употребляемая схема лечения включала зидовудин, ламивудин и эфавиренц. Около 90% пациентов достигали неопределяемой ВН в течение 12 мес, при этом у 18% из них в последующем отмечено возвращение вируса, независимо от генетического варианта, вызвавшего инфекцию. Увеличение числа Т-клеток CD4⁺ у всех подтипов было одинаковым.

В противоречие с этими данными вступили результаты ретроспективного сравнительного анализа лечения 4729 пациентов, инфицированных вирусами подтипа В, и 539 с неВ-подтипами, также проведенное в Лондоне. В нем фигурировали те же генетические варианты ВИЧ, что и в работе [33], — подтипы А, С, а также рекомбинанты CRF01_AE и CRF02_AG. Как обнаружили авторы, отсутствие вирусологического эффекта существенно чаще встречается при заражении вирусом подтипа В (4,3/100 человек/год), чем в случаях инфицирования неВ-подтипами (1,8/100 человек/год) [34], при этом самый

низкий риск отсутствие вирусологического эффекта отмечен у подтипа А и CRF02_AG.

Все указанные исследования, как правило, не учитывали особенностей схемы применяемого лечения и оценивали его эффект в целом; отмечалось лишь, что в качестве базовых препаратов использовали стандартные наборы нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ). Между тем в других работах появились указания на то, что характер АРВТ также следует принимать в расчет при сравнении ее эффективности. Например, в работах, выполненных в Израиле в группе пациентов, получающих калетру (лопинавир/ритонавир), восстановление числа Т-клеток CD4⁺ у пациентов, инфицированных вирусом подтипа В, происходило значительно быстрее, чем при заражении вирусом подтипа С [35].

Исследования с участием современных препаратов АРВТ — ралтегравира [36], этравина [37] и дарунавира [38] по сравнению со «старыми» препаратами — эфавиренцем и калетрой продемонстрировали, что в любых комбинациях эти препараты дают практически одинаковые результаты в группах пациентов, инфицированных вирусами В- и неВ-подтипа [39]. Эти последние исследования, выполненные в ходе клинических испытаний, были многоцентровыми и рандомизированными, а значит надежность их результатов несколько выше проведенных ранее.

Таким образом, анализируя данные по эффективности АРВТ в отношении разных генетических вариантов ВИЧ, мы вновь сталкиваемся с противоречиями и недостаточностью достоверных наблюдений. Единственным и уже классическим примером в этом вопросе остается ВИЧ-2 и его отношения с препаратами из класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) [40]. Известно, что эти препараты практически полностью неэффективны против ВИЧ-2, и причина этого феномена связана с особенностями структуры активного центра фермента [41], которая препятствует его взаимодействию с молекулами ННИОТ, имеющими высокое химическое сродство внутри класса ингибиторов.

Результаты сравнений между генетическими вариантами ВИЧ-1 не дают возможности сделать вывод о существовании глобальных различий между ними. Тем не менее, по нашему мнению, наиболее убедительными из них выглядят те, которые сделаны в ходе наблюдений за эффективностью индивидуальных препаратов в конкретных географических регионах и в порядке проведения многофакторного анализа нивелировали особенности, связанные со способом заражения, социально-культурными особенностями, соблюдением назначенных схем лечения. Примером может быть исследование в Гане, где анализ эффективности нелфинавира (NFV) продемонстрировал сниженную чувствительность CRF02_AG по сравнению с подтипом В [42]. В России, где доминируют всего два генетических варианта ВИЧ-1 — подтип А и рекомбинант CRF02_AG, подобное сравнительное ретроспективное исследование могло бы дать много материала для размышлений и практических действий.

ЛЮ. Наиболее отчетливо различия между генетическими вариантами ВИЧ проявили себя в вопросе о ЛУ. Этот феномен связан с появлением в ходе лечения мутаций в участках генов, кодирующих белки — мишени АРВТ, что приводит к снижению эффективности ингиби-

рования функции этих белков и восстановлению репликации вируса. Очевидно, что особенности последовательностей генома разных подтипов ВИЧ не могут не отразиться на характере мутаций ЛУ, вероятности и частоте их появления, а также интерпретации результатов генотипирования ВИЧ [3, 10, 39, 43, 44].

Для определения ЛУ ВИЧ применяются две группы методов — фенотипические, непосредственно оценивающие чувствительность вируса в сравнении с «диким» штаммом, и генотипические, основанные на анализе генома ВИЧ. Первая группа методов не получила пока применения в России по причине высокой стоимости и отсутствия специализированных лабораторий. Методы генотипирования существенно более доступны, однако сложны в интерпретации, поскольку последовательность генома ВИЧ и факт наличия ЛУ ассоциированы между собой непрямым образом. С феноменом ЛУ ВИЧ можно подробно познакомиться в книге [45], а далее будут рассмотрены только вопросы, непосредственно связанные с лечением и анализом генотипов ВИЧ.

Одна из связанных с ЛУ ВИЧ проблем заключается в существовании так называемого естественного полиморфизма ВИЧ. Этот термин, в переводе означающий всего лишь «разнообразие», применительно к ЛУ ВИЧ означает следующее: мутации, возникающие в ходе лечения и приводящие к снижению чувствительности вирусов одних подтипов (чаще всего подтипа В), нередко имеются в тех же позициях генома у других подтипов без всякой связи с лечением и отражают естественные различия между генетическими вариантами. Такие мутации называют полиморфными; если их распространенность у нелеченых пациентов в пределах подтипа или рекомбинанта составляет более 90%, мутации приобретают статус характеристических.

Наличие специфических для подтипа полиморфизмов теоретически может ускорять возникновение ЛУ, способствовать выбору альтернативных путей формирования ЛУ, влиять на репликативные свойства вируса, а в практическом отношении — затруднять интерпретацию результатов генотипирования ВИЧ [10, 39, 43, 44]. Примеры, касающиеся всех этих возможностей, существуют, но вновь демонстрируют неоднозначность и противоречия данных, полученных разными авторами.

В частности, вопрос о том, как влияют полиморфные мутации на фенотип вируса, т.е. на его чувствительность к АРВТ, обсуждается очень давно, однако единого и однозначного ответа пока не получено, и число достоверных наблюдений очень ограничено. Так, еще в 2001 г. в работах [32] не обнаружено влияние полиморфных мутаций ко всем классам препаратов. В исследованиях, выполненных в Швейцарии [46], наличие минорных полиморфных мутаций в протеазе также не влияло на эффективность ингибиторов протеаз. Напротив, наличие полиморфных мутаций в обратной транскриптазе существенно повышало риск неэффективности лечения в когорте лондонских пациентов [47].

Известным примером различий подтипов ВИЧ-1 в отношении к ЛУ является мутация K65R, которая существенно у подтипа С ВИЧ-1 селекционируется быстрее и чаще, чем у подтипа В [10, 43, 48]. Как показано в экспериментах *in vitro*, такое различие обусловлено структурой матрицы РНК, которая в случае подтипа С благоприятствует формированию мутации в 65-м положении [49], а у подтипа В — в 67-м, ускоряя появление мутации D67N (см. таблицу).

Частота формирования мутаций также может быть причиной различий между подтипами ВИЧ; так, мутации K103N и Y181C обеспечивают устойчивость к ННИОТ у подтипов В и С, при этом K103N образуется у 40% вирусов подтипа В и у 29% подтипа С, а мутация Y181C — в 23 и 12% случаев соответственно [10].

Пути достижения устойчивости к одним и тем же препаратам также могут различаться; например, среди пациентов, принимающих NFV, мутация D30N формируется у тех, кто заразился вирусом подтипа В, в то время как для инфицированных вирусами подтипов С, F, G и CRF01_AE характерна мутация L90M [50].

Наконец, причиной формирования разных мутаций может быть использование разных триплетов (кодонов) РНК-матрицы для кодирования одних и тех же аминокислот. Известен пример частого формирования мутации G190S у пациентов, инфицированных вирусом подтипа А варианта IDU-A в России [51]. Эта мутация, обеспечивающая устойчивость к ННИОТ, в составе генома вирусов подтипа А, распространенных в других странах, является редкой (около 3%), при этом встречается более чем у 25%

Примеры различий по распространенности и эффекте мутаций ЛУ у пациентов, инфицированных ВИЧ-1 разных генетических вариантов

Класс препаратов АРВТ	Мутация	Эффект мутации	Ссылка
НИОТ	K65R	Появляется чаще и быстрее у вирусов подтипа С, связана с неэффективностью режимов, включающих TDF, 3ТС и NVP	[43; 48]
ННИОТ	G190S	Преимущественно встречается у ВИЧ-1 подтипа А (IDU-A), характерного для России	[49]
	Y181C, V90I	При лечении ETR появляется чаще у вирусов подтипов А и В, снижая его эффективность	[50]
ИП	G17E, I64M	У вирусов CRF2_AG связаны с гиперчувствительностью к ATV, NFV и IDV	[51]
	M89T	Чаще возникает у вирусов подтипов А, С и CRF01_AE, связана с высоким уровнем устойчивости к ATV, NFV, LPV	[52]
ИИ	E92Q/N155H	У вирусов подтипа В снижает чувствительность в 10 раз сильнее, чем у подтипа С	[53]

Примечание. TDF — тенофовир; 3ТС — ламивудин; NVP — невирапин; ATV — атазанавир; NFV — нелфинавир; IDV — индинавир; LPV — лопинавир.

вирусов IDU-A в случаях неэффективности терапии эфавиренз или NVP. Как оказалось, причина состоит в том, что в составе генома IDU-A аминокислоту глицин (G) в 190-м положении кодирует триплет GGC, а у других вирусов подтипа А — GGA. Заметим, что мутация G190S снижает чувствительность к ННИОТ в несколько раз больше, чем G190A, характерная для подтипа А в других регионах.

Последний пример очень важен для понимания проблемы связи разнообразия ВИЧ с лечением больных инфекцией. Общее впечатление, которое сложилось у автора этой лекции, в продолжение многих лет занятого изучением генетических форм ВИЧ, выглядит следующим образом: возможности считать подтип вируса независимым предиктором эффективности лечения, по всей видимости, не существует. Убедительных доказательств того, что подтип ВИЧ следует принимать во внимание при назначении курса терапии, в настоящее время не получено, и на первый план по-прежнему выходят соображения, связанные со стоимостью лечения, переносимостью и долгосрочным эффектом терапии.

Все изложенное не означает, что нет различий между генетическими вариантами ВИЧ в отношении эффективности АРВТ и характера ЛУ. Обширная информация, полученная к настоящему времени, однозначно указывает, что разница есть, однако сравнения следует проводить не между подтипами в целом, а между однородными в генетическом отношении группами вирусов, циркулирующими в отдельном географическом регионе.

Причина такого положения дел, по нашему мнению, кроется в самой структуре генетического многообразия ВИЧ, которая объединяет в пределах подтипов вирусы, различающиеся между собой на 10–20% последовательности генома [1]. Такая классификация, даже несколько

искусственная, эффективно используется в качестве инструмента эпидемиологического слежения, однако не позволяет судить о биологических свойствах подтипов вследствие их значительной внутренней разнородности. Вот почему, как уже отмечалось, максимально достоверные различия получены в тех исследованиях, которые включали ограниченное число генетических вариантов ВИЧ, распространенных в одной стране и, как правило, составляли группы существенно более однородные, чем подтипы.

В этом смысле Россия представляет собой готовую «экспериментальную площадку», поскольку на ее территории, как описано ранее, циркулируют всего два основных варианта ВИЧ — IDU-A подтипа А и CRF02_AG, каждый из которых происходит фактически из одного источника, и несколько других, существенно менее часто встречающихся вариантов вирусов. Особенностью эпидемии ВИЧ-инфекции в России является ее уникальная генетическая однородность. Это означает, что сравнение этих двух вариантов вируса, подкрепленное значительной статистикой наблюдений, способно дать реальную картину влияния особенностей их генома на действенность схем лечения, применяемых в России. В условиях масштабирования АРВТ и привлечения значительного числа людей к программам лечения результаты подобных исследований способны предоставить важнейшую информацию для планирования стратегии лечения больных ВИЧ-инфекцией в стране.

Работа выполнена с привлечением средств гранта Росийского научного фонда (проект №15-15-00050).

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends mol med.* 2012;18(3):182-192. doi:10.1016/j.molmed.2011.12.001
- Korber B, Gaschen B, Yusim K, Thakallapally R, Kesmir C, Detours V. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. *Br med bull.* 2001;58:19-42.
- Ndung'u T, Weiss RA. On HIV diversity. *AIDS (London, England).* 2012;26(10):1255-1260. doi:10.1097/QAD.0b013e32835461b5
- Vuilleumier S, Bonhoeffer S. Contribution of recombination to the evolutionary history of HIV. *Cur Opin HIV AIDS.* 2015;10(2):84-89. doi:10.1097/COH.0000000000000137
- Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives Med.* 2011;1(1):a006841. doi:10.1101/cshperspect.a006841
- Bártolo I, Taveira N. HIV-1 Diversity and Its Implications in Diagnosis, Transmission, Disease Progression, and Antiretroviral Therapy. In: Caliskan M, ed. *Genetic Diversity in Microorganisms.* InTech; 2012.
- Maljkovic Berry I, Ribeiro R, Kothari M, Athreya G, Daniels M, Lee HY, Bruno W, Leitner T. Unequal evolutionary rates in the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) pandemic: the evolutionary rate of HIV-1 slows down when the epidemic rate increases. *J Virol.* 2007;81(19):10625-10635. doi:10.1128/JVI.00985-07
- Eberle J, Gurtler L. HIV types, groups, subtypes and recombinant forms: errors in replication, selection pressure and quasispecies. *Intervirology.* 2012;55(2):79-83. doi:10.1159/000331993
- Peeters M, D'Arc M, Delaporte E. Origin and diversity of human retroviruses. *AIDS Rev.* 2014;16(1):23-34.
- Santoro MM, Perno CF. HIV-1 Genetic Variability and Clinical Implications. *ISRN Microbiol.* 2013;2013:481314. doi:10.1155/2013/481314
- Diez-Fuertes F, Cabello M, Thomson MM. Bayesian phylogeographic analyses clarify the origin of the HIV-1 subtype A variant circulating in former Soviet Union's countries. *MEEGID.* 2015;33:197-205. doi:10.1016/j.meegid.2015.05.003
- Bobkova M. Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev.* 2013;15(4):204-212.
- Bobkov AF, Kazennova EV, Selimova LM, Khanina TA, Ryabov GS, Bobkova MR, Sukhanova AL, Kravchenko AV, Ladnaya NN, Weber JN, Pokrovsky VV. Temporal trends in the HIV-1

- epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J Med Virol*. 2004;74(2):191-196.
doi:10.1002/jmv.20177
14. Бобкова М.Р., Буравцова Е.В., Суханова А.Л., Ольховский И.А., Бобков А.Ф., Покровский В.В. Применение тест-системы Amplicor HIV-1 для диагностики ВИЧ-инфекции у новорожденных детей в России: первые результаты (2001—2002 гг.). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2003;6:49-53.
 15. Bogh M, Machuca R, Gerstoft J, Pedersen C, Obel N, Kvinesdal B, Nielsen H, Nielsen C. Subtype-specific problems with qualitative Amplicor HIV-1 DNA PCR test. *J Clin Virol*. 2001;20(3):149-153.
 16. Obaro SK, Losikoff P, Harwell J, Pugatch D. Failure of serial human immunodeficiency virus type 1 DNA polymerase chain reactions to identify human immunodeficiency virus type 1 clade A/G. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(2):183-184.
 17. Luft LM, Gill MJ, Church DL. HIV-1 viral diversity and its implications for viral load testing: review of current platforms. *International journal of infectious diseases: IJID*. 2011;15(10):e661-670.
doi:10.1016/j.ijid.2011.05.013
 18. Hudgens MG, Longini IM, Jr., Vanichseni S, Hu DJ, Kitayaporn D, Mock PA, Halloran ME, Satten GA, Choopanya K, Mastro TD. Subtype-specific transmission probabilities for human immunodeficiency virus type 1 among injecting drug users in Bangkok, Thailand. *Am J Epidemiol*. 2002;155(2):159-168.
 19. Kiwanuka N, Laeyendecker O, Quinn TC, Wawer MJ, Shepherd J, Robb M, Kigozi G, Kagaayi J, Serwadda D, Makumbi FE, Reynolds SJ, Gray RH. HIV-1 subtypes and differences in heterosexual HIV transmission among HIV-discordant couples in Rakai, Uganda. *AIDS (London, England)*. 2009;23(18):2479-2484.
doi:10.1097/QAD.0b013e328330cc08
 20. Huang W, Eshleman SH, Toma J, Fransen S, Stawiski E, Paxinos EE, Whitcomb JM, Young AM, Donnell D, Mmiro F, Musoke P, Guay LA, Jackson JB, Parkin NT, Petropoulos CJ. Coreceptor tropism in human immunodeficiency virus type 1 subtype D: high prevalence of CXCR4 tropism and heterogeneous composition of viral populations. *J virol*. 2007;81(15):7885-7893.
doi:10.1128/JVI.00218-07
 21. Yang C, Li M, Newman RD, Shi YP, Ayisi J, van Eijk AM, Otieno J, Misore AO, Steketee RW, Nahlen BL, Lal RB. Genetic diversity of HIV-1 in western Kenya: subtype-specific differences in mother-to-child transmission. *AIDS (London, England)*. 2003;17(11):1667-1674.
doi:10.1097/01.aids.0000060412.18106.d4
 22. John-Stewart GC, Nduati RW, Rousseau CM, Mbori-Ngacha DA, Richardson BA, Rainwater S, Panteleeff DD, Overbaugh J. Subtype C is associated with increased vaginal shedding of HIV-1. *Journal Infect Dis*. 2005;192(3):492-496.
doi:10.1086/431514
 23. Martinez AM, Hora VP, Martinez AL, Mendoza-Sassi R, Von Groll A, Soares EA, D'Avila N, Silveira J, Leal RG, Tanuri A, Soares MA, Unit HA. Determinants of HIV-1 mother-to-child transmission in Southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2006;78(1):113-121.
doi:10.1590/s0001-37652006000100011
 24. Attia S, Egger M, Muller M, Zwahlen M, Low N. Sexual transmission of HIV according to viral load and antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis. *AIDS (London, England)*. 2009;23(11):1397-1404.
doi:10.1097/QAD.0b013e32832b7dca
 25. Easterbrook PJ, Smith M, Mullen J, O'Shea S, Chrystie I, de Ruiter A, Tatt ID, Geretti AM, Zuckerman M. Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy. *J Int AIDS Society*. 2010;13:4.
doi:10.1186/1758-2652-13-4
 26. Pant Pai N, Shivkumar S, Cajas JM. Does genetic diversity of HIV-1 non-B subtypes differentially impact disease progression in treatment-naïve HIV-1-infected individuals? A systematic review of evidence: 1996—2010. *J Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2012;59(4):382-328.
doi:10.1097/QAI.0b013e32824a0628
 27. Sacktor N, Nakasujja N, Skolasky RL, Rezapour M, Robertson K, Musisi S, Katabira E, Ronald A, Clifford DB, Laeyendecker O, Quinn TC. HIV subtype D is associated with dementia, compared with subtype A, in immunosuppressed individuals at risk of cognitive impairment in Kampala, Uganda. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):780-786.
doi:10.1086/605284
 28. Rao VR, Sas AR, Eugenin EA, Siddappa NB, Bimonte-Nelson H, Berman JW, Ranga U, Tyor WR, Prasad VR. HIV-1 clade-specific differences in the induction of neuropathogenesis. *J Neurosci*. 2008;28(40):10010-10016.
doi:10.1523/JNEUROSCI.2955-08.2008
 29. Bartolo I, Abecasis AB, Borrego P, Barroso H, McCutchan F, Gomes P, Camacho R, Taveira N. Origin and epidemiological history of HIV-1 CRF14_BG. *PLoS ONE*. 2011;6(9):e24130.
doi:10.1371/journal.pone.0024130
 30. Kiwanuka N, Laeyendecker O, Robb M, Kigozi G, Arroyo M, McCutchan F, Eller LA, Eller M, Makumbi F, Birx D, Wabwire-Mangen F, Serwadda D, Sewankambo NK, Quinn TC, Wawer M, Gray R. Effect of human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) subtype on disease progression in persons from Rakai, Uganda, with incident HIV-1 infection. *J Infect Dis*. 2008;197(5):707-713.
doi:10.1086/527416
 31. De Wit S, Boulme R, Poll B, Schmit JC, Clumeck N. Viral load and CD4 cell response to protease inhibitor-containing regimens in subtype B versus non-B treatment-naïve HIV-1 patients. *AIDS (London, England)*. 2004;18(17):2330-2331.
 32. Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, Weber JN. Comparative response of African HIV-1-infected individuals to highly active antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)*. 2002;16(8):1139-1146.
 33. Geretti AM, Harrison L, Green H, Sabin C, Hill T, Fearnhill E, Pillay D, Dunn D, Resistance UKCGoHD. Effect of HIV-1 subtype on virologic and immunologic response to starting highly active antiretroviral therapy. *Clin infect dis*. 2009;48(9):1296-1305.
doi:10.1086/598502
 34. Scherrer AU, Ledergerber B, von Wyl V, Boni J, Yerly S, Klimkait T, Burgisser P, Rauch A, Hirschel B, Cavassini M, Elzi L, Vernazza PL, Bernasconi E, Held L, Gunthard HF, Swiss HIVCS. Improved virological outcome in White patients infected with HIV-1 non-B subtypes compared to subtype B. *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1143-1152.
doi:10.1093/cid/cir669
 35. Grossman Z, Schapiro JM, Levy I, Elbirt D, Chowder M, Riesenber K, Olstein-Pops K, Shahar E, Istomin V, Asher I, Gottessman BS, Shemer Y, Elinav H, Hassoun G, Rosenberg S, Averbuch D, Machleb-Guri K, Kra-Oz Z, Radian-Sade S, Rudich H, Ram D, Maayan S, Agmon-Levin N, Stoeher Z. Comparable long-term efficacy of Lopinavir/Ritonavir and similar drug-resistance profiles in different HIV-1 subtypes. *PLoS ONE*. 2014;9(1):e86239.
doi:10.1371/journal.pone.0086239

36. Rockstroh JK, Teppler H, Zhao J, Sklar P, Miller MD, Harvey CM, Strohmaier KM, Leavitt RY, Nguyen BY. Clinical efficacy of raltegravir against B and non-B subtype HIV-1 in phase III clinical studies. *AIDS (London, England)*. 2011;25(11):1365-1369. doi:10.1097/QAD.0b013e328348065a
37. Vingerhoets J, Azijn H, Tambuyzer L, Dierynck I, De Meyer S, Rimsky L, Nijs S, De Smedt G, de Bethune MP, Picchio G. Short communication: activity of etravirine on different HIV type 1 subtypes: in vitro susceptibility in treatment-naïve patients and week 48 pooled DUET study data. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2010;26(6):621-624. doi:10.1089/aid.2009.0239
38. Dierynck I, De Meyer S, Lathouwers E, Vanden Abeele C, Van De Castele T, Spinosa-Guzman S, de Bethune MP, Picchio G. In vitro susceptibility and virological outcome to darunavir and lopinavir are independent of HIV type-1 subtype in treatment-naïve patients. *Antiviral ther*. 2010;15(8):1161-1169. doi:10.3851/IMP1697
39. Gatell JM. Antiretroviral therapy for HIV: do subtypes matter? *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1153-1155. doi:10.1093/cid/cir686
40. Tuailon E, Gueudin M, Lemee V, Gueit I, Roques P, Corrigan GE, Plantier JC, Simon F, Braun J. Phenotypic susceptibility to nonnucleoside inhibitors of virion-associated reverse transcriptase from different HIV types and groups. *J AIDS*. 2004;37(5):1543-1549.
41. Ren J, Bird LE, Chamberlain PP, Stewart-Jones GB, Stuart DI, Stammers DK. Structure of HIV-2 reverse transcriptase at 2.35-Å resolution and the mechanism of resistance to non-nucleoside inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002;99(22):14410-14415. doi:10.1073/pnas.222366699
42. Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JA, Yokoyama M, Nii-Trebi N, Ugly-Kwame E, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, Sata T, Tokunaga K. HIV-1 proteases from drug-naïve West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors. *Clin Infect Dis*. 2005;41(2):243-251. doi:10.1086/431197
43. Lessells RJ, Katzenstein DK, de Oliveira T. Are subtype differences important in HIV drug resistance? *Cur Opin Virol*. 2012;2(5):636-643. doi:10.1016/j.coviro.2012.08.006
44. Rhee SY, Sankaran K, Varghese V, Winters M, Hurt CB, Eron JJ, Parkin N, Holmes SP, Holodniy M, Shafer RW. HIV-1 Protease, Reverse Transcriptase, and Integrase Variation. *J Virol*. 2016; [Epub ahead of print]. doi:10.1128/JVI.00495-16
45. Бобкова М.Р. *Лекарственная устойчивость ВИЧ*. М.: Человек; 2014.
46. Scherrer AU, Ledergerber B, von Wyl V, Boni J, Yerly S, Klimkait T, Celleraï C, Furrer H, Calmy A, Cavassini M, Elzi L, Vernazza PL, Bernasconi E, Gunthard HF, Swiss HIVCS. Minor protease inhibitor mutations at baseline do not increase the risk for a virological failure in HIV-1 subtype B infected patients. *PloS ONE*. 2012;7(6):e37983. doi:10.1371/journal.pone.0037983
47. Mackie NE, Dunn DT, Dolling D, Garvey L, Harrison L, Fearnhill E, Tilston P, Sabin C, Geretti AM, Database UHDR, study UC. The impact of HIV-1 reverse transcriptase polymorphisms on responses to first-line nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-based therapy in HIV-1-infected adults. *AIDS (London, England)*. 2013;27(14):2245-2253. doi:10.1097/QAD.0b013e3283636179
48. Brenner BG, Coutsinos D. The K65R mutation in HIV-1 reverse transcriptase: genetic barriers, resistance profile and clinical implications. *HIV Ther*. 2009;3(6):583-594. doi:10.2217/hiv.09.40
49. Kolomeets AN, Varghese V, Lemey P, Bobkova MR, Shafer RW. A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses. *AIDS (London, England)*. 2014;28(17):F1-8. doi:10.1097/QAD.0000000000000485
50. Lai MT, Lu M, Felock PJ, Hrin RC, Wang YJ, Yan Y, Munshi S, McGaughey GB, Tynebor RM, Tucker TJ, Williams TM, Grobler JA, Hazuda DJ, McKenna PM, Miller MD. Distinct mutation pathways of non-subtype B HIV-1 during in vitro resistance selection with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(11):4812-4824. doi:10.1128/AAC.00829-10
51. Santos AF, Tebit DM, Lalonde MS, Abecasis AB, Ratcliff A, Camacho RJ, Diaz RS, Herchenroder O, Soares MA, Arts EJ. Effect of natural polymorphisms in the HIV-1 CRF02_AG protease on protease inhibitor hypersusceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(5):2719-2725. doi:10.1128/AAC.06079-11
52. Martinez-Cajas JL, Wainberg MA, Oliveira M, Asahchop EL, Doualla-Bell F, Lisovsky I, Moisi D, Mendelson E, Grossman Z, Brenner BG. The role of polymorphisms at position 89 in the HIV-1 protease gene in the development of drug resistance to HIV-1 protease inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;67(4):988-994. doi:10.1093/jac/dkr582
53. Bar-Magen T, Donahue DA, McDonough EI, Kuhl BD, Faltenbacher VH, Xu H, Michaud V, Sloan RD, Wainberg MA. HIV-1 subtype B and C integrase enzymes exhibit differential patterns of resistance to integrase inhibitors in biochemical assays. *AIDS (London, England)*. 2010;24(14):2171-2179. doi:10.1097/QAD.0b013e32833cf265
54. Coutsinos D, Invernizzi CF, Xu H, Brenner BG, Wainberg MA. Factors affecting template usage in the development of K65R resistance in subtype C variants of HIV type-1. *Antiviral Chem Chemother*. 2010;20(3):117-131. doi:10.3851/IMP1443
55. Grossman Z, Paxinos EE, Averbuch D, Maayan S, Parkin NT, Engelhard D, Lorber M, Istomin V, Shaked Y, Mendelson E, Ram D, Petropoulos CJ, Schapiro JM. Mutation D30N is not preferentially selected by human immunodeficiency virus type 1 subtype C in the development of resistance to nelfinavir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):2159-2165. doi:10.1128/AAC.48.6.2159-2165.2004

Поступила 10.05.2016