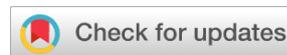


Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-442>



Филогенетическое положение и генетические особенности вируса иммунодефицита человека-1 в центральной нервной системе

Питерский М.В.^{1✉}, Ходаков О.А.¹, Михеева Т.В.², Билалова Н.В.¹,
Конькова-Рейдман А.Б.², Захарова Ю.А.³, Семенов А.В.¹

¹Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия;

²Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

³Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана, Москва, Россия

Аннотация

Актуальность. Благодаря широкому охвату пациентов с ВИЧ-инфекцией антиретровирусной терапией существенно увеличилась продолжительность жизни инфицированных людей. На фоне снижения смертности от ВИЧ-инфекции высокую важность приобретают ВИЧ-ассоциированные нейрокогнитивные расстройства, которые развиваются даже на фоне эффективного лечения. Общая распространённость такой патологии среди лиц, живущих с ВИЧ, достигает 42,6%.

Целью исследования явилось изучение генетических особенностей и филогенетического положения ВИЧ-1, персистирующего в центральной нервной системе (ЦНС).

Материалы и методы. Обследованы 38 пациентов с тяжёлыми нейрокогнитивными нарушениями на фоне ВИЧ-инфекции в стадии 4В. Вирусную нагрузку ВИЧ-1 определяли в пробах плазмы крови и ликвора с использованием реагентов «АмплиСенс ВИЧ-Монитор-FRT», выполняли секвенирование по Сэнгеру. Филогенетический анализ фрагментов гена *pol* штаммов ВИЧ-1 (участок, кодирующий вирусную протеазу и часть обратной транскриптазы) проводили методом максимального правдоподобия с моделью замены нуклеотидов GTR+G. Сравнения третичной структуры вирусных белков выполняли на основе трёхмерных моделей протеазы и субъединиц р51 и р66 обратной транскриптазы, полученных методом гомологического построения с использованием сервиса SWISS-MODEL.

Результаты. Уровень вирусной нагрузки в выборке пациентов с тяжёлыми поражениями ЦНС в плазме крови был в 6,27 раза выше, чем в ликворе, и составлял по медиане 4,67 и 3,87 Ig копий/мл соответственно ($p = 0,004$). Филогенетический анализ с использованием всех доступных в GenBank геномов ВИЧ, отличающихся менее чем на 5% от исследуемых штаммов, показал близкое генетическое родство вирусов, циркулирующих в Челябинской области, помимо штаммов из России, со штаммами ВИЧ, циркулирующими в странах ближнего зарубежья, в первую очередь на Украине и в Киргизии, несколько меньше — в Белоруссии, Таджикистане, Казахстане, Армении, а также со штаммами из Польши и Германии. Филогенетический анализ 38 геномов ВИЧ из парных проб (ликвор и плазма крови) позволил выявить у 5 пациентов, 4 из которых являлись потребителями инъекционных наркотиков, существенные генетические дистанции между штаммами ВИЧ, выделенными из ликвора и из плазмы крови, что может свидетельствовать о суперинфицировании разными штаммами.

Количество независимых аминокислотных замен в протеазе у штаммов из плазмы составляло от 1 до 3, у штаммов из ликвора — от 1 до 2, в фрагменте обратной транскриптазы в штаммах из плазмы крови — от 1 до 6, в штаммах из ликвора — от 1 до 7. В штаммах ВИЧ из плазмы и ликвора от 5 пациентов была выявлена разница в структуре субъединицы р51 обратной транскриптазы в аминокислотных позициях 16–20 и 210–235, ещё от 3 пациентов — только в позициях 210–235. В штаммах ВИЧ из плазмы и ликвора от 3 пациентов наблюдалась разница в структуре субъединицы р66 обратной транскриптазы в области связывания с нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы. Для появления закрепляющихся различий в третичной структуре субъединицы р51 оказалось достаточно изменения всего 1 аминокислоты. Для изменения третичной структуры субъединицы р66 минимальное количество аминокислотных замен составляло 3.

Заключение. Микроэволюция ВИЧ-1 идёт параллельно в пределах одного пациента в разных компартментах, что отражается в накоплении отличных от другого компартмента аминокислотных замен в консервативном гене *pol*. Имеется слабая корреляция между уровнем вирусной нагрузки в плазме и в ликворе. Генетическая гетерогенность штаммов ВИЧ от пациентов из Челябинской области свидетельствует о высокой частоте заносов ВИЧ-инфекции в регион из других государств. Различия в третичной структуре обратной транскриптазы ВИЧ-1 между штаммами из плазмы крови и из ликвора закономерно закрепляются в определённых участках, что также подтверждает наличие параллельной микроэволюции ВИЧ в ходе персистирования вируса в тканях, разделённых гематоэнцефалическим барьером, что позволяет лучше понять тенденции закрепления отдельных аминокислотных замен при поражении ЦНС ВИЧ.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, ВИЧ-инфекция, нейрокогнитивные расстройства, поражения головного мозга, субтипы, протеаза, обратная транскриптаза, третичная структура ферментов

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФНИИВИ «Виром» (протокол № 2 от 26.05.2022) и локальным этическим комитетом Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций (протокол № 3 от 17.06.2016).

Благодарность. Авторы выражают признательность сотрудникам Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФНИИВИ «Виром» — врачам клинической лабораторной диагностики Н.Е. Четверкиной и А.А. Климовой, врачу-эпидемиологу О.Я. Яранцевой, оказавшим помощь в проведении данного исследования.

Источник финансирования. Финансирование исследования осуществлялось за счёт субсидии на выполнение НИР (рег. номер в ЕГИСУ НИОКТР 121041500042-8) п.1.2.1 отраслевой программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Питерский М.В., Ходаков О.А., Михеева Т.В., Билалова Н.В., Конькова-Рейдман А.Б., Захарова Ю.А., Семенов А.В. Филогенетическое положение и генетические особенности вируса иммунодефицита человека-1 в центральной нервной системе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024;101(1):100–113.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-442>

EDN: <https://www.elibrary.ru/wofnfq>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-442>

Phylogenetic position and genetic features of HIV-1 in CNS

Mikhail V. Pitserskiy^{1✉}, Oleg A. Khodakov¹, Tatyana V. Mikheeva², Natalia V. Bilalova¹, Alena B. Konkova-Reidman², Yuliya A. Zakharova³, Aleksandr V. Semenov¹

¹Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome", Ekaterinburg, Russia;

²South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

³F.F. Erisman Federal Scientific Centre of Hygiene, Moscow, Russia

Abstract

Background. Due to the wide coverage with antiretroviral therapy, the life expectancy of HIV infected people has significantly increased. Against the background of a decrease in mortality from HIV infection, HIV-associated neurocognitive disorders, which develop even during effective treatment, are of high importance. The overall prevalence of this pathology among HIV-infected people reaches 42.6%.

The objective of the study was to research the genetic features and phylogenetic position of HIV-1 persisting in the central nervous system.

Materials and methods. The clinical study group consisted of 38 patients with severe neurocognitive disorders against the background of HIV infection in stage 4B. The viral load of HIV-1 in blood plasma and cerebrospinal fluid (CSF) was measured using the "AmpliSens HIV Monitor-FRT" reagents kit. Sanger sequencing was performed using the AmpliSens HIV-Resist-Seq assay kit on an Applied Biosystems 3500 analyzer. Phylogenetic analysis of the *pol* gene fragments of HIV-1 strains (the site encoding the viral protease and part of the reverse transcriptase) was carried out using maximum likelihood method with the GTR+G nucleotide substitution model. Comparisons of the tertiary structure of viral proteins were performed according to three-dimensional models of the protease and p51 and p66 reverse transcriptase subunits obtained by homologous reconstruction using the SWISS-MODEL tools.

Results. The viral load in the sample of patients with severe CNS lesions in blood plasma was 6.27 times higher than in CSF and amounted to 4.67 and 3.87 lg copies/ml respectively by median ($p = 0,004$).

Phylogenetic analysis with the use of all available HIV-1 genomes from GenBank, which differed from the studied ones by less than 5% showed close genetic relations of viruses circulating in Chelyabinsk region, apart from strains circulating in Russian Federation, with viruses circulating in neighboring countries, in most abundance — from Ukraine and Kyrgyzstan, slightly less — from Belarus, Tajikistan, Kazakhstan and Armenia and also with strains from certain foreign countries: Poland and Germany. Phylogenetic analysis of 38 HIV-1 genomes revealed significant genetic distances between HIV isolates from blood plasma and CSF in 5 patients, 4 of whom were PWID, which may indicate an event of superinfection.

The amount of independent amino acid substitutions in protease in isolates from blood plasma ranged from 1 to 3, in isolates from CSF — from 1 to 2. An amount of such substitutions in a fragment of reverse transcriptase in

isolates from blood plasma ranged from 1 to 6, while in isolates from CSF, it ranged from 1 to 7. HIV isolates from blood plasma and CSF from 5 patients had differences in the tertiary structure of HIV-1 reverse transcriptase p51 subunit in amino acid positions 16–20 and 210–235. Isolates from 3 other patients differed in the tertiary structure only in amino acid positions 210–235. Isolates from 3 patients differed in the structure of HIV-1 RT p66 subunit in a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor binding pocket (NNRTI) region. Fixed differences in the tertiary structure of p51 subunit required at minimum only 1 amino acid substitution to emerge. Alterations in the tertiary structure of p66 subunit required at least 3 amino acid substitutions.

Conclusion. Microevolution of HIV-1 proceeds in parallel within the same patient, in different compartments, which is reflected in the accumulation of amino acid substitutions different from another compartment in the conserved *pol* gene. There is a weak correlation between the viral load level in plasma and in CSF. The genetic heterogeneity of HIV strains from patients of the Chelyabinsk region indicates a high frequency of reintroduction of HIV infection in the region from other countries. Differences in the tertiary structure of HIV-1 reverse transcriptase between blood plasma and CSF isolates are regularly fixed in certain domains, which also confirms the presence of parallel HIV microevolution during virus persistence in tissues separated by the blood-brain barrier which allows a better understanding of the fixation trends of individual amino acid substitutions during HIV-induced damage to central nervous system.

Keywords: HIV, HIV infection, neurocognitive disorders, brain lesions, subtypes, protease, reverse transcriptase, tertiary structure of enzymes

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The study was approved by the local Ethics Committee of the Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome" (protocol No. 2, May 26, 2022) and by the local Ethics Committee of the Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections (protocol No. 3, June 17, 2016).

Acknowledgement. The authors express their gratitude to the staff of the Ural District Center for AIDS Prevention and Control: to the doctors of clinical laboratory diagnostics N.E. Chetverkina and A.A. Klimova, epidemiologist O.Ya. Yarantseva, who assisted in conducting this study.

Source of funding. Financing of the study was carried out at the expense of a subsidy for the implementation of research work (reg. number in the Unified State information system for accounting of research, development and technological works for civil purposes 121041500042-8) p.1.2.1 of the Rospotrebnadzor sectorial program for 2021–2025 "Scientific support of epidemiological surveillance and sanitary protection of the Russian Federation. Creation of new technologies, means and methods of control and prevention of infectious and parasitic diseases".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Piterskiy M.V., Khodakov O.A., Mikheeva T.V., Bilalova N.V., Konkova-Reidman A.B., Zakharova Yu.A., Semenov A.V. Phylogenetic position and genetic features of HIV-1 in CNS. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(1):100–113.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-442>

EDN: <https://www.elibrary.ru/wofnfq>

Введение

Ассоциированные с ВИЧ нейрокогнитивные расстройства являются широко распространённым явлением среди людей, живущих с ВИЧ/СПИД, несмотря на эффективную антиретровирусную терапию (АРТ). Даже в случае эффективной супрессии вируса в крови его репликация может по-прежнему наблюдаться в спинномозговой жидкости у некоторых пациентов. Это обусловлено тем, что проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для различных антиретровирусных препаратов значительно различается и концентрация некоторых препаратов в спинномозговой жидкости не достигает концентраций, необходимых для эффективного подавления репликации ВИЧ [1, 2]. Выявление ВИЧ-инфекции на поздних стадиях приводит к тому, что пациенты уже имеют клинические проявления поражения центральной нервной системы (ЦНС), которые возникают в результате повреждения, вызванного репликацией ВИЧ в ЦНС до начала эффективной АРТ [3–5].

Известно, что ВИЧ, помимо поражения клеток иммунной системы, способен проникать в ЦНС, что приводит к различного рода осложнениям, в том

числе к ВИЧ-ассоциированному нейрокогнитивному расстройству (HIV-associated neurocognitive disorder, HAND).

В соответствии с тяжестью симптомов HAND разделяется на три стадии:

- бессимптомное нейрокогнитивное расстройство;
- лёгкое нейрокогнитивное расстройство;
- ВИЧ-ассоциированная деменция [6].

Глобальное метаисследование, проведённое в 2020 г., установило, что общая распространённость HAND по миру составляет 42,6% и различается в зависимости от региона. Наибольшую распространённость HAND имеет в Южной Африке (как и наибольшее количество ВИЧ-положительных лиц) и составляет около 72% от всех случаев в мире. Около 88% всех случаев HAND представлены более мягкими формами (бессимптомное или лёгкое нейрокогнитивное расстройство), в то время как ВИЧ-ассоциированная деменция — довольно редкое явление [7, 8].

Проникновение ВИЧ в ЦНС происходит приблизительно на 4–8-й день после инфицирования, когда человеку, как правило, ещё не поставлен

диагноз ВИЧ-инфекция [9]. Вирус проходит через ГЭБ с помощью инфицированных моноцитов и Т-лимфоцитов [10, 11]. Установлено, что содержащиеся провирус ВИЧ CD14⁺- и CD16⁺-моноциты активнее проникают через ГЭБ, чем аналогичные неинфицированные клетки. Важную роль в этом процессе играют адгезивные молекулы JAM-A (junctional adhesion molecule A, или CD321) и ALCAM (activated leukocyte cell adhesion molecule, или CD166). Взаимодействуя с микроваскулярными эндотелиальными клетками ГЭБ, они позволяют моноцитам проникать через него. Их экспрессия существенно увеличивается у инфицированных CD14⁺- и CD16⁺-моноцитов. Кроме того, увеличивается количество хемокинов в ЦНС, в частности CCL2, а на поверхности инфицированных CD14⁺- и CD16⁺-моноцитов увеличивается количество рецепторов к данному хемокину [12, 13].

Попав в ЦНС, инфицированные моноциты могут дифференцироваться в периваскулярные макрофаги, которые составят устойчивый резервуар для вируса, и будут длительно выделять вирусные частицы, заражая другие клетки ЦНС, такие как макрофаги, астроциты и микроглию, каждая из которых может тоже выступать в роли резервуара для вируса, даже в условиях продолжительного приёма антиретровирусных препаратов [14]. Инфицированные ВИЧ клетки нервной системы производят вирусные белки, такие как Tat и Nef, что приводит к хроническому воспалению на низком уровне. Причём это воспаление сохраняется даже в условиях приёма антиретровирусных препаратов [15, 16]. Первое известное лонгитюдное исследование среди пациентов с ВИЧ в возрасте 50 лет и старше установило, что приём АРТ и регулярные обследования не могут предотвратить развитие HAND [17].

В ряде исследований установлено, что эволюция ВИЧ-1 в ЦНС идёт параллельно эволюции вируса, остающегося за её пределами [18–20]. Например, белки гена *env*, штаммов из ликвора приобретают специфические формы, которые взаимодействуют с CD4 и N-концом CCR5 в тандеме, обеспечивая более эффективное проникновение вируса в макрофаги, находящиеся в ЦНС и экспрессирующие малое количество CD4 [21]. Генетические различия между популяциями ВИЧ-1, выделяемыми из плазмы и ликвора, присутствуют и в других генах, таких как *tat*, *nef*, *pol* [22–24]. Мутации, ассоциированные с лекарственной устойчивостью, могут встречаться в штаммах как из плазмы, так и из ликвора, причём в некоторых случаях мутации лекарственной устойчивости могут присутствовать у пациента в штаммах из ликвора и отсутствовать в штаммах из плазмы [25].

Способный к репликации резервуар ВИЧ представляет собой генетически ограниченную и в целом «более молодую» подгруппу общего пу-

ла [26]. Стабильность генома ВИЧ тесно связана со структурными особенностями обратной транскриптазы ВИЧ, которая, допуская ошибки при синтезе ДНК ВИЧ, является причиной возникновения мутаций [27].

Обратная транскриптаза ВИЧ-1 представляет собой несимметричный гетеродимер, состоящий из субъединиц p51 (длиной 440 аминокислот) и p66 (длиной 560 аминокислот). Каждая субъединица содержит такие субдомены, как *fingers* (аминокислоты 1–85, 118–155), *palm* (аминокислоты 86–117, 156–236), *thumb* (аминокислоты 237–318), и соединительный субдомен (аминокислоты 319–446). Субъединица p66 также включает в себя субдомен, соединяющий её с РНКазой Н (аминокислоты 427–560). Каталитически активный центр сформирован аминокислотами 110, 185 и 186. Эти две субъединицы имеют различную пространственную организацию, и каталитически активной является только субъединица p66, в то время как p51 играет лишь структурную роль [28].

Изучение различий в трёхмерной структуре протеазы и обратной транскриптазы штаммов ВИЧ, разделённых ГЭБ, представляет интерес для выявления направления адаптационных изменений вируса, связанных с присутствием в определённом компартменте.

Материалы и методы

В период с января 2018 г. по март 2022 г. обследовано 38 ВИЧ-инфицированных пациентов из Челябинской области с нейрокогнитивными расстройствами и тяжёлым иммунодефицитом.

Возраст пациентов в среднем составлял 39 лет (среднее квадратичное отклонение $\sigma = 7$, коэффициент Шапиро–Уилка $W = 0,917$ при $p = 0,008$). Среди обследованных 20 человек составили мужчины (52,63%; 95% доверительный интервал (ДИ) 37,3–67,5), 18 — женщины (47,37%; 95% ДИ 32,5–62,7). Все пациенты находились на стадии 4В ВИЧ-инфекции. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФНИИВИ «Виром» (протокол № 2 от 26.05.2022) и локальным этическим комитетом Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций (протокол № 3 от 17.06.2016).

Количество CD4-клеток измеряли с помощью проточного цитометра «BD FACSCanto II» и набора реагентов «BD Tritest CD4/CD8/CD3» («Becton Dickinson»). Уровень вирусной нагрузки определяли с использованием набора реагентов «АмплиСенс ВИЧ-Монитор-FRT» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора), секвенирование — с использованием набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Обработку электрофореграмм и получение консенсусной последовательности осу-

ществляли с помощью программного обеспечения «Деона 1.7.0» («Компания РМБит»).

Всего было получено 57 нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1, в том числе от 19 пациентов — парные образцы из плазмы крови и из ликвора и ещё от 19 пациентов РНК ВИЧ в достаточном для секвенирования количестве удалось выделить или из плазмы крови, или из ликвора. Все нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных GenBank (Accession numbers: OR260480–OR260536).

Относительно исследуемых нуклеотидных последовательностей был проведён поиск ближайших родственных геномов ВИЧ с помощью сервиса NCBI BLAST [29]. Сформирована коллекция из всех геномов ВИЧ, имеющих сходство с исходными последовательностями 95% и выше ($n = 2929$). Множественное выравнивание выполняли с помощью алгоритма ClustalOmega на онлайн-сервисе EMBL [30]. Субтипирование, определение мутаций лекарственной устойчивости и прочих мутаций выполняли на сервисе Стэнфордского университета «HIV drug resistance database» («HIVdb Program: Mutations Analysis»), версия программы 3.4.3; версия алгоритма 9.4 [31].

Для проведения филогенетического анализа подбор наиболее подходящей для имеющихся данных модели замены нуклеотидов осуществляли с использованием онлайн-сервиса «FindModel» [32]. Филогенетические деревья строили методом максимального правдоподобия с моделью замены нуклеотидов GTR+G (General Time Reversible + gamma) с использованием программного обеспечения «MEGA X» [33]. В качестве меры статистической поддержки использовали 500 бутстреп-репликаций.

Для филогенетического анализа парных образцов генома штаммов ВИЧ, выделенных из плазмы крови и ликвора 19 пациентов, в качестве выборки сравнения добавили геномы ВИЧ, представляющие различные субтипы: А6 (EU861977, KU749403, KT983615, JX500694), В (JX500708) и CRF63_02A6 (JN230353). Указанные штаммы являются референсными для субтипов и циркулирующих рекомбинантных штаммов ВИЧ по версии «Los Alamos HIV databases» [34].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного продукта «Statistica v. 12» («StatSoft Russia»). Расчёт доверительных интервалов осуществляли по методу Уилсона для уровня ошибки 1-го типа 0,05 [35]. Для подтверждения статистически значимого различия использовали критерии непараметрической статистики (χ^2 , точный критерий Фишера, критерий Манна–Уитни).

Трёхмерные модели вирусных белков (протеазы и обратной транскриптазы) были получены методом гомологического построения. Для протеазы была использована модель кристаллической струк-

туры протеазы ВИЧ-1, субтипа А (PDB ID: 3ix0). Данная модель была выбрана, т.к. она имела наибольшее сходство с нашими аминокислотными последовательностями среди моделей протеаз ВИЧ-1, не связанных с ингибиторами и не имеющих мутации лекарственной устойчивости, а также относилась к наиболее близкому субтипу А.

Для обратной транскриптазы были использованы модель субъединицы p51 обратной транскриптазы ВИЧ-1 (PDB ID: 3kju) и модель обратной транскриптазы/РНКазы Н ВИЧ-1 (PDB ID: 4icl). Данные модели имеют наибольшее сходство по первичной структуре с нашими последовательностями среди моделей, не находящихся в комплексе с ингибиторами и не имеющих мутаций лекарственной устойчивости.

Построение трёхмерных моделей белков и сравнение их структуры проводили с использованием онлайн-сервиса «SWISS-MODEL» [36, 37].

Результаты и обсуждение

По данным анамнеза пациентов установлено, что продолжительность течения ВИЧ-инфекции с момента установления диагноза до госпитализации составляла в среднем 81 мес ($\sigma = 64$; $W = 0,924$; $p = 0,01$). Большинство пациентов — 30 из 38 (79,0%; 95% ДИ 63,7–88,9) не имели опыта АРТ, остальные находились на терапии по медиане до 29 мес (межквартильный интервал (МКИ) 9–35 мес), но при этом с низкой приверженностью, самостоятельно прерывая назначенные курсы лечения. Учитывая, что все пациенты были госпитализированы на 4В стадии ВИЧ-инфекции, их заражение произошло задолго до установления диагноза. Таким образом, именно многолетнее течение ВИЧ-инфекции без АРТ обусловило поражение ЦНС.

Среди обследованных пациентов ($n = 38$) наиболее часто встречающимися поражениями головного мозга были менингоэнцефалиты и энцефалиты, связанные с оппортунистическими инфекциями и туберкулёзом, — 20 случаев из 38 (52,6%; 95% ДИ 37,3–67,5), среди которых преобладал энцефалит токсоплазменной этиологии — 10 случаев из 20 (50,0%; 95% ДИ 29,9–70,1). ВИЧ-энцефалит был выявлен в 18 случаях из 38 (47,4%; 95% ДИ 32,5–62,7; **рис. 1**).

В нашем исследовании группы пациентов с поражениями головного мозга, вызванными оппортунистическими инфекциями, и группа пациентов с ВИЧ-энцефалитом не имели статистически значимых различий по опыту приёма АРТ, полу, возрасту и другим показателям, что могло быть связано с небольшим объёмом выборки. Ранее проведённые исследования показали, что спектр неврологических заболеваний у пациентов с ВИЧ-инфекцией существенно зависит от доступности терапии и её своевременного начала. В странах, где АРТ широко доступна, неврологические симптомы у пациентов

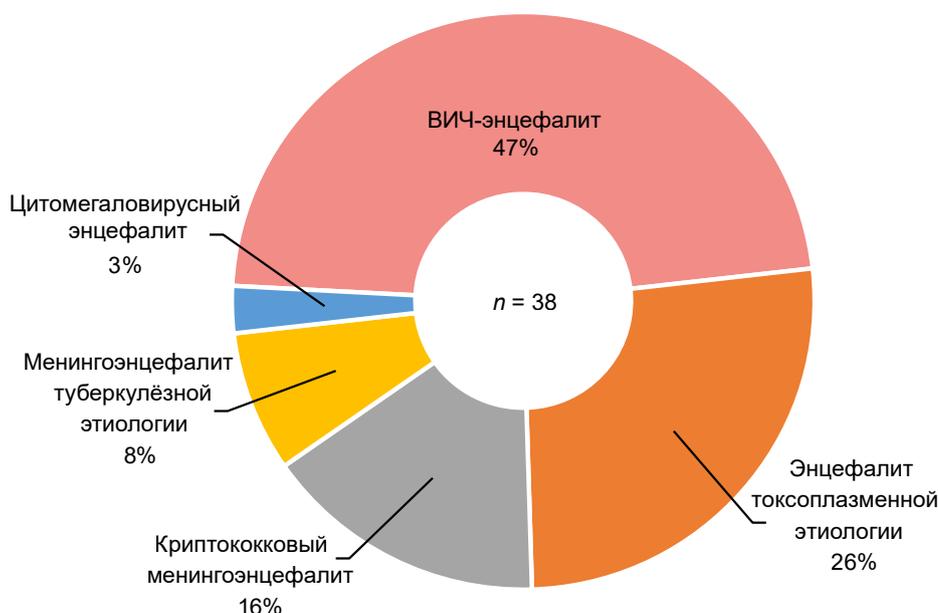


Рис. 1. Структура поражений головного мозга среди обследованных пациентов.

Fig. 1. Structure of brain lesions among the examined patients.

с ВИЧ-инфекцией часто обусловлены ВИЧ-энцефалитом. С другой стороны, в развивающихся странах, где доступ к лечению ВИЧ ещё требует улучшения, неврологическое ухудшение часто связано с оппортунистическими инфекциями ЦНС, такими как токсоплазмоз и криптококкоз [38].

Низкое количество CD4 и высокая вирусная нагрузка являются ключевыми факторами, определяющими развитие ВИЧ-энцефалита [39]. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови составлял по медиане 4,67 (МКИ 4,19–5,40) Ig копий/мл и статистически значимо превышал аналогичный показатель в ликворе, составляющий по медиане 3,87 (МКИ 2,73–4,66) Ig копий/мл, на 0,8 Ig, или в 6,27 раза ($U = 442$; $z = 2,904$; $p = 0,004$).

Содержание CD4-лимфоцитов в плазме крови составляло по медиане 41,0 (МКИ 21,3–66,5) Ig копий/мл, при этом не имело корреляции с уровнем вирусной нагрузки (рис. 2).

Превышение уровня вирусной нагрузки ВИЧ в ликворе по сравнению с плазмой — достаточно распространённое явление среди пациентов, не получающих эффективной АРТ, и среди АРТ-наивных пациентов, что было также показано в перекрёстном многоцентровом исследовании, проведённом в крупных городах Европы в 1982–2017 гг. [40]. При этом различие в уровне вирусной нагрузки составляло 1,0 Ig копий/мл и наблюдалась корреляция между данными показателями в плазме крови и ликворе. В нашем исследовании имелась слабая прямая корреляционная связь между уровнями вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови и ликворе: коэффициент Спирмена $R_s = 0,38$, $p = 0,019$.

Среди 57 генотипированных образцов от 38 пациентов выявлены 54 представителя субсубтипа А6 (94,7%; 95% ДИ 85,6–98,2), в 2 образцах от 1 пациента выявлен рекомбинантный штамм CRF63_02A6

(3,5%; 95% ДИ 1,0–11,9) и 1 штамм, выделенный из плазмы, содержал субтип В (1,8%; 95% ДИ 0,3–9,3), притом что штамм, выделенный из ликвора того же пациента, принадлежал к субсубтипу А6 ВИЧ-1.

Для определения филогенетического положения исследуемых штаммов у каждой из 57 последовательностей с помощью сервиса NCBI BLAST найдены геномы ВИЧ, имеющие сходство 95% и выше. После исключения повторяющихся записей, синтетических последовательностей, а также записей, в которых страну происхождения штамма невозможно установить, осталось 2872 нуклеотидных последовательности, имеющие среднюю идентичность по медиане 95,97% (МКИ 95,52–96,51%). Вместе с исследуемыми образцами генотипическая структура была представлена 2508 штаммами субсубтипа А6 (85,5%; 95% ДИ 84,1–86,7), 397 CRF63_02A6 (13,8%; 95% ДИ 12,6–15,1), 14 субтипов В (0,5%; 95% ДИ 0,3–0,8) и 7 CRF02_A6G (0,2%; 95% ДИ 0,1–0,5) среди 2929 анализируемых штаммов.

Филогенетический анализ 2929 фрагментов гена *pol* ВИЧ-1, кодирующих протеазу и часть ревертазы, проводили по методу максимального правдоподобия с использованием модели замены нуклеотидов GTR+G и 500 бутстреп-репликациями. В результате сформировались 26 кластеров, в 11 из которых вошли 57 штаммов ВИЧ, выделенных от исследуемых пациентов (рис. 3).

Штаммы от пациентов из исследуемой выборки вошли в 11 кластеров. Среди штаммов от пациентов из стран ближнего зарубежья в кластерах с исследуемыми образцами чаще всего оказывались штаммы, циркулирующие на Украине и в Киргизии (по 6 из 11 кластеров), Белоруссии, Таджикистане, Казахстане, Армении (5 из 11 кластеров), среди государств из дальнего зарубежья — в Польше и Германии (5 из 11 кластеров).

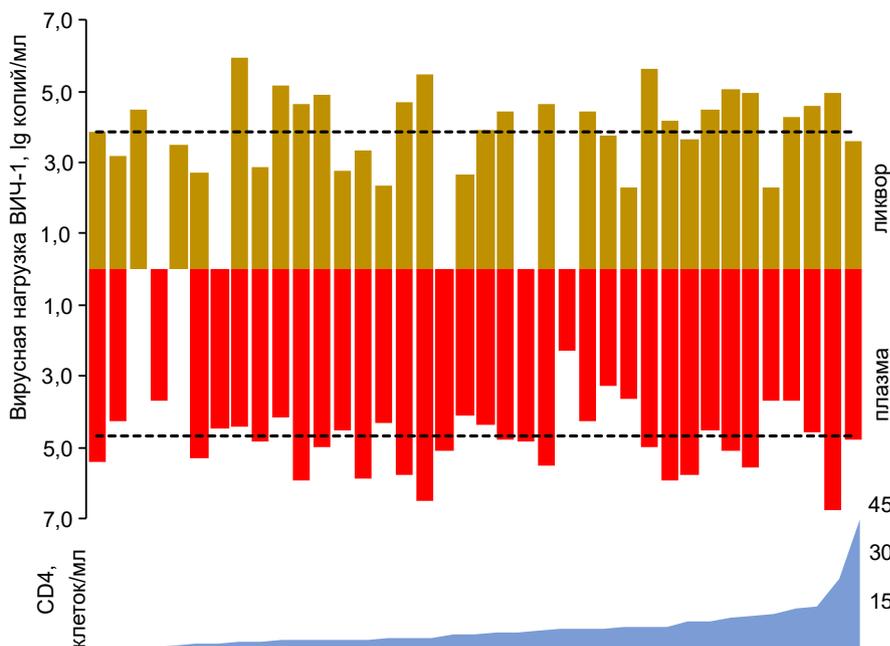
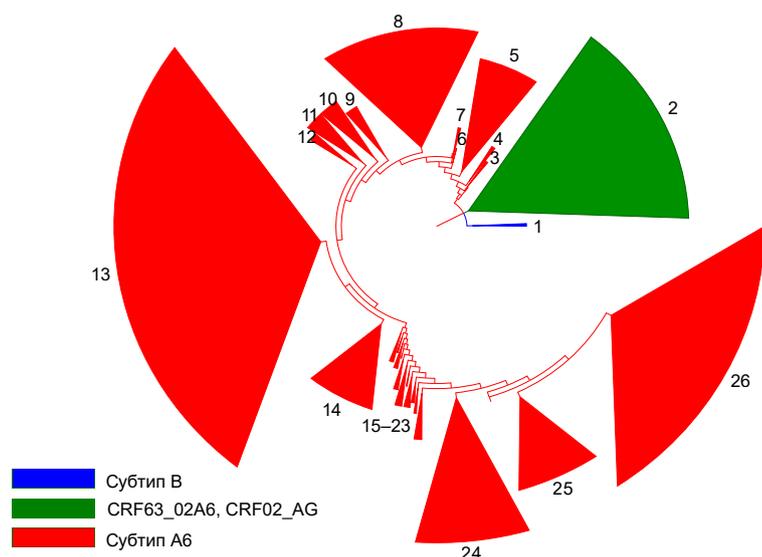


Рис. 2. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови и ликворе и количество CD4-клеток в выборке обследованных пациентов ($n = 19$).

Пунктиром обозначена медиана.

Fig. 2. HIV viral load in blood plasma and cerebrospinal fluid and an amount of CD4 cells among the examined patients ($n = 38$).

The dotted line indicates the median.



Номер кластера	Количество изолятов из исследуемой выборки	Прочие изоляты из России	Зарубежные изоляты
1	1	6	8
2	4	399	10
3	11	3	1
4	4	14	0
5	5	110	43
8	9	317	31
11	2	50	4
13	16	649	208
16	1	11	4
22	2	2	3
26	2	241	218

Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия на основе 2929 фрагментов гена *pol* ВИЧ-1 (кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы) с не менее чем 95% сходством со штаммами исследуемой выборки.

Fig. 3. Maxim-likelihood phylogenetic tree derived from 2929 HIV-1 *pol* gene (fragment encoding viral protease and part of reverse transcriptase) sequences which had 95% or more identity with studied ones.

Среди 57 штаммов ВИЧ, выделенных от пациентов из исследуемой выборки, 11 (19,3%; 95% ДИ 11,1–31,3) сформировали отдельный кластер № 3, где на их долю пришлось 73,3% (95% ДИ 48–89,1). Данные штаммы были выделены от 8 пациентов, из которых 6 женщин и 1 мужчина из Челябинска и

1 женщина из города Сатка Челябинской области. Из 8 пациентов только 2 заразились при употреблении наркотиков внутривенно, остальные — половым путём.

Большинство родственных штаммов происходили из России (75,4%; 95% ДИ 73,8–76,9). Их доля

варьировала от кластера к кластеру от 24% (кластер № 23) до 100% (кластер № 15). Наибольший интерес представляли штаммы, происходившие из иностранных государств.

В самом крупном на филогенетическом дереве кластере № 13, содержащем 873 генома ВИЧ (29,8%; 95% ДИ 28,2–31,5), оказались 16 штаммов от пациентов из исследуемой группы, а также штаммы от пациентов из 19 иностранных государств. Наибольшие доли среди 208 штаммов ВИЧ из иностранных государств в данном кластере пришлось на штаммы, циркулирующие в Киргизии (29,3%), Белоруссии (23,6%), Таджикистане (12,0%).

Филогенетический анализ парных образцов из плазмы крови и ликвора от 19 пациентов с референсами субсубтипа А6, субтипа В и CRF63_02A6 показал, что у 5 пациентов последовательности из плазмы и из ликвора попали в разные кластеры, причём у одного из них штаммы ВИЧ принадлежали к разным субтипам: субтип В — в плазме (ID159, AN: OR260493), субсубтип А6 — в ликворе (ID160, AN: OR260494) (рис. 4).

Из 5 пациентов с генетической неоднородностью геномов ВИЧ из различных компартментов

4 являлись потребителями инъекционных наркотиков. Необходимо отметить, что минимальные различия в геноме штаммов ВИЧ из ликвора и плазмы наблюдались у пациента, не являвшегося потребителем инъекционных наркотиков. На филогенетическом дереве с 2929 геномами ВИЧ штаммы от данных пациентов также оказались в различных кластерах. Существенные различия в геноме ВИЧ, персистирующего по разные стороны ГЭБ, может косвенно свидетельствовать о суперинфицировании пациента, при этом из плазмы крови выделяется штамм, заражение которым произошло позднее.

Для анализа аминокислотных замен (АКЗ) и третичной структуры протеазы и ревертазы ВИЧ были отобраны штаммы из парных проб от 13 пациентов из 19. Из сравнения исключены 5 пациентов с высокой гетерогенностью штаммов и подозрением на суперинфицирование и 1 пациент, у которого в штаммах из плазмы и из ликвора аминокислотный состав протеазы и ревертазы совпал полностью.

Сравнительный анализ выявленных АКЗ в протеазе и ревертазе штаммов из плазмы и ликвора 13 пациентов позволил выявить независимо возникшие мутации, которые сформировались и

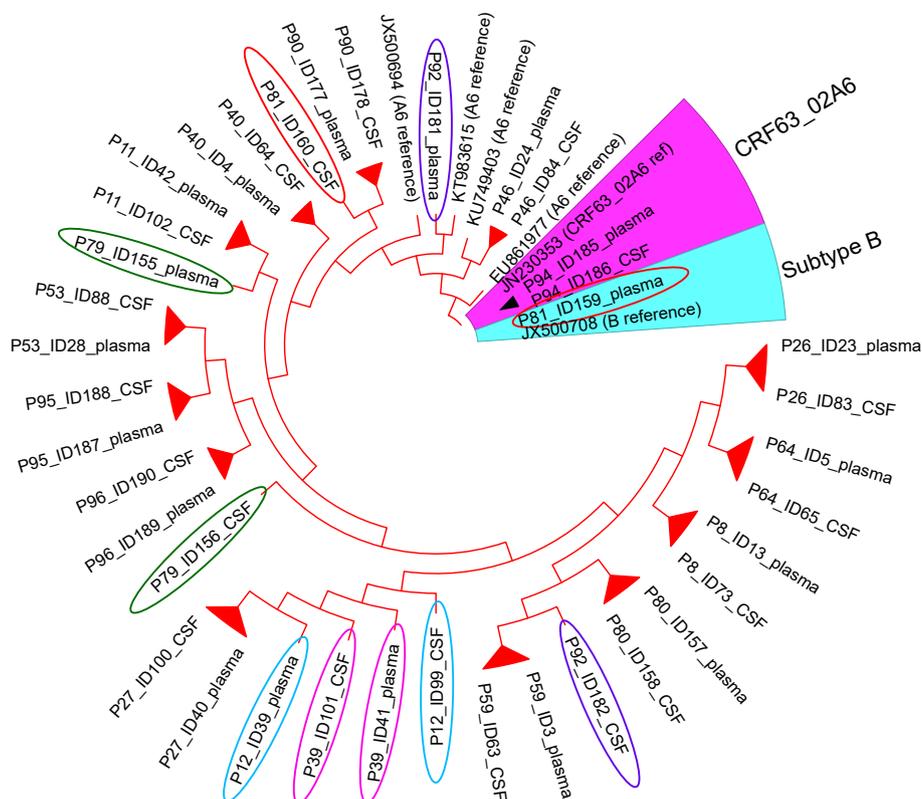


Рис. 4. Филогенетическое дерево 38 последовательностей гена *pol* ВИЧ-1 от 19 пациентов, полученных парно из плазмы крови и спинномозговой жидкости.

Овалами одного цвета обозначены парные образцы, попавшие в разные кластеры. На ветвях и в кластерах красного цвета размещаются последовательности, принадлежащие к субсубтипу А6 ВИЧ-1.

Fig. 4. Phylogenetic tree of 38 HIV-1 *pol* gene sequences from 19 patients obtained in pairs from blood plasma and CSF.

Ovals of the same color indicate paired samples that have fallen into different clusters. Red branches and clusters contain HIV-1 subtype A6 sequences.

закрепились в процессе микроэволюции штаммов ВИЧ, разделённых ГЭБ. Учитывая крайне тяжёлое состояние пациентов, в отдельных случаях могли наблюдаться максимально возможные изменения в геноме, которые успели произойти за время течения ВИЧ-инфекции у одного человека без АРТ.

В протеазе у штаммов ВИЧ, выделенных из плазмы, только в 5 из 13 образцов были выявлены АКЗ, возникшие независимо (присутствовали только у штаммов из одного компартмента и, соответственно, не унаследованные штаммом, персистирующим в ЦНС) от штаммов, выделенных из ликвора, при этом число АКЗ варьировало от 1 до 3. У штаммов, выделенных из ликвора, независимые АКЗ наблюдались также в 5 из 13 образцов, а их количество варьировало от 1 до 2.

В ревертазе у штаммов, выделенных из плазмы, в 10 из 13 образцов были выявлены АКЗ, возникшие независимо от штаммов, выделенных из ликвора, при этом число АКЗ варьировало от 1 до 6. В 12 образцах из ликвора число независимо возникших АКЗ варьировало от 2 до 7.

При сравнении третичной структуры белков, построенных на основе модели субъединицы p51 обратной транскриптазы ВИЧ, выявлены 2 высоко-

вариабельных участка, имеющих различия между штаммами из плазмы и из ликвора. У штаммов из плазмы и из ликвора от 5 пациентов структуры обратной транскриптазы ВИЧ-1 совпали полностью.

В штаммах из плазмы и из ликвора от других 5 пациентов различия в структуре ревертазы присутствовали в аминокислотных позициях 16–20, что соответствует началу структурного элемента *fingers* (рис. 5).

В конце структурного элемента *palm* в позициях 210–235 также оказался вариабельный участок, различия в котором между штаммами из плазмы и из ликвора были выявлены в 8 парах образцов, включая 5 пар, у которых наблюдалась разница по структуре в позициях 16–20 (рис. 6).

В других исследованиях установлено, что участок в области аминокислотных позиций 219–230, формирующий неупорядоченную петлю в субъединице p51 обратной транскриптазы ВИЧ-1, играет важную роль в процессе димеризации 2 субъединиц фермента [41].

При сравнении третичной структуры субъединицы p66 обратной транскриптазы ВИЧ-1 у 10 из 14 пациентов структуры фермента у штаммов из плазмы и из ликвора совпали полностью, ещё у 3 на-

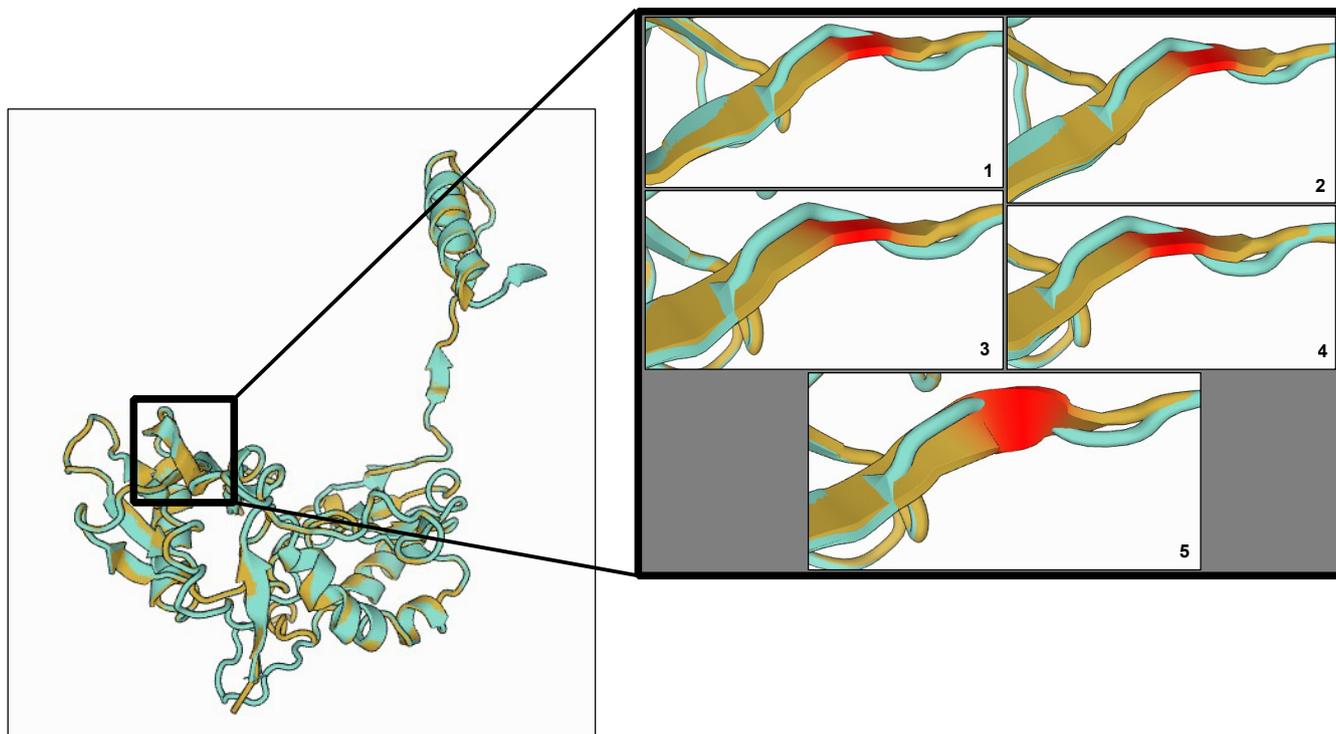


Рис. 5. Различия в структуре субъединицы p51 обратной транскриптазы ВИЧ-1 между штаммами из плазмы крови и из ликвора.

Чёрной рамкой крупно выделены аминокислотные позиции 16–20. Салатовым цветом обозначен штамм из плазмы, светло-коричневым — из ликвора. Красным выделена аминокислотная позиция 18.

Fig. 5. Difference in the tertiary structure of HIV-1 reverse transcriptase p51 subunit between strains from blood plasma and from CSF.

Amino acid positions 16–20 are framed. Strain from blood plasma is shown in cyan, from CSF — in light brown. Amino acid position 18 is highlighted in red.

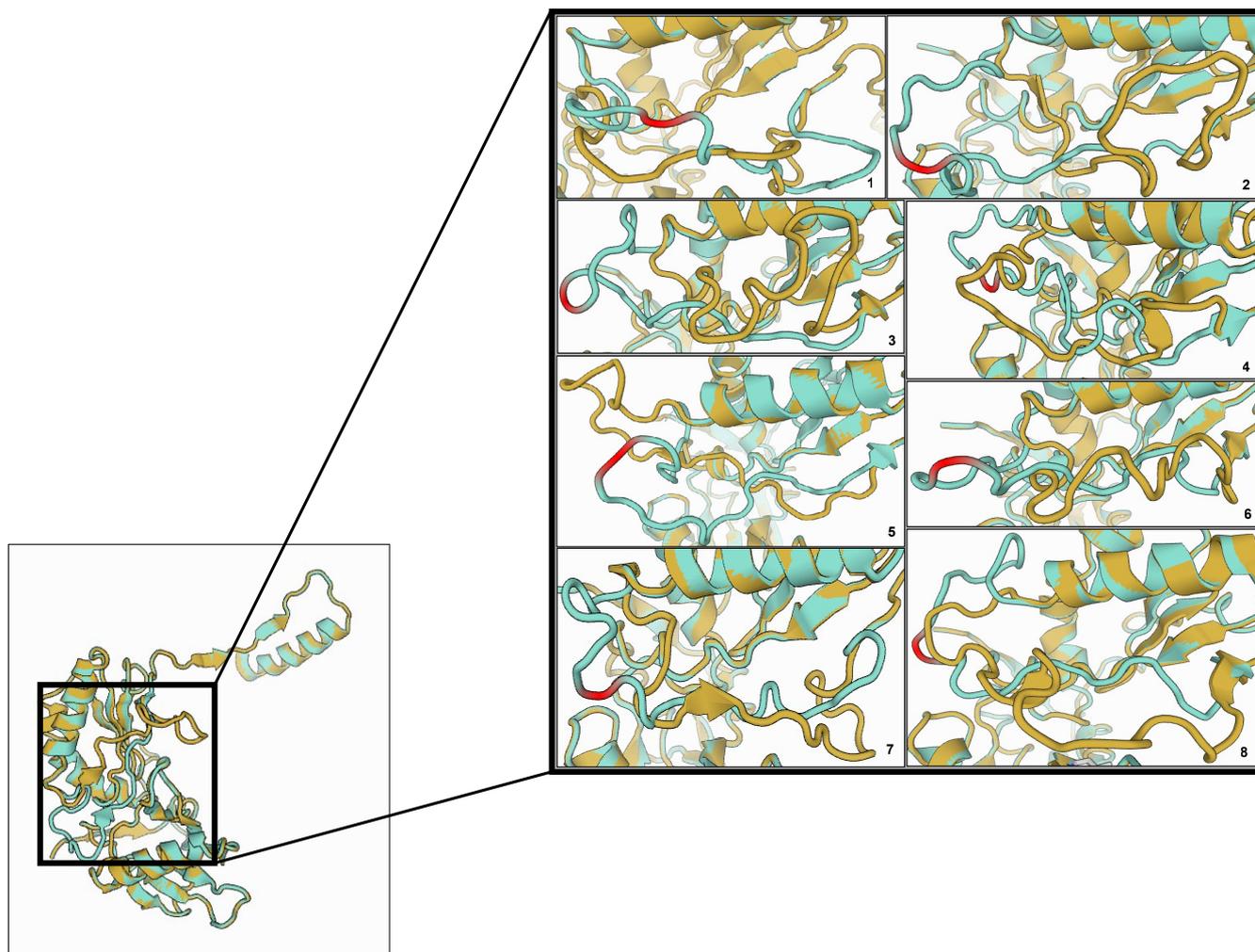


Рис. 6. Различия в структуре субъединицы р51 обратной транскриптазы ВИЧ-1 между штаммами из плазмы крови и из ликвора.

Чёрной рамкой крупно выделены аминокислотные позиции 210–235. Салатовым цветом обозначен штамм из плазмы, светло-коричневым — из ликвора. Красным выделена аминокислотная позиция 220.

Fig. 6. Difference in the tertiary structure of HIV-1 reverse transcriptase p51 subunit between strains from blood plasma and from CSF.

Amino acid positions 210–235 are framed. Strain from blood plasma is shown in cyan, from CSF — in light brown. Amino acid position 220 is highlighted in red.

блюдались закономерно повторяющиеся различия в аминокислотных позициях 187–190 (сразу после каталитически активных позиций 185, 186) (рис. 7).

Данная область входит в участок, являющийся местом связывания нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) с ферментом [42].

В результате даже единичных АКЗ в процессе микроэволюции третичная структура ревертазы изменялась, адаптируясь под специфические условия функционирования. Такая адаптация происходила независимо в разных компартаментах, разделённых ГЭБ. При этом закрепились только те АКЗ, которые наиболее оптимальны для среды функционирования каждого из штаммов ВИЧ. Анализ АКЗ в субъединицах р51 и р66 ревертазы продемонстрировал их связь с различиями в третичной структуре (таблица).

Третичная структура субъединицы р51 обратной транскриптазы ВИЧ-1 оказалась наиболее вариабельной, при этом для возникновения конформационных различий между белками штаммов из плазмы крови и ликвора требовалось не менее 2 эволюционных событий, связанных с АКЗ, по 1 в каждом из штаммов. Субъединица р51 каталитически неактивна и играет лишь структурную роль в комплексе обратной транскрипции. Аналогичные АКЗ в субъединице р66 ревертазы, которая и выполняет каталитические функции, не приводили к изменениям в третичной структуре. В 3 случаях различия в третичной структуре субъединицы р66 присутствовали, но были минимальны и охватывали участок длиной 3 аминокислоты. Различия третичной структуры субъединицы р66 ревертазы

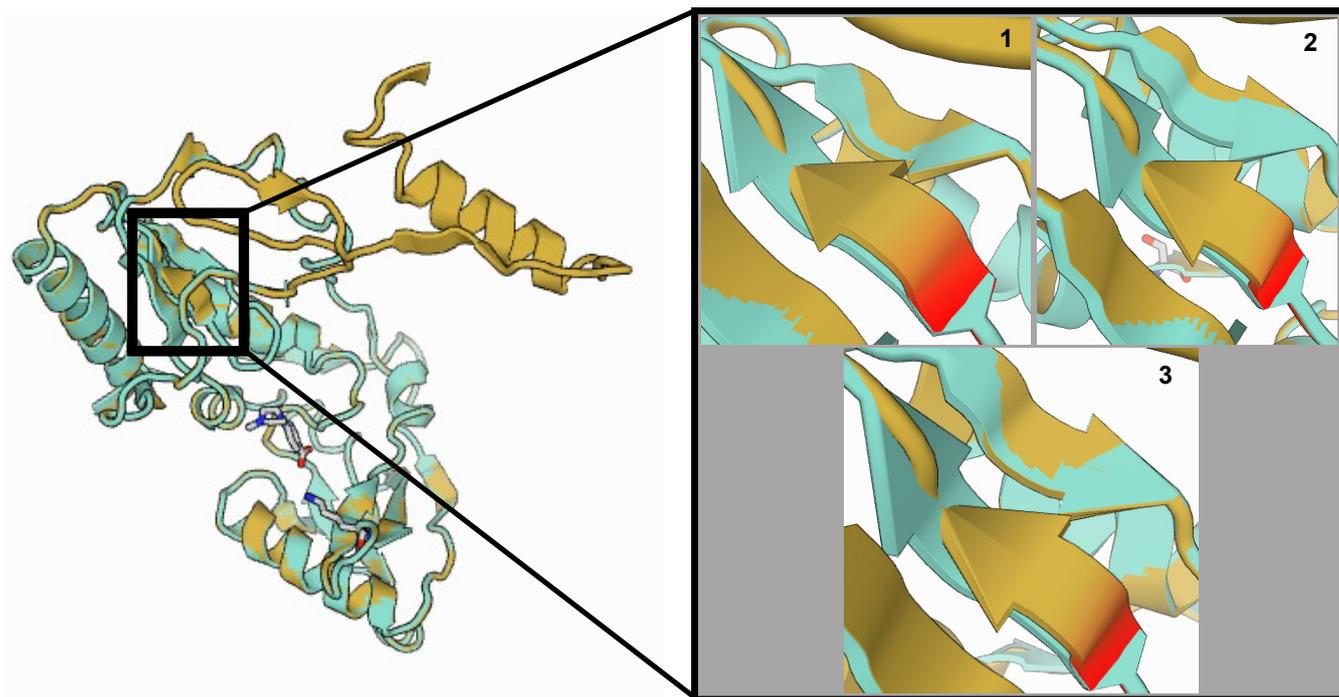


Рис. 7. Различия в структуре субъединицы р66 обратной транскриптазы ВИЧ-1 между штаммами из плазмы крови и из ликвора.

Чёрной рамкой крупно выделены аминокислотные позиции 187–190. Салатовым цветом обозначен штамм из плазмы, светло-коричневым — из ликвора. Красным выделена аминокислотная позиция 187.

Fig. 7. Difference in the tertiary structure of HIV-1 reverse transcriptase p66 subunit between strains from blood plasma and from CSF.

Amino acid positions 187–190 are framed. Strain from blood plasma is shown in cyan, from CSF — in light brown. Amino acid position 187 is highlighted in red.

были связаны как минимум с 3 эволюционными событиями в одном из штаммов или с 5 событиями в штаммах из ликвора и плазмы.

Заключение

Выявлена статистически достоверная слабая корреляция между уровнем вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови и ликворе. Показатель вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови превышал значения в ликворе на 0,8 Ig, или в 6,3 раза.

Филогенетический анализ фрагмента гена *pol* ВИЧ-1, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы, демонстрирует высокую степень гетерогенности, часть геномов кластеризуются с близкородственными штаммами, циркулирующими как в странах ближнего зарубежья на Украине и в Киргизии, так и в Центральной Европе: Польше и Германии. Это может свидетельствовать о высокой частоте заносов ВИЧ-инфекции в регион из-за рубежа.

Сравнение участков гена *pol* ВИЧ-1 (кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы) между штаммами из плазмы крови и из ликвора выявило у штаммов от 5 пациентов значительные генетические дистанции между геномами ВИЧ-1 (в 1 случае штаммы принадлежали разным субтипам — А6 в плазме и В в ликворе).

Количество независимых АКЗ в участке, кодирующем вирусную протеазу, у штаммов из плазмы крови составляло от 1 до 3, у штаммов из ликвора — от 1 до 2. Количество АКЗ в участке, кодирующем фрагмент обратной транскриптазы ВИЧ-1, в штаммах из плазмы крови составляло от 1 до 6, а в штаммах из ликвора — от 1 до 7.

Обнаружены высоковариабельные участки в структуре субъединицы р51 обратной транскриптазы ВИЧ-1 в аминокислотных позициях 16–20 и 210–235. У 5 пациентов структура фермента у штаммов из плазмы крови и из ликвора отличалась в обеих позициях, ещё у 4 — только в позициях 210–235. У 3 пациентов третичная структура субъединицы р66 обратной транскриптазы ВИЧ-1 различалась в аминокислотных позициях 187–190. Данная область входит в участок связывания с ННИОТ. Значительно большая разница в третичной структуре наблюдалась в субъединице р51, которая, как известно, не обладает каталитической активностью, однако играет важную структурную роль при формировании комплекса обратной транскрипции.

В третичной структуре вирусной протеазы различий между штаммами из плазмы крови и из ликвора не выявлено.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

АКЗ, связанные с различием в третичной структуре обратной транскриптазы (ОТ) штаммов ВИЧ-1 из ликвора и плазмы крови

Amino acid substitutions, associated with HIV-1 reverse transcriptase (RT) tertiary structure alterations in strains from CSF and blood plasma

ID пациента Patient ID	Номер в GenBank Accession number	Локус Locus	АКЗ относительно референсной последовательности HXB2 Amino acid substitutions relative to HXB2 reference sequence	Различия в третичной структуре субъединицы р51 ОТ в позициях 16–20 Differences in the tertiary structure of RT p51 subunit in positions 16–20	Различия в третичной структуре субъединицы р51 ОТ в позициях 210–235 Differences in the tertiary structure of RT p51 subunit in positions 210–235	Различия в третичной структуре субъединицы р66 ОТ в позициях 187–190 Differences in the tertiary structure of RT p66 subunit in positions 187–190
p8	OR260486	Плазма крови Blood plasma	T69S, Q242K			
	OR260531	Ликвор CSF	E6D, K20E, E28K		+	+
p11	OR260523	Плазма крови Blood plasma	T39D			
	OR260482	Ликвор CSF	T39N	+	+	
p26	OR260512	Плазма крови Blood plasma	–			
	OR260533	Ликвор CSF	E28K, K64R	+	+	
p27	OR260521	Плазма крови Blood plasma	K11A, T39K, V60I			
	OR260480	Ликвор CSF	K11T, E36D, T39E, K64R	+	+	
p53	OR260516	Плазма крови Blood plasma	–			
	OR260535	Ликвор CSF	K64R, A158S		+	
p59	OR260517	Плазма крови Blood plasma	V35K, T39K, I47M			
	OR260528	Ликвор CSF	T39R, K64R, D67N, T200A	+	+	
p95	OR260507	Плазма крови Blood plasma	E40D, D86N, L214F			
	OR260508	Ликвор CSF	–	+	+	+
p96	OR260509	Плазма крови Blood plasma	V35T, T39M, S162H			
	OR260510	Ликвор CSF	V35I, T39K, V60I, S162Y		+	
p46	OR260513	Плазма крови Blood plasma	V35K, F116Y			
	OR260534	Ликвор CSF	T27P, V35T, S162C, D177N			+

АКЗ в обратной транскриптазе ВИЧ-1, приводящие к изменениям в третичной структуре одной субъединицы, не обязательно повлекут изменения в другой.

Описанные наблюдения подтверждают наличие микроэволюционного процесса вируса, проявляющегося в изменениях как первичной, так и тре-

тичной структур ревертазы ВИЧ, идущего параллельно и независимо в организме одного пациента в разных компартаментах, разделённых ГЭБ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Bleasby K., Castle J.C., Roberts C.J., et al. Expression profiles of 50 xenobiotic transporter genes in humans and

- pre-clinical species: A resource for investigations into drug disposition. *Xenobiotica*. 2006;36(10–11):963–88. DOI: <https://doi.org/10.1080/00498250600861751>
2. Ene L., Duiculescu D., Ruta S.M. How much do antiretroviral drugs penetrate into the central nervous system? *J. Med. Life*. 2011;4(4):432–9.
 3. Qu Y., Weinstein A., Wang Z., et al. Legacy effect on neuropsychological function in HIV-infected men on combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2022;36(1):19–27. DOI: <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000003071>
 4. Heaton R.K., Ellis R.J., Tang B., et al. Twelve-year neurocognitive decline in HIV is associated with comorbidities, not age: a CHARTER study. *Brain*. 2023;146(3):1121–31. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awac465>
 5. Ferretti F., Mora-Peris B., Underwood J., et al. Cognitive impairment in a clinical setting. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr*. 2018;77(1):e10–3. DOI: <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001547>
 6. Antinori A., Arendt G., Becker J.T., et al. Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology*. 2007;69(18):1789–99. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000287431.88658.8b>
 7. Wang Y., Liu M., Lu Q., et al. Global prevalence and burden of HIV-associated neurocognitive disorder: A meta-analysis. *Neurology*. 2020;95(19):e2610–21. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000010752>
 8. Sacktor N. Changing clinical phenotypes of HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Neurovirol*. 2018;24(2):141–5. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13365-017-0556-6>
 9. Valcour V., Chalermchai T., Sailasuta N., et al. Central nervous system viral invasion and inflammation during acute HIV infection. *J. Infect. Dis*. 2012;206(2):275–82. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis326>
 10. Spudich S., González-Scarano F. HIV-1-related central nervous system disease: current issues in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Cold Spring. Harb. Perspect. Med*. 2012;2(6):a007120. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007120>
 11. Eugenin E.A., Osiecki K., Lopez L., et al. CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 mediates enhanced transmigration of human immunodeficiency virus (HIV)-infected leukocytes across the blood-brain barrier: a potential mechanism of HIV-CNS invasion and NeuroAIDS. *J. Neurosci*. 2006;26(4):1098–106. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3863-05.2006>
 12. Veenstra M., León-Rivera R., Li M., et al. Mechanisms of CNS viral seeding by HIV⁺ CD14⁺ CD16⁺ monocytes: establishment and reseeding of viral reservoirs contributing to HIV-associated neurocognitive disorders. *mBio*. 2017;8(5):e01280–17. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.01280-17>
 13. Yuan L., Qiao L., Wei F., et al. Cytokines in CSF correlate with HIV-associated neurocognitive disorders in the post-HAART era in China. *J. Neurovirol*. 2013;19(2):144–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13365-013-0150-5>
 14. León-Rivera R., Veenstra M., Donoso M., et al. Central Nervous System (CNS) viral seeding by mature monocytes and potential therapies to reduce CNS viral reservoirs in the cART era. *mBio*. 2021;12(2):e03633–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.03633-20>
 15. Lehmann M.H., Lehmann J.M., Erfle V. Nef-induced CCL2 expression contributes to HIV/SIV brain invasion and neuronal dysfunction. *Front. Immunol*. 2019;10:2447. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02447>
 16. Mediouni S., Darque A., Baillat G., et al. Antiretroviral therapy does not block the secretion of the human immunodeficiency virus Tat protein. *Infect. Disord. Drug Targets*. 2012;12(1):81–6. DOI: <https://doi.org/10.2174/187152612798994939>
 17. Paddick S., Holmes S., Ranasinghe S., et al. HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) in a cART-treated cohort of adults aged 50 and over in Kilimanjaro, Tanzania: The first longitudinal follow-up study of HAND in an older population in sub-Saharan Africa: Neuropsychiatry and behavioral neurology/Dementia. *Alzheimer's & Dementia*. 2020;16(S6):e041971. DOI: <https://doi.org/10.1002/alz.041971>
 18. Bergroth T., Ekici H., Gisslén M., et al. Difference in drug resistance patterns between minor HIV-1 populations in cerebrospinal fluid and plasma. *HIV Med*. 2009;10(2):111–5. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00659.x>
 19. St. Bernard L., Abolade J., Mohri H., Markowitz M., Evering T.H. Drug resistance mutation frequency of single-genome amplification-derived HIV-1 polymerase genomes in the cerebrospinal fluid and plasma of HIV-1-infected individuals under nonsuppressive therapy. *J. Virol*. 2020;94(20):e01824–19. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01824-19>
 20. Nightingale S., Geretti A.M., Beloukas A., et al. Discordant CSF/plasma HIV-1 RNA in patients with unexplained low-level viraemia. *J. Neurovirol*. 2016;22(6):852–60. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0448-1>
 21. Churchill M., Nath A. Where does HIV hide? A focus on the central nervous system. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2013;8(3):165–9. DOI: <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32835fc601>
 22. Bavaro D.F., Calamo A., Lepore L., et al. Cerebrospinal fluid compartmentalization of HIV-1 and correlation with plasma viral load and blood–brain barrier damage. *Infection*. 2019;47(3):441–6. DOI: <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01268-8>
 23. Bednar M.M., Sturdevant C.B., Tompkins L.A., et al. Compartmentalization, viral evolution, and viral latency of HIV in the CNS.: 2. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2015;12(2):262–71. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11904-015-0265-9>
 24. Olivieri K.C., Agopian K.A., Mukerji J., Gabuzda D. Evidence for adaptive evolution at the divergence between lymphoid and brain HIV-1 nef genes. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2010;26(4):495–500. DOI: <https://doi.org/10.1089/aid.2009.0257>
 25. Gega A., Kozal M.J., Chiarella J., et al. Deep sequencing of HIV-1 variants from paired plasma and cerebrospinal fluid during primary HIV infection. *J. Virus Erad*. 2015;1(4):264–8.
 26. Shahid A., MacLennan S., Jones B.R., et al. The replication-competent HIV reservoir is a genetically restricted, younger subset of the overall pool of HIV proviruses persisting during therapy, which is highly genetically stable over time. *J Virol*. 2024;98(2):e0165523. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01655-23>
 27. Hu W.S., Hughes S.H. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2012;2(10):a006882. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006882>
 28. Singh A.K., Das K. Insights into HIV-1 Reverse Transcriptase (RT) inhibition and drug resistance from thirty years of structural studies. *Viruses*. 2022;14(5):1027. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14051027>
 29. Madden T. Chapter 16. The BLAST sequence analysis tool. In: *The NCBI Handbook*. National Center for Biotechnology Information (US); 2003.
 30. Madeira F., Pearce M., Tivey A.R.N., et al. Search and sequence analysis tools services from EMBL-EBI in 2022. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(W1):W276–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac240>
 31. Liu T.F., Shafer R.W. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin. Infect. Dis*. 2006;42(11):1608–18. DOI: <https://doi.org/10.1086/503914>
 32. Posada D., Crandall K.A. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 1998;14(9):817–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.9.817>
 33. Kumar S., Stecher G., Li M., et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol*. 2018;35(6):1547–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

34. Apetrei C., Hahn B., Rambaut A., et al. *HIV Sequence Compendium 2021*. Los Alamos, New Mexico; 2021.
URL: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/2021/sequence2021.pdf>
35. Wilson E.B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J. Am. Stat. Association*. 1927;22(158):209–12. DOI: <https://doi.org/10.2307/2276774>
36. Guex N., Peitsch M.C., Schwede T. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: a historical perspective. *Electrophoresis*. 2009;30(Suppl. 1):S162–73.
DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.200900140>
37. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(W1):W296–303.
DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
38. Daliparty V.M., Balasubramanya R. *HIV Encephalitis*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

Информация об авторах

Питерский Михаил Валерьевич[✉] — н.с. Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД Федерального научно-исследовательского института вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия, piterskiy_mv@niiviro.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5506-2389>

Ходаков Олег Александрович — м.н.с. Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД Федерального научно-исследовательского института вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1493-6080>

Михеева Татьяна Владимировна — зав. 1-го инфекционного отделения Клиники Южно-Уральского медицинского университета, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3371-9495>

Билалова Наталья Васильевна — зав. арбитражной лабораторией ВИЧ и оппортунистических инфекций Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД Федерального научно-исследовательского института вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2693-5544>

Конькова-Рейдман Алена Борисовна — д.м.н., профессор каф. инфекционных болезней Южно-Уральского медицинского университета, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6058-0997>

Захарова Юлия Александровна — д.м.н., проф., научный руководитель Института дезинфектологии Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3416-0902>

Семенов Александр Владимирович — д.б.н., директор Федерального научно-исследовательского института вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Участие авторов: **Питерский М.В.** — подбор и анализ литературы, статистическая и биоинформационная обработка и анализ данных, написание текста, редактирование; **Ходаков О.А.** — подбор и анализ литературы, биоинформационная обработка и анализ данных, написание текста; **Билалова Н.В.** — сбор и обработка биоматериала, секвенирование; **Михеева Т.В.** — сбор и обработка биоматериала, обработка и анализ данных; **Конькова-Рейдман А.Б.** — концепция и дизайн исследования, редактирование; **Захарова Ю.А.** — концепция и дизайн исследования, подбор и анализ литературы; **Семенов А.В.** — концепция и дизайн исследования, анализ данных, написание текста, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 15.10.2023;
принята к публикации 21.12.2023;
опубликована 28.02.2024

39. Jagtap S.B., Patil P.M. Clinical profile of neurological manifestations and CD4 counts in patient living with HIV cases and its outcome with treatment with ART at a tertiary hospital. *Med-Pulse International Journal of Medicine*. 2021;21(3):78–84. DOI: <https://doi.org/10.26611/10212033>
40. Ulfhammer G., Edén A., Antinori A., et al. Cerebrospinal fluid viral load across the spectrum of untreated human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: a cross-sectional multicenter study. *Clin. Infect. Dis*. 2022;75(3):493–502. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab943>
41. London R.E. HIV-1 Reverse transcriptase: a metamorphic protein with three stable states. *Structure*. 2019;27(3):420–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.str.2018.11.011>
42. Sarafianos S.G., Marchand B., Das K., et al. Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition. *J. Mol. Biol*. 2009;385(3):693–713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.10.071>

Information about the authors

Mikhail V. Piterskiy[✉] — researcher, Ural Federal District AIDS Centre, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome", Ekaterinburg, Russia, piterskiy_mv@niiviro.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5506-2389>

Oleg A. Khodakov — junior researcher, Ural Federal District AIDS Centre, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome", Ekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1493-6080>

Tatyana V. Mikheeva — Head, 1st Infectious diseases department, Clinic of the South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3371-9495>

Natalia V. Bilalova — Head, Arbitration laboratory of HIV and opportunistic infections, Ural Federal District AIDS Centre, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome", Ekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2693-5544>

Alena B. Konkova-Reidman — D. Sci. (Med.), Professor, Department of Infectious diseases, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6058-0997>

Yuliya A. Zakharova — D. Sci. (Med.), Professor, Scientific Director, Institute of Disinfectology, F.F. Erisman Federal Scientific Centre of Hygiene, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3416-0902>

Aleksandr V. Semenov — D. Sci. (Biol.), Director, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections "Virome", Ekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Author contribution: **Piterskiy M.V.** — statistical and bioinformatics data processing and analysis, literature selection and analysis, text writing, editing; **Khodakov O.A.** — literature selection and analysis, bioinformatics data processing and analysis, text writing; **Bilalova N.V.** — collection and processing of biomaterial, sequencing; **Mikheeva T.V.** — collection and processing of biomaterial, data processing and analysis; **Konkova-Reidman A.B.** — concept and design of the study; editing; **Zakharova Yu.A.** — concept and design of the study, literature selection and analysis; **Semenov A.V.** — concept and design of the study, data analysis, text writing, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made final approval of the version to be published.

The article was submitted 15.10.2023;
accepted for publication 21.12.2023;
published 28.02.2024