

6. Huang J., Wang F., Argyris E. et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat. Med.* 2007, 13:1241-1247.
7. Lichterfeld M. et al. Immunodominance of HIV-1-specific CD8+ T-cell responses in acute HIV-1 infection: at the crossroads of viral and host genetics. *Trends in Immunol.* 2005, 26:166-171.
8. Mariani R., Chen D., Schröfelbauer B. Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by vif. *Cell.* 2003, 114:21-31.
9. Montefiori D.C., Pantaleo G., Fink L.M. et al. Neutralizing and infection-enhancing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in long-term nonprogressors. *J. Infect. Dis.* 1996, 173:60-67.
10. Niwa Y., Yano M., Futaki S. et al. T-cell membrane-associated serine protease, tryptase TL2, binds human immunodeficiency virus type 1 gp120 and cleaves the third-variable-domain loop of gp120. Neutralizing antibodies of human immunodeficiency virus type 1 inhibit cleavage of gp120. *Eur. J. Biochem.* 1996, 237:64-70.
11. Pedersen C., Katzenstein T., Nielsen C. et al. Prognostic value of serum HIV-RNA levels at virologic steady state after seroconversion: Relation to CD4 cell count and clinical course of primary infection. *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 1997, 16:93-99.
12. Wang S.K., Liang P.H., Astronomo R.D. et al. Targeting the carbohydrates on HIV-1: Interaction of oligomannose dendrons with human monoclonal antibody 2G12 and DC-SIGN. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2008, 105:3690-3695.
13. Zack J.A., Arrigo S.J., Weitsman S.R. et al. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: Molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell.* 1990, 61:213-222.

Поступила 18.12.18

Контактная информация: Лухверчик Людмила Николаевна, к.м.н.,
115088, Москва, 1 Дубровская ул., 15, р.т. (495)674-77-95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*М.Н.Носик¹, К.А.Рыжов¹, А.В.Кравченко², С.Е.Севостьянихин³, У.А.Куимова², А.Б.Потапова⁴,
А.Л.Собкин³*

АНАЛИЗ УРОВНЯ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПЕРВИЧНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВИЧ-1 К АНТИРЕТРОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТАМ НА ТЕРРИТОРИИ МОСКВЫ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

¹НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, ²ЦНИИ эпидемиологии, Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИД, ³Туберкулезная клиническая больница №3, Москва, ⁴Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Цель. Проанализировать уровень лекарственной устойчивости ВИЧ среди первичных пациентов (не получавших АРВ-терапию), проживающих в Московском регионе, где доступ к антиретровирусной терапии достаточно высок. *Материалы и методы.* Были исследованы образцы крови от 527 больных за период 2008-2015 гг., не получавших АРВ-терапию и проживающих в Московском регионе: в Москве (n=279) и в Московской области (n=248). Для анализа возможных мутаций устойчивости были изучены нуклеотидные последовательности области генома вируса с использованием тест-систем ViroseqTMHIV-1 Genotyping System и программного обеспечения CPR (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>). *Результаты.* Установлено, что уровень передачи резистентных штаммов ВИЧ-1 среди «наивных» ВИЧ-позитивных пациентов по-прежнему остается довольно низким и составляет 2%. Однако процент мутаций полиморфизма и второстепенных замен, которые в сочетании с другими мутациями устойчивости в гене обратной транскриптазы могут приводить к снижению чувствительности вируса к антиретровирусным препаратам (АРВ-препараты), довольно высок и составляет 34,5%. *Заключение.* Уровень первичной резистентности среди ВИЧ-инфицированных лиц, не получающих лечение, не превышает 5%. Однако, учитывая

широкий доступ к АРТ и появление в последние годы неоднозначных мутаций и делеций в области обратной транскриптазы/ гене протеазы, которые потенциально могут привести к устойчивости к АРВ-препаратам, необходим постоянный мониторинг за циркуляцией резистентных штаммов.

Журн. микробиол., 2019, № 3, С. 27—31

Ключевые слова: ВИЧ, мутации, лекарственная устойчивость

M.N.Nosik¹, K.A.Ryzhov¹, A.V.Kravchenko², S.E.Sevostyanihin³, U.A.Kuimova², A.B.Potapova⁴, A.L.Sobkin³

ANALYSIS OF PREVALENCE OF HIV-1 PRIMARY RESISTANCE TO ANTIRETROVIRAL DRUGS IN THE TERRITORY OF MOSCOW AND MOSCOW REGION

¹Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, ²Central Research Institute of Epidemiology, ³Moscow Tuberculosis Clinic №3, ⁴Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Aim. To analyze the level of HIV drug resistance among primary patients (who did not receive antiretroviral therapy (ART)) living in the Moscow region, where access to the antiretroviral therapy is quite high. *Material and methods.* Blood samples from 527 drug-naïve patients who live in the Moscow (n=279) and in the Moscow region (n=248) were examined for the period 2008-2015 years. For detecting and analyzing possible mutations of resistance virus genome nucleotide sequence region was studied using the test systems ViroseqTMHIV-1 Genotyping System and StanfordHIV Drug Resistance database (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>). *Results.* It was found that the level of transmission of HIV-1 resistant strains among naïve-drug HIV-positive patients is still quite low, that is 2%. However, the percentage of polymorphism mutations and secondary substitutions which in combination with other resistance mutations in the reverse transcriptase gene can reduce the virus sensitivity to antiretroviral drugs (ARVs) is quite high — 34.5%. *Conclusion.* The level of primary resistance among drug-naïve HIV-infected persons does not exceed 5%. However, given the wide access to ART and the emergence in recent years of ambiguous mutations and deletions in the reverse transcriptase/ protease gene that could potentially lead to ARVs resistance, it is obvious that continuous monitoring of the circulation of resistant strains is necessary.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 3, P. 27—31

Key words: HIV, mutations, drug-resistance

ВВЕДЕНИЕ

Лечение ВИЧ-инфекции является одной из актуальнейших проблем современной медицины. В настоящее время с помощью химиопрепаратов, направленных на ингибирование различных ферментов вируса, удается значительно улучшить состояние больных, подавляя на какой-то период репродукцию ВИЧ. К сожалению, это временный успех, так как сложная природа вируса иммунодефицита человека позволяет ему быстро адаптироваться к действию лекарств. Широкое использование антиретровирусной терапии (АРТ) при ВИЧ-инфекции приводит к формированию у ВИЧ-инфицированных устойчивости к лекарственным препаратам. При развитии резистентности к препаратам сразу нескольких групп возможности АРТ значительно сокращаются. В настоящее время всё больше появляется сообщений о передаче резистентных штаммов ВИЧ лицам, которые ранее не проходили АРТ, в результате чего проводимое лечение не дает положительных результатов. Более того, уже существующие мутации в геноме вируса, связанные с резистентностью к антиретровирусным препаратам (АРВ-препаратам) вследствие естественного полиморфизма квазивариантов вируса еще до начала терапии сводят на нет положительный эффект от АРВ-препаратов [14]. Так, уровень резистентности среди первичных пациентов до

начала АРТ составляет 10% в странах с низким и средним уровнем дохода. В странах Западной Европы и США уровень первичной резистентности составляет 12-23%, США (19-23%), Франции и Великобритании (14%), Нидерландах (13%), Испании (12%) [12,13]. В нашей стране до последнего времени уровень первичной резистентности оставался невысоким и не превышал 5% [3,7,9,10].

Как можно более раннее выявление вариантов ВИЧ, устойчивых к АРВ-препаратам, позволяет оптимально скорректировать терапию и тем самым предотвратить формирование множественных мутаций. Известно, что новые мутации увеличивают степень резистентности и формируют перекрестную резистенцию к другим препаратам этого же класса [11]. ВОЗ определяет четыре уровня распространенности первичной резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам, каждый из которых предусматривает комплекс мер для ограничения последствий негативного влияния резистентности вируса на организм пациента [12]. В большинстве европейских странах проверка на резистентность к антиретровирусным препаратам (АРВ-препаратам) является неотъемлемой частью терапии. В России, в отличие от других стран мира, не рекомендуется проведение массовых скрининговых тестирований на первичную резистентность ВИЧ к АРВ-препаратам у «наивных пациентов» и/или планирующих начать лечение ВИЧ- позитивных лиц [2,8]. Целесообразным считается проведение кросс-секционных исследований в регионах страны с опытом применения АРТ более трех лет [8].

Учитывая, что с увеличением доступа к АРТ всё большее число недавно ВИЧ-инфицированных пациентов могут быть инфицированы резистентными штаммами вируса, целью работы было проанализировать уровень лекарственной устойчивости ВИЧ за семилетний период среди первичных пациентов (не получавших АРВ-терапию), проживающих в Московском регионе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были исследованы образцы крови от 527 ВИЧ-позитивных пациентов за период 2008-2015 гг., не получавших АРТ и проживающих в Московском регионе: в Москве (n=279) и в Московской области (n=248). Пациенты наблюдались в Федеральном Центре по профилактике и борьбе со СПИД и в ТБК №3. Для анализа возможных мутаций устойчивости были изучены нуклеотидные последовательности области генома вируса с использованием тест-систем Viroseq™HIV-1 Genotyping System и программного обеспечения CPR (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировано 114 образцов крови за период 2008-2010 гг., 198 образцов крови за период 2011-2012 гг. и 215 за период 2013-2015 гг. Хотя согласно российским рекомендациям по надзору за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к АРВ-препаратам, критериями включения пациента в исследование по изучению первичной резистентности является длительность инфицирования менее 1 года на момент исследования и количество CD4 > 500 клеток/мл [4], для получения более полной информации о циркуляции резистентных штаммов ВИЧ-1 среди первичных пациентов в обследуемую группу вошли также лица с числом клеток CD4 менее 500 клеток/мл (35%) и со сроками инфицирования более одного года на момент исследования (23%).

Среди исследованных образцов за период 2008-2010 гг. в 2 образцах было выявлено по одной значимой мутации устойчивости: мутация M184V (n=1), ассоциируемая с резистентностью к НИОТ (нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы), и мутация K101E (n=1), ассоциируемая со средней резистентностью к

препаратам класса ННИОТ (ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы), в частности к невирапину и рилпивирину. За период 2011- 2012 гг. значимые мутации были выявлены в 4 образцах: мутации Q151M (n=1) и M41L (n=2), ведущие к устойчивости к НИОТ, и мутация L100F (n=1), связанная с резистентностью к ННИОТ. За период 2013- 2015 гг. значимые мутации были выявлены также в 4 образцах: D30N (n=2) мутация высокого уровня резистентности к нелфинавиру (ИП), мутация V108I (n=1), ассоциируемая со средней резистентностью к невирапину (ННИОТ) и мутация V32I (n=1), ассоциируемая с резистентностью к препаратам класса ИП (ингибиторы протеазы), за исключением саквинавира. Таким образом, частота выявления мутаций устойчивости у первичных больных составила за период 2009-2010 гг. 1,8%; за период 2011-2012 гг. — 2%, за период 2013-2015 гг. — 2%. Процент мутаций полиморфизма и второстепенных замен, которые могут оказывать незначительное снижение чувствительности вируса в сочетании с другими мутациями устойчивости для всех групп был фактически одинаковым: в гене обратной транскриптазы — A62V (44,1±0,6%), V90I (10,5±0,2%), E138A (1,1±0,1%); в гене протеазы — L10I (16,4%±0,2), V77I (31,7±0,4%), M36A (69,9±0,5%), L63P (9,8±0,4%). Среди образцов, собранных за период 2013- 2015 гг., у 8 образцов были выявлены довольно необычные мутации в области обратной транскриптазы: V276L, L279IKMN, K275X, K281APX, G285AE, T286DINV, K287KRW, A288FIL, L289LFV, T77FIS, P9IT, K13KE, I274IFL, V276AP, L279DEKN, Q278X и в области протеазы: D25DAE, T26TA, G27GA, D30DE, T31TA, E35Deletion, R87R, E65EIKV.

Таким образом, в ходе проведенных исследований нами было установлено, что уровень передачи резистентных штаммов ВИЧ-1 среди ВИЧ-инфицированных лиц, не получающих лечение, по-прежнему остается довольно низким и составляет 2%. Однако процент мутаций полиморфизма и второстепенных замен, которые в сочетании с другими мутациями устойчивости в гене обратной транскриптазы могут приводить к снижению чувствительности вируса к антиретровирусным препаратам (АРВ), довольно высок и составляет 34,5%.

Полученные результаты в целом согласуются с данными других исследователей и свидетельствуют о том, что уровень первичной резистентности среди ВИЧ-инфицированных лиц, не получающих лечение, не превышает 5% [1,4—6]. Однако, учитывая широкий доступ к АРТ и появление в последние годы неоднозначных мутаций и делеций в области обратной транскриптазы/ гене протеазы, которые потенциально могут привести к устойчивости к АРВ-препаратам, необходим постоянный мониторинг за циркуляцией резистентных штаммов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Ефимов Е.И.. Анализ распространенности резистентных штаммов ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе. *Вопр. вирус.* 2013, 6: 39-41.
2. Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Пекшева О.Ю. Анализ распространенности первичной резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе. *Медицинский альманах.* 2016, 3(43):93-95.
3. Казеннова Е.В., Антонова О.В., Кузин С.Н., Серкина Т.П., Соколова Л.С., Васильев А.В., Лаповок И.А., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологическое исследование распространения ВИЧ-1 на территории Республики Саха (Якутия). *Вопр. вирусол.*, 2011, 5:30-34.
4. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Лебедев А.В., Глушенко Н.В., Зверев С.Я., Нистратова Ю.И., Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Герасимов В.В., Шошокин В.А., Бобкова М.Р. Анализ резистентности ВИЧ в Приволжском федеральном округе Российской Федерации. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия.* 2015, 7(3):56-66.

5. Лебедев А.В., Нешумаев Д.А., Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Туманов А.С., Глушенко Н.В., Плотникова Ю.К., Пономарева О.А., Ярыгина Е.И., Бобкова М.Р. Сравнительный анализ генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в Иркутской области в 1999 и 2012 гг. *Вопр. вирусол.* 2016, 61(3):112-119.
6. Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Зверев С.Я., Нистратова Ю.И., Лага В.Ю., Туманов А.С., Глушенко Н.В., Ярыгина Е.И., Бобкова М.Р. Анализ изменчивости гена *env* варианта IDU-A ВИЧ-1 в ходе развития эпидемии ВИЧ-инфекции на территории Пермского края России (1996-2011 гг.). *Вопр. вирусол.* 2016, 61(5):222-229.
7. Мусатов В.Б., Яковлев А.А., Тыргина Т.В., Ладная Н.Н. Прогностическое значение результатов генотипирования вирусов иммунодефицита человека, выделенных от больных первичной ВИЧ-инфекцией в 2009 и 2011 годах в Санкт-Петербурге. *Вестник Санкт-Петербургского университета.* 2013, 1:171-178.
8. Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам. Методические рекомендации. МР 3.1.5.0075/1-13. Роспотребнадзор, 2013.
9. Петрова Л.В., Дементьева Н.Е., Яковлев А.А. Проблема резистентности к антиретровирусным препаратам в терапии ВИЧ-инфекции и результаты ее определения у ВИЧ-инфицированных больных по материалам ГИБ № 30 им. С.П. Боткина. *Вестник Санкт-Петербургского университета.* 2008, 11(2):59-67.
10. Суханова А.Л., Рудинский Н.И., Богословская Е.В., Круглова А.И., Башкирова Л.Ю., Цыганова Г.М., Шипулин Г.А., Казеннова Е.В., Аликикна Ю.И., Зверев С.Я., Гришечкин А.Е., Михайлович В.М., Покровский В.В., Бобкова М.Р., Бобков А.Ф. Полиморфизм протеазы и обратной транскриптазы у вариантов ВИЧ 1 подтипа А, доминирующих на территории СНГ. *Молекулярная биология.* 2005, 6:934-941.
11. Alteri C., Svicher V., Gori C. et al. Characterization of the patterns of drug-resistance mutations in newly diagnosed HIV-1 infected patients naive to the antiretroviral drugs. *BMC Infect. Dis.* 2009, 9:1471-2334.
12. WHO. HIV drug resistant report 2017.
13. Hrazic M., Pellegrin I., Deveaue C. et al. Genotypic drug resistance during HIV-1-primary infection in France (1996-1999): frequency and response to treatment. *AIDS.* 2002, 16:793-796.
14. Lapadula G., Izzo I., Gargiulo F. et al. Updated prevalence of genotypic resistance among HIV-1 positive patients naive to antiretroviral therapy: a single center analysis. *J. Med. Virol.* 2008, 80:747-53.

Поступила 18.12.18

Контактная информация: Носик Марина Николаевна, к.б.н.,
115088, Москва, 1 Дубровская ул.,15, р.т. (495)917-49-00

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

А.В.Зубков¹, Н.С.Кузьмина¹, С.А.Мазурина¹, Л.Г.Бутова¹, Н.М.Рахматулина², Н.А.Сибгатулина², В.Б.Гервазиева¹

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ sIGE К ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЕ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С АУТОИММУННЫМИ И АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

¹НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; ²Казанская государственная медицинская академия

Цель. Создание метода определения sIgE к тиреопероксидазе (ТПО) в сыворотке крови пациентов с аутоиммунными и аллергическими заболеваниями. *Материалы и методы.* Материалом для исследования служили сыворотки крови 25 больных АИТ, 94 пациентов с ХСК, 47 больных БА, аллергическим ринитом (АР) и 25 образцов сывороток крови здоровых лиц. Возраст пациентов варьировал от 17 до 65 лет. В разработанном методе определения sIgE к ТПО в твёрдофазном