

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-124>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



Перспектива применения препаратов на основе явления РНК-интерференции против ВИЧ-инфекции

Пашков Е.А.^{1,2}, Пак А.В.¹, Пашков Е.П.¹, Быков А.С.¹, Буданова Е.В.¹, Поддубиков А.В.², Свитич О.А.^{1,2}, Зверев В.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Минобрнауки России, 105064, г. Москва, Россия

На сегодняшний день вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, HIV) является одной из наиболее актуальных проблем мирового здравоохранения. С момента открытия в 1978 г. он унёс жизни более 35 млн человек, а число инфицированных сегодня достигает 37 млн человек. При отсутствии высокоактивной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекция характеризуется неуклонным снижением количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, однако её проявления способны затронуть центральную нервную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, эндокринную и мочеполовую системы. Одновременно с этим особую опасность представляют осложнения, индуцированные представителями патогенной и условно-патогенной микрофлоры, которые могут привести к развитию сопутствующих бактериальных, грибковых и вирусных инфекций. Следует учитывать, что важной проблемой является возникновение вирусов, устойчивых к традиционным лекарственным препаратам, а также токсичность самих лекарственных средств для организма. В контексте настоящего обзора особый интерес представляет оценка перспективности создания и клинического применения препаратов на основе малых интерферирующих РНК, направленных на подавление репродукции ВИЧ, с учётом опыта подобных исследований, проведённых ранее. РНК-интерференция – каскад регуляторных реакций в эукариотических клетках, в результате которого происходит деградация чужеродной матричной РНК. Разработка препаратов на основе механизма РНК-интерференции позволит преодолеть проблему вирусной резистентности. Наряду с этим данная технология позволяет оперативно реагировать на случаи возникновения вспышек новых вирусных заболеваний.

Ключевые слова: *ВИЧ-1; HIV; малые интерферирующие РНК; нокаут гена; обзор; лекарственная резистентность*

Для цитирования: Пашков Е.А., Пак А.В., Пашков Е.П., Быков А.С., Буданова Е.В., Поддубиков А.В., Свитич О.А., Зверев В.В. Перспектива применения препаратов на основе явления РНК-интерференции против ВИЧ-инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(4): 278-289. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-124>

Для корреспонденции: Пашков Евгений Алексеевич, младший научный сотрудник «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Минобрнауки России, 105064, г. Москва, Россия. E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Участие авторов: Пашков Е.А., Пашков Е.П., Быков А.С. – сбор и обработка материалов; Пашков Е.А., Пак А.В., Поддубиков А.В. – написание текста, заключение; Буданова Е.В., Быков А.С. – научное редактирование; Свитич О.А., Пашков Е.П., Зверев В.В. – резюме, общая редакция.

Финансирование. Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Министерства образования и науки России, Соглашение № 075-15-2021-676 от 28.07.2021.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова за поддержку и вклад в проведение работы.

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

Поступила 08.06.2022
Принята в печать 11.08.2022
Опубликована 31.08.2022

ORIGINAL ARTICLE

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-124>

The prospects for the use of drugs based on the phenomenon of RNA interference against HIV infection

Evgenij A. Pashkov^{1,2}, Anastasia V. Pak¹, Evgenij P. Pashkov¹, Anatoliy S. Bykov¹, Elena V. Budanova¹, Alexander V. Poddubikov², Oxana A. Svitich^{1,2}, Vitaly V. Zverev^{1,2}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Federal State Budgetary Scientific Institution "I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera", Moscow, Russia

The human immunodeficiency virus (HIV) is currently one of the most pressing global health problems. Since its discovery in 1978, HIV has claimed the lives of more than 35 million people, and the number of people infected today reaches 37 million. In the absence of highly active antiretroviral therapy (HAART), HIV infection is characterized by a steady decrease in the number of CD4⁺ T-lymphocytes, but its manifestations can affect the central nervous, cardiovascular, digestive, endocrine and genitourinary systems. At the same time, complications induced by representatives of pathogenic and opportunistic microflora, which can lead to the development of bacterial, fungal and viral concomitant infections, are of particular danger. It should be borne in mind that an important problem is the emergence of viruses resistant to standard therapy, as well as the toxicity of the drugs themselves for the body. In the context of this review, of particular interest is the assessment of the prospects for the creation and clinical use of drugs based on small interfering RNAs aimed at suppressing the reproduction of HIV, taking into account the experience of similar studies conducted earlier. RNA interference is a cascade of regulatory reactions in eukaryotic cells, which results in the degradation of foreign messenger RNA. The development of drugs based on the mechanism of RNA interference will overcome the problem of viral resistance. Along with this, this technology makes it possible to quickly respond to outbreaks of new viral diseases.

Keywords: HIV-1; HIV; small interfering RNA; gene knockdown; review; drug resistance

For citation: Pashkov E.A., Pak A.V., Pashkov E.P., Bykov A.S., Budanova E.V., Poddubikov A.V., Svitich O.A., Zverev V.V. The prospects for the use of drugs based on the phenomenon of RNA interference against HIV infection. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(4): 278-289 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-124>

For correspondence: Evgenij A. Pashkov, Junior Researcher of Federal State Budgetary Scientific Institution "I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera", 105064, Moscow, Russia. E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Information about the authors:

Pashkov E.A., <https://orcid.org/0000-0002-5682-4581>

Pak A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4295-7858>

Pashkov E.P., <https://orcid.org/0000-0002-4963-5053>

Bykov A.S., <https://orcid.org/0000-0002-8099-6201>

Budanova E.V., <https://orcid.org/0000-0003-1864-5635>

Poddubikov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8962-4765>

Svitich O.A., <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Zverev V.V., <https://orcid.org/0000-0002-0017-1892>

Contribution: Pashkov E.A., Pashkov E.P., Bykov A.S. – collection and processing of materials; Pashkov E.A., Pak A.V., Poddubikov A.V. – writing the text, conclusion; Budanova E.V., Bykov A.S. – scientific editing; CV, Svitich O.A., Pashkov E.P., Zverev V.V. – general version.

Financing. The study was carried out using the scientific equipment of the Center for Collective Use «NIIVS named after I.I. Mechnikov» – with the financial support of the project by the Russian Federation represented by the Ministry of Education and Science of Russia, Agreement No. 075-15-2021-676 dated 07/28/2021.

Acknowledgements. The authors are grateful to the Center for Collective Use of the Research Institute of Vaccines and Serums named after I.I. Mechnikov for support and contribution to the work.

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

Received 08 June 2022
 Accepted 11 August 2022
 Published 31 August 2022

Введение

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, HIV) является одной из наиболее актуальных проблем мирового здравоохранения на сегодняшний день. С момента регистрации первого случая в 1978 г. ВИЧ унёс жиз-

ни более 35 млн человек, а число инфицированных сегодня достигает 37 млн человек [1]. Возбудитель ВИЧ-инфекции принадлежит к семейству *Retroviridae*, роду *Lentivirus* и делится на два вида – ВИЧ-1 и ВИЧ-2 [2]. Особую клиническую значимость представляет ВИЧ-1, поскольку он распространён

по всему миру, в то время как ВИЧ-2 менее патогенен и встречается в основном в районах Западной Африки [3]. При отсутствии высокоактивной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекция характеризуется неуклонным снижением количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, однако её проявления способны затронуть центральную нервную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, эндокринную и мочеполовую системы [4–9]. Помимо этого, у пациентов с выраженной иммуносупрессией особую опасность представляют осложнения, индуцированные представителями патогенной и условно-патогенной микрофлоры, которые могут привести к развитию сопутствующих бактериальных, грибковых и вирусных инфекций [10–12]. Также важно учитывать, что при сниженной активности иммунитета у ВИЧ-положительных пациентов повышается риск развития таких злокачественных новообразований, как аногенитальный рак, саркома Капоши, В- и Т-клеточные лимфомы [13–15].

Долгое время лечение ВИЧ-инфицированных пациентов считалось затруднительным, поскольку при создании и применении терапевтических препаратов человечество столкнулось с проблемой развития побочных эффектов от этих лекарств и появления вирусной резистентности в результате склонности ВИЧ к высокой мутационной изменчивости [16]. Совокупность этих факторов негативно влияет на терапию ВИЧ-инфекции и сегодня.

В настоящее время для терапии ВИЧ-инфекции существует пять групп антиретровирусных препаратов [17, 18]. В контексте настоящего обзора особый интерес представляют специфические препараты, направленные на подавление репродукции ВИЧ на разных стадиях и разрешённые для клинического применения.

Антиретровирусные препараты, разрешённые для клинического применения

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ) – препараты этого ряда, проникая в инфицированную клетку, конвертируются в соответствующие нуклеозид-3-фосфаты и, включаясь в растущую часть вирусной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), терминируют её, поскольку их структура построена таким образом, что дальнейшее удлинение цепи невозможно. В результате действия этих препаратов также конкурентно ингибируется активность обратной транскриптазы ВИЧ-1 и ВИЧ-2 [19]. Следует, однако, учитывать, что многие из препаратов этого класса обладают токсическими и побочными эффектами на организм человека. В отчете U.S. Food and Drug Administration приводятся данные о том, что применение *ламивудина* у ряда пациентов сопровождалось головной болью, тошнотой, кашлем и утомляемостью [20]. Также при его использовании у пациентов с почечной недостаточностью необходим тщательный подбор дозировки, а в некоторых случаях у ряда пациентов существует риск развития панкреатита [21, 22]. *Тенофовир* приводит к нефротоксическому эффекту, нарушению структуры костной ткани и повышению уровня липопротеинов низкой

(ЛПНП) и высокой плотности [23–26]. Применение *зидовудина* также вызывает ряд побочных эффектов, таких как жировая гепатоз печени, лактоацидоз, анемия, нейтропения и миелосупрессия [27, 28]. Дополнительным недостатком препаратов этого ряда является то, что ВИЧ способен быстро приобретать к ним резистентность посредством избирательного ускользания обратной транскриптазы от включения аналогов нуклеотидов ДНК. Наиболее распространённые мутации в этой категории включают K65R, L74V, Q151M и M184V [29–31].

Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ) являются неконкурентными ингибиторами фермента, которые связываются с аллостерическим центром обратной транскриптазы, влияющим на мобильность и гибкость центра полимеризации, приводя к резкому снижению эффективности обратной транскриптазы ВИЧ-1 [32]. Препараты ННИОТ также имеют ряд побочных эффектов. *Эфавиренз* способен вызвать повышение уровня трансаминаз в крови, гиперлипидемию, а также депрессивные состояния у пациентов, преимущественно чернокожих [33–35]. Использование *рилпивирина*, по данным С. Cohen и соавт., связано с нарушением сердечного ритма, возникновением психических и неврологических расстройств [36]. Резистентность к ННИОТ обусловлена нарушением связывания обратной транскриптазы с компонентом лекарственного препарата в результате стерического препятствия размещению ННИОТ в сайте связывания, утраты взаимодействия с аминокислотными остатками внутри сайта связывания и опосредованного уменьшения скорости связывания ННИОТ с ОТ [37–39].

Ингибиторы протеаз (ИП) ингибируют репродукцию ВИЧ, связываясь с активным центром фермента протеазы ВИЧ. Известно, что приём этих препаратов способен спровоцировать развитие сахарного диабета, повысить уровень ЛПНП крови. Помимо этого, существуют побочные эффекты со стороны пищеварительной системы: диарея, рвота, тошнота, боль в животе [40, 41].

Антагонисты хемокиновых рецепторов препятствуют связыванию вириона ВИЧ с клеткой человека путём ингибирования блокировки CCR5 корецептора, предотвращая связывание с ним вирусного белка gp120 и таким образом нарушая проникновение вируса в клетку [17]. Следует иметь в виду, что препарат не влияет на рецептор CXCR4, который также используется вирусом для входа в клетку. По данным клинических исследований, не отмечалось достоверной разницы между применением препарата *маравирок* и плацебо [42].

Исходя из этого, в настоящее время остро стоит вопрос формирования вирусной резистентности к противовирусным препаратам и возникновения нежелательных побочных эффектов. Для решения этих проблем необходимы принципиально новые антивирусные препараты. Одна из таких перспективных технологий создания специфических противовирусных препаратов основана на механизме РНК-интерференции (рибонуклеиновая кислота).

На сегодняшний день существуют несколько препаратов, используемых для терапии заболеваний инфекционного характера либо находящихся на стадии клинических испытаний. Были показаны многообещающие результаты при испытаниях таких препаратов, как *ARC-520* (терапия вирусного гепатита В), *Miravirsen* (терапия вирусного гепатита С), *ALN-RSV01* (терапия инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом) [43–45]. Следует иметь в виду, что на стадии клинических испытаний также находится миРНК-препарат (малые интерферирующие (некодирующие) РНК), потенциально пригодный для терапии ВИЧ-инфекции – *pHIV7-shITAR-CCR5RZ* [45].

РНК-интерференция – один из регуляторных путей, при котором происходит снижение экспрессии гена-мишени в результате нокдауна целевой матричной РНК (мРНК). Также показано, что при РНК-интерференции мРНК двухцепочечная РНК (дцРНК), которая определяет комплементарный участок мишени мРНК, эффективнее, чем одноцепочечная РНК (оцРНК), и что для нокдауна генов достаточно лишь короткого фрагмента дцРНК. Механизм РНК-интерференции заключается в том, что белок-эндонуклеаза *Dicer* разрезает чужеродную дцРНК на отдельные двухцепочечные фрагменты длиной до 25 пар нуклеотидов, которые и являются миРНК. Затем происходит связывание миРНК с комплексом белков *RISC* (*RNA-induced silencing complex*) с последующим распознаванием и разрушением этой структурой мРНК-мишени [46].

Целью данного обзора является оценка перспективности создания и клинического применения препаратов на основе миРНК, направленных на подавление репродукции ВИЧ.

Разработка малых интерферирующих (некодирующих) РНК-препаратов

Стандартным подходом к разработке противовирусных средств на основе явления РНК-интерференции является подбор миРНК, действие которых направлено на вирусный геном [47]. Данный подход был успешно испытан в одной из ранних работ С.Д. Novina и соавт. с использованием модельных штаммов ВИЧ-1 HIV_{11b} и R7-GFP [48] на клеточных культурах HeLa-CD4 и H9. Авторы подобрали специфичную миРНК p24-siRNA к гену *gag*, кодирующему экспрессию белка p24, проводили трансфекцию клеток HeLa-CD4 и через 24 ч заражали трансфицированные клетки HIV_{11b}. Через 48 ч после заражения авторами отмечалось четырёхкратное снижение белка по результатам проточной цитометрии. Кроме того, снижение количества мРНК белка p24 отмечалось при нозерн-блоттинге. По прошествии пяти суток вирусная репродукция оценивалась методом ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – иммуноферментный анализ (ИФА)). В клетках, обработанных миРНК p24-siRNA, количество белка p24 снижалось в 25 раз, по сравнению с контрольными клетками. Полученные результаты были подтверждены повторно. С.Д. Novina и соавт. также продемонстрировали снижение вирусной репродукции в клетках H9, в которые

трансфицировали миРНК к GFP (green fluorescence protein). Далее авторы заражали эти клетки штаммом R7-GFP, в котором ген *nef* был заменён на ген *GFP*. Снижение экспрессии белка p24 и GFP прослеживалось в клетках H9 через два дня после трансфекции GFP-миРНК, а на пятые сутки экспрессия этих белков снизилась в 4 раза. С.Д. Novina и соавт. утверждают, что векторные стратегии являются особо перспективными в вопросе терапии и профилактики ВИЧ-инфекции [48].

В исследовании G.A. Coburn и B.R. Cullen приводятся данные о блокировке экспрессии вирусных генов *tat* и *rev* в клеточной линии 293Т, а также о снижении репродукции ВИЧ-1 в культуре первичных Т-клеток человека. Для оценки влияния миРНК, специфичных к генам *tat* и *rev*, авторы трансфицировали клетки 293Т плазмидами pсTat и pсRev, кодирующими экспрессию указанных генов. Клетки также котрансфицировали одной из специфичных миРНК и в качестве неспецифического контроля – одноцепочечной антисмысловой нитью миРНК. По результатам вестерн-блота было показано выраженное снижение экспрессии белков *tat* и *rev*, по сравнению с неспецифическим контролем. В ряде повторов трансфекций было установлено небольшое (~20%) влияние специфичной для *rev* миРНК на экспрессию белка *tat* и специфичной для *tat* миРНК – на экспрессию *rev*. Далее авторы показывают результаты блокировки репродукции ВИЧ-1 с помощью миРНК в культуре клеток 293Т. Известно, что клеточная линия 293Т не восприимчива в отношении к ВИЧ-1, однако при трансфекции плазмид, несущих гены, кодирующие экспрессию рецептора CD4 и корецептора CCR5, это возможно. Авторы выполнили трансфекцию провирусных плазмид pNL-ADA и pNL-luc-ADA в клетки 293Т. Вирус NL-ADA представляет собой способный к репродукции ВИЧ-1 из изолята NL4-3, у которого ген *env* был изменён на ген *env*, полученный из CCR5-тропного изолята ВИЧ-1 NL-ADA. ВИЧ-1 NL-luc-ADA имеет сходство с NL-ADA, за исключением того, что ген *nef* ВИЧ-1 заменён на ген-индикатор *luc*, что позволяет оценивать вирусную репродукцию по изменению уровня люциферазы. Далее авторами было показано, что миРНК, направленные к генам *tat* и *rev*, особенно в комбинации друг с другом, способны эффективно снижать экспрессию индикаторного гена *luc* в клетках 293Т, трансфицированных pNL-ADA и pNL-luc-ADA, по сравнению с контрольными антисмысловыми олигонуклеотидами РНК. Затем G.A. Coburn и B.R. Cullen проводили оценку способности миРНК к блокировке выхода вирионов ВИЧ-1 из инфицированных 293Т. Было показано, что две миРНК, действующие либо по отдельности, либо в комбинации, действительно были способны эффективно ингибировать продукцию потомства вирионов ВИЧ-1, по сравнению с неспецифическими контролями. В своём исследовании авторы показывают, что специфические миРНК способны эффективно ингибировать репродукцию ВИЧ-1 *in vitro*. Авторы считают, что потенциальная роль

РНК-интерференции в противовирусной защите является вопросом, который заслуживает пристального внимания в будущем, а миРНК можно использовать для избирательной блокировки экспрессии вирусных генов человека [49].

В работе М. Науафуне и соавт. показано противовирусное действие четырёх миРНК (E7145, E74900, E7457, E7361), направленных к разным областям гена *env* ВИЧ-1. Для оценки эффективности нокдауна выбранного гена авторы трансфицировали в клетки COS провирусные экспрессионные плазмиды ВИЧ-1 (pNL4-3). Вирусную репродукцию в культуральной жидкости оценивали через 3 дня с помощью теста HIV-1 p24 CLEIA20 и сравнивали с заражённым не-трансфицированным контролем. Было показано, что каждая из четырёх миРНК ингибировала активность гена *env*. В клетках, трансфицированных миРНК E7145, нацеленной на центральную область петли V3, и E7490, нацеленной на сайт связывания CD4 консервативных областей *gp120*, экспрессия p24 снижалась на 2.2 и 2.5 Ig_{10} соответственно, по сравнению с вирусным контролем. При использовании миРНК E7457 отмечалось более выраженное снижение экспрессии p24, по сравнению с миРНК E7361, специфичной к межсубъединичной дисульфидной связи *gp120*. Далее М. Науафуне и соавт. оценили дозозависимый эффект при использовании миРНК. Для его оценки авторы выполнили трансфекцию этих же миРНК в культуру клеток COS с концентрациями от 0,02 до 0,5 мкг. Было показано, что наилучший результат продемонстрировали миРНК E7145 и E7490 при используемой концентрации 0,5 мкг. Для оценки противовирусного действия в инфицированных клетках авторы трансфицировали миРНК E7145, E7490, E7457 и E7361 в клетки HeLa-CD4⁺. После четырёх-часовой инкубации трансфицированные клетки заражались штаммом ВИЧ-1 NL4-3. Вирусную репродукцию оценивали на седьмые сутки с помощью теста HIV-1 p24 CLEIA. Каждая из миРНК, нацеленных на ген *env*, эффективно снижала репродукцию ВИЧ-1 NL4-3 более чем в 10 раз, по сравнению с вирусным контролем. М. Науафуне и соавт. утверждают, что применение явления РНК-интерференции с несколькими миРНК одновременно, нацеленными на различные области генов, специфичных для ВИЧ-1, способны преодолеть проблему появления лекарственно-устойчивых штаммов [50].

Для оценки закономерностей мутационной изменчивости ВИЧ-1 подтипа А и разработки подходов генной терапии с использованием РНК-интерференции в работе О.В. Кретова и соавт. проводилось сверхглубокое секвенирование участков генома ВИЧ-1, полученного из двух независимых групп пациентов из России. В своей работе авторы обнаружили шесть мишеней для миРНК, которые консервативны для 82–97% исследованных последовательностей и расположены внутри доменов, кодирующих ОТ (A1, A2), интегразу (A3), *vpr* (A4), *gp120* (A5) и *p17* (A6). Исходя из этого, О.В. Кретова и соавт. далее провели анализ на наличие идентичных мишеней в разных изолятах ВИЧ-1

подтипа А со всего мира с использованием программного обеспечения BLAST. Было установлено, что мишени, идентичные последовательности A1 – A3, A4 и A6, были обнаружены практически повсеместно. Идентичные последовательности обнаруживались в большинстве результатов: в 4956 последовательностях ВИЧ-1 (99%) для A6, 4837 последовательностях (96,7%) для A2 и 4651 последовательностях (93%) для A1. Мишень A3 не была так широко распространена и обнаруживалась в 1395 последовательностях (27,9%). Отмечалось широкое распространение мишени A2 в изолятах из США, Великобритании, Швейцарии и Германии. Мишень A6 характерна для изолятов из Кении, США, Великобритании, Швейцарии и Таиланда. Авторы делают вывод, что мишени, обнаруженные с помощью глубокого секвенирования примерно в 90% образцов ВИЧ-1 из России, также присутствуют во многих образцах ВИЧ-1 по всему миру. Полученные результаты, по мнению авторов, свидетельствуют, что обнаруженные консервативные области могут быть использованы в качестве мишеней для миРНК [51].

С целью оценки противовирусного эффекта миРНК, направленных к консервативным областям генов *gp41*, *nef*, *tat* и *rev*, R.S. Dave и соавт. синтезировали 9 молекул миРНК: *1tat*, *2gp41*, *3gp41/rev*, *4gp41/rev*, *5gp41*, *6gp41*, *7nef*, *8nef* и *9nef*. миРНК *3gp41/rev* и *4gp41/rev* были комплексно направлены к двум генам одновременно. Чтобы оценить активность данных миРНК по отношению к ВИЧ-1 (штамм NL4-3), авторы трансфицировали клетки HeLaCD4 этими миРНК. Далее трансфицированные клетки заражали ВИЧ-1 NL4-3 при множественности заражения 0.1 и измеряли количество белка p24 в надосадочной жидкости заражённых клеток методом ELISA на первые, вторые и третьи сутки. Было показано, что в клетках, обработанных миРНК *1tat*, *3gp41/rev*, *6gp41*, количество антигена p24 уменьшалось до 50%, по сравнению с вирусным и неспецифическим контролем. На вторые сутки каждая из девяти миРНК оказывала противовирусный эффект. Наиболее эффективное снижение p24 отмечалось в клетках, трансфицированных миРНК *5gp41*, *6gp41* и *8nef* в 31, 24 и 37% соответственно. Схожие результаты отмечались при использовании данных миРНК на третьи сутки. миРНК *5gp41*, *6gp41* и *8nef* продолжали оказывать противовирусное действие, снижая количество p24 на 20, 20 и 33% соответственно. Авторы отмечают, что уникальная динамика репродукции ВИЧ-1 в макрофагах и отсутствие цитопатического эффекта обеспечивают высокую выживаемость макрофагов после заражения, что превращает их в резервуар для вирусов [52]. Известно, что макрофаги представляют собой ключевую мишень ВИЧ-1 *in vivo*. Параллельно с этим утверждается, что они также являются основными мишенями ВИЧ-1 в нервной системе [53]. Исходя из этого, R.S. Dave и соавт. проводят оценку влияния миРНК *5gp41*, *6gp41* и *8nef* в макрофагах по отношению к нейротропному штамму ВИЧ-1 YU-2. Авторы трансфицировали первичные макрофаги че-

ловека указанными миРНК, а затем заражали ВИЧ-1 YU-2 при множественности заражения 0,1. После этого проводилась оценка количества вирусного белка р24 методом ELISA. Было показано, что ко вторым суткам отсутствовал выраженный противовирусный эффект, однако к девятым суткам снижение белка р24 достигало 46%, по сравнению с вирусным и неспецифическим контролем. В своём исследовании R.S. Dave и соавт. утверждают, что нерешённым остаётся вопрос эффективной доставки миРНК, специфичных по отношению к генам ВИЧ-1. Решение этой проблемы позволит разработать эффективные терапевтические средства на основе технологии РНК-интерференции [54].

В табл. 1 представлены вирусные гены-мишени, подавление которых приводило к эффективному снижению репродукции вируса ВИЧ, по данным независимых исследований.

Учитывая высокую склонность ВИЧ к мутационной изменчивости, особый смысл имеет подавлять активность тех клеточных генов, чьи продукты экспрессии играют важную роль в вирусной репродукции [16]. Аналогичное мнение в отношении вируса гриппа, также обладающего высокой изменчивостью, высказывается в работе M. Lesch и соавт. [55].

Эффективность применения миРНК, направленных на снижение экспрессии генов, ответственных за экспрессию белков, необходимых для репродукции ВИЧ-1, исследовалась в работах по полногеномному миРНК-скринингу. В одной из ранних работ A.L. Brass и соавт. с использованием двухэтапного подхода в миРНК-скрининге обнаружили 273 клеточных факторов, которые необходимы для жизненного цикла ВИЧ-1. Из них было определено 36 клеточных факторов (13%), ранее участвовавших в патогенезе ВИЧ-1 на ранних стадиях, включая CD4, CXCR4, NMT1, Rab9p40, и компоненты путей трансактивации NF-κB и CREB. Авторы сообщают, что среди оставшихся 237 генов более 100 генов-мишеней, чей нокдаун также приводил к снижению вирусной репродукции. Далее отмечается, что анализ выявил ранее неизвестную роль ретроградных транспортных белков аппарата Гольджи (Rab6 и Vps53) в проникновении вируса, кариоферина (TNPO3) в вирусной интеграции и медиаторного комплекса (Med28) в вирусной транскрипции. Для скрининга мы использовали клетки TZM-bl (вариант HeLa), которые экспрессируют эндогенный CXCR4, трансгенный CD4 и CCR5, а также интегрированный Tat-зависимый репортерный ген β-галактозидазы (β-Gal). A.L. Brass и соавт.

Таблица 1. Вирусные гены, нокдаун которых приводил к значительному снижению репродукции ВИЧ

Table 1. Viral genes, knockdown of which led to a significant decrease in the reproduction of HIV

Название гена Gene name	Функция гена Gene function	Источник References
<i>gag</i>	Синтез белка – предшественника капсида p55, расщепляющегося на p24, p7, p13, p15, p17 Synthesis of p55 capsid precursor protein, which is cleaved into p24, p7, p13, p15, p17	C.D. Novina и соавт. [48], O.V. Kretova и соавт. [51], L.A. Wheeler и соавт. [60]
<i>tat</i>	Синтез белка p14, который усиливает опосредованную РНК-полимеразой II элонгацию интегрированной вирусной ДНК, стимулирует транскрипцию провирусной ДНК и транспорт РНК из ядра в цитоплазму клетки The synthesis of the p14 protein, which enhances the RNA polymerase II-mediated elongation of the integrated viral DNA, stimulates the transcription of proviral DNA and the transport of RNA from the nucleus to the cytoplasm of the cell	G.A. Coburn и B.R. Cullen [49], R.S. Dave и соавт. [54]
<i>rev</i>	Синтез регулятора экспрессии вирусных генов (p19), который ускоряет выход вирусных РНК из ядра в цитоплазму клетки и переключение синтеза регуляторных белков на синтез структурных протеинов Synthesis of a viral gene expression regulator (p19), which accelerates the release of viral RNA from the nucleus into the cell cytoplasm and switching the synthesis of regulatory proteins to the synthesis of structural proteins	
<i>env</i>	Кодирует белок gp160, который расщепляется клеточной эндопротеазой фурином в эндоплазматическом ретикулуме на поверхностный гликопротеин gp120 и трансмембранный гликопротеин gp41 Encodes the gp160 protein, which is cleaved by the cellular endoprotease furin in the endoplasmic reticulum into the surface glycoprotein gp120 and the transmembrane glycoprotein gp41	M. Nayafune и соавт. [50], O.V. Kretova и соавт. [51], R.S. Dave и соавт. [54]
<i>Pol</i>	Кодирует ферменты: обратную транскриптазу и РНКазу (p66/51), интегразу (p32) и протеазу (p10) Encodes enzymes: reverse transcriptase and RNase (p66/51), integrase (p32) and protease (p10)	O.V. Kretova и соавт. [51]
<i>vpr</i>	Кодирует синтез вирусного белка U (p16), способствующего деградации CD4 и повышающего высвобождение вирионов из клетки Encodes the viral protein U (p16), which promotes the degradation of CD4 and increases the release of virions from the cell	–
<i>nef</i>	Синтез белкового эффектора (p27/25), усиливающего инфекционные свойства вирионов. Подавление экспрессии молекул CD4 и HLA на поверхности инфицированных клеток Synthesis of a protein effector (p27/25) that enhances the infectious properties of virions. Suppression of expression of CD4 and HLA molecules on the surface of infected cells	R.S. Dave и соавт. [54]
<i>vif</i>	Синтез вирусного инфекционного фактора (p23), способствующего репликации вируса Synthesis of a viral infectious factor (p23) that promotes virus replication	L.A. Wheeler и соавт. [60]

считают, что данные факторы могут быть использованы в качестве мишеней для РНК-интерференции [56].

Перспективность подхода, основанного на снижении экспрессии клеточных генов, важных для размножения ВИЧ-1 также подтверждается в исследовании М. Rodriguez и соавт. В своей работе авторы одними из первых проводили изучение фармакокинетики и эффективности интраназальной доставки комплекса полиэтиленimina и миРНК *siBeclin1* (*PEI-FITCsiRNA*), специфичной по отношению к гену *Beclin1*, в мозг и лёгкие, а также её способность к снижению вирусной репродукции *in vitro*. В начале исследования авторы проводили оценку интраназальной доставки комплекса *PEI-FITCsiRNA* в мозг и лёгкие мышей с помощью тройной флуоресцентной визуализации с использованием меченой флуоресцеином изотиоцианатом (*FITC*) контрольной миРНК. Авторами были получены данные, свидетельствующие о том, что комплекс *PEI-FITCsiRNA* был успешно доставлен в астроциты, микроглию и нейроны головного мозга, а также обнаруживался в реснитчатых эпителиальных клетках лёгких. Далее М. Rodriguez и соавт. оценивали противовирусную активность миРНК *siBeclin1* в клетках первичной микроглии ВИЧ-инфицированного человека с помощью ИФА. Для построения кривой титрования авторы трансфицировали миРНК *siBeclin1* в концентрациях 4, 8 и 16 мкг. По результатам ИФА были получены данные, свидетельствующие о снижении вирусного титра на 50% при концентрации *siBeclin1* 4 мкг и на 75% при концентрации 16 мкг. Авторы считают, что данное исследование показывает эффективность интраназальной доставки *siBeclin1* в качестве терапевтического средства ВИЧ-инфекции и её последствий [57].

В исследовании Л.В.К. Sunnam и соавт. проводилась оценка репродукции ВИЧ-1 (штамм 93IN101) на клеточной модели SupT1 при подавлении активности гена *TOP2B*, ответственного за экспрессию белка топоизомеразы II бета (Торо IIβ), который играет важную роль в клеточной дифференцировке, регулируя экспрессию генов посредством ремоделирования хроматина [58]. Л.В.К. Sunnam и соавт. проводили трансфекцию миРНК в равных концентрациях, специфичной к гену *TOP2B*, в одном случае с помощью наночастиц трансферрина (*Tf-Tfr*), а в другом – с помощью Lipofectamin 2000. Оценка вирусной репродукции проводилась на третьи сутки после трансфекции по результатам измерения оптической плотности. Авторами было установлено, что при использовании данной миРНК в концентрации 200 нг в комплексе с *Tf-Tfr* снижение репродукции ВИЧ-1, по сравнению с вирусным контролем, составило 94,2%. При использовании Lipofectamin 2000 и миРНК с той же концентрацией вирусная репродукция снизилась на 73%, по сравнению с тем же контролем. Авторы считают, что за счёт подавления образования белка Торо IIβ возможно найти решение проблемы в поиске подходящих мишеней для терапии ВИЧ-инфекции, а также предлагают оптимальный метод доставки миРНК к целевым генам [59].

Применение миРНК в качестве средства, обеспечивающего защиту, посредством одновременного нокдауна клеточных и вирусных генов, показано в работе L. Wheeler и соавт. Исследователи проводили оценку снижения вирусной активности *in vitro* и *in vivo* при использовании комплексов миРНК CCR5/CD45-CD4-AsiC, gag/vif-CD4-AsiC, направленных к клеточным генам *CCR5*, *CD45* и вирусным *gag* и *vif*. Было установлено, что CCR5/CD45-CD4-AsiC стабильно подавляют экспрессию генов в течение 3 недель *in vitro*. Авторы трансфицировали указанный комплекс миРНК в клетки CD4⁺ PBMC (peripheral blood mononuclear cell – мононуклеарные клетки периферической крови), затем проводили оценку изменения экспрессии гена *CCR5* с помощью проточной цитометрии в течение 5 недель. Снижение экспрессии до 75% наблюдалось в течение 3 недель, а далее постепенно нарастало, однако к концу пятой недели экспрессия была снижена до 25%, по сравнению с отрицательным контролем. После этого проводилась оценка подавления экспрессии генов-мишеней у гуманизированных мышей BLT путём двукратного интравагинального введения смеси CD4-AsiCs, несущей миРНК к генам *CD45* и *CCR5*. Мышей забивали на 4-й, 8-й и 14-й день после трансфекции. Контрольных мышей забивали на 4-е сутки после введения фосфатно-солевого буфера (PBS) в качестве неспецифического контроля. Экспрессию *CD45* и *CCR5* в клетках CD4⁺ слизистой оболочки влагалища оценивали с помощью проточной цитометрии. Было установлено, что экспрессия указанных генов стабильно снижалась в течение 2 недель в клетках CD4⁺ у трансфицированных мышей, по сравнению с контрольной группой. Применение миРНК без средства доставки ввиду их низкой стабильности не имеет смысла для использования человеком. На фоне этого авторы проводят оценку нокдауна активности *CD45* и *CCR5* при формировании комплекса гидроксиэтилцеллюлозы (ГЭЦ) – CCR5/CD45-CD4-AsiC. L. Wheeler и соавт. установили, что в присутствии вагинальной жидкости комплекс ГЭЦ – CD4-AsiC сохранял свою стабильность, в то время как CCR5/CD45-CD4-AsiC в PBS подвергалась деградации. Чтобы оценить влияние комплекса ГЭЦ – CCR5/CD45-CD4-AsiC на экспрессию генов *CD45* и *CCR5*, авторы проводили его трансфекцию в клетки эксплантатов шейки матки и спустя четверо суток оценивали активности генов *CD45* и *CCR5* методом проточной цитометрии. Было получено, что нокдаун *CD45* и *CCR5* был сходным у мышей, получавших CCR5/CD45-CD4-AsiC в PBS и в комплексе ГЭЦ – CCR5/CD45-CD4-AsiC. Далее авторами было показано, что интравагинальное введение комплексов миРНК CCR5/CD4-AsiC за 48 и 24 ч до заражения или gag/vif-CD4-AsiC за 24 ч до и через 4 ч после заражения приводило к блокировке вагинальной передаче ВИЧ. Было отмечено, что у мышей, получивших в качестве отрицательного контроля раствор фосфатно-солевого буфера, в течение 4 недель после заражения обнаруживался антиген p24 ВИЧ, тогда как у всех мышей, CCR5/CD45-CD4-AsiC или gag/vif-CD4-AsiC, не было признаков инфекции. Их количе-

ство CD4 оставалось нормальным, и ни у кого не было определяемого антигена p24 в плазме выше фона в течение 10 недель наблюдения. L. Wheeler и соавт. считают, что нокдаун вирусных генов *gag/vif* либо клеточных *CCR5/CD45* обеспечивает надежную защиту от передачи ВИЧ-инфекции [60].

В табл. 2 представлен ряд клеточных генов, играющих важную роль в жизненном цикле коронавируса, нокдаун которых приводил к снижению репродукции ВИЧ.

Заключение

На сегодняшний день особо актуальна проблема разработки препаратов, способных эффективно предотвра-

щать заражение ВИЧ и дальнейшее прогрессирование инфекции. Перспективным направлением в её решении может стать использование механизма РНК-интерференции для подавления экспрессии вирусных или клеточных генов, необходимых для дальнейшего жизненного цикла вируса. Важно учитывать, что в настоящее время уже существуют официально одобренные препараты против наследственных заболеваний (*Patisiran* и *Givosiran*), механизм действия которых построен на явлении РНК-интерференции. Это даёт надежду на создание аналогичных противовирусных препаратов, которые будут использоваться в терапии и профилактике ВИЧ-инфекции. Необходимо иметь в виду, что ВИЧ является вирусом, наиболее остро подверженным

Таблица 2. Клеточные гены, нокдаун которых приводил к значительному снижению репродукции ВИЧ
Table 2. Cellular genes, knockdown of which led to a significant decrease in the reproduction of HIV

Название гена Gene name	Функция гена Gene function	Источник Reference
<i>CD4</i>	Выполняет роль корецептора $\alpha\beta$ TCR: связываясь с инвариантным β 2-доменом МНС II класса, участвует в распознавании молекул процессированного антигена, представляемого АПК. Является рецептором для ВИЧ, связываясь через домен D1 с gp120 вируса Acts as an $\alpha\beta$ TCR co-receptor: by binding to the invariant β 2-domain of MHC class II, it is involved in the recognition of molecules of processed antigen represented by APC. It is a receptor for HIV, binding through the D1 domain to viral protein gp120	A.L. Brass и соавт. [56]
<i>CXCR4</i>	Корецептор для ВИЧ Co-receptor for HIV	
<i>NMT1</i>	Участвует в процессе N-миристоилирования, необходимого для полного проявления биологической активности нескольких N-миристоилированных белков, включая альфа-субъединицу белка, связывающего гуаниновые нуклеотиды, передающего сигнал. Participates in the process of N-myristoylation, which is necessary for the full manifestation of the biological activity of several N-myristoylated proteins, including the alpha subunit of the protein that binds guanine nucleotides and transmits a signal	
<i>Rab9p40</i>	Облегчает транспорт маннозо-6-фосфатного рецептора (MPR) из эндосом в сеть транс-Гольджи Facilitates transport of the mannose-6-phosphate receptor (MPR) from endosomes to the trans-Golgi network	
<i>NF-κB</i>	Ядерный фактор, усилитель каппа-легкой цепи активированных В-клеток, контролирующей транскрипцию ДНК, продукцию цитокинов и выживаемость клеток Nuclear factor, an enhancer of the kappa light chain of activated B cells that controls DNA transcription, cytokine production, and cell survival.	
<i>CREB</i>	Клеточный фактор транскрипции Cellular transcription factor	
<i>Rab6</i>	Регулировка мембранного транспорта Regulation of membrane transport	
<i>Vps53</i>	Участие в ретроградном переносе пузырьков у аппарата Гольджи Participation in the retrograde transport of vesicles at the Golgi apparatus	
<i>TNPO3</i>	Рецептор ядерного импорта для белков, богатых серином/аргинином (SR), включая фактор сплайсинга 1 Nuclear import receptor for serine/arginine (SR) rich proteins, including splicing factor 1	
<i>Med28</i>	Репрессор дифференцировки гладкомышечных клеток Repressor of smooth muscle cell differentiation	
<i>Beclin1</i>	Основной компонент комплекса PI3K, который обеспечивает образование фосфатидилинозитол-3-фосфата, являющегося инициатором апоптоза The main component of the PI3K complex, which provides the formation of phosphatidylinositol-3-phosphate, which is the initiator of apoptosis	M. Rodriguez и соавт. [57]
<i>TOP2B</i>	Ремоделирование хроматина Chromatin remodeling	L.B.K. Sunnam и соавт. [59]
<i>CD45</i>	Ген, кодирующий общий лейкоцитарный поверхностный белок CD45 Gene encoding common leukocyte surface protein CD45	L. Wheeler и соавт. [60]
<i>CCR5</i>	Корецептор для ВИЧ Co-receptor for HIV	

Примечание. МНС (major histocompatibility complex) – главный комплекс гистосовместимости; АПК – антигенпредставляющие клетки; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа.

Note. MHC, major histocompatibility complex; APC, antigen-presenting cells; PI3K, phosphoinositide-3-kinase.

мутационной изменчивости. На этом фоне применение миРНК, направленных на вирусный геном, может привести к образованию новых резистентных форм. Исходя из этого, регуляция вирусной репродукции, связанная с подавлением активности клеточных генов, в настоящее время является перспективным направлением. Важной проблемой также остаётся создание эффективных средств доставки лекарственного препарата, способных достичь мишени.

ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Информационный бюллетень. ВИЧ. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
- International Committee on Taxonomy of Viruses. Current ICTV Taxonomy Release. Taxonomy Browser. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
- Nyamweya S., Hegedus A., Jaye A., Rowland-Jones S., Flanagan K.L., Macallan D.C. Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. *Rev. Med. Virol.* 2013; 23(4): 221–40. <https://doi.org/10.1002/rmv.1739>
- Spudich S.S., Ances B.M. Neurologic complications of HIV infection. *Top. Antivir. Med.* 2012; 20(2): 41–7.
- Vachiat A., McCutcheon K., Tsabedze N., Zachariah D., Manga P. HIV and ischemic heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 69(1): 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.09.979>
- Kearns A., Gordon J., Burdo T.H., Qin X. HIV-1-associated atherosclerosis: unraveling the missing link. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 69(25): 3084–98. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.012>
- Ances B.M., Anderson A.M., Letendre S.L. CROI 2021: Neurologic complications of HIV-1 infection or COVID-19. *Top. Antivir. Med.* 2021; 29(2): 334–43.
- Heyns C.F., Groeneveld A.E., Sigarroa N.B. Urologic complications of HIV and AIDS. *Nat. Clin. Pract. Urol.* 2009; 6(1): 32–43. <https://doi.org/10.1038/ncpuro1273>
- Sim J.H., Mukerji S.S., Russo S.C., Lo J. Gastrointestinal dysfunction and HIV comorbidities. *Curr. HIV/AIDS Rep.* 2021; 18(1): 57–62. <https://doi.org/10.1007/s11904-020-00537-8>
- Barbier F., Mer M., Szychowiak P., Miller R.F., Mariotte É., Galicier L., et al. Management of HIV-infected patients in the intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2020; 46(2): 329–42. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05945-3>
- Limper A.H., Adenis A., Le T., Harrison T.S. Fungal infections in HIV/AIDS. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(11): e334–43. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30303-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30303-1)
- José R.J., Periselneris J.N., Brown J.S. Opportunistic bacterial, viral and fungal infections of the lung. *Medicine (Abingdon)*. 2020; 48(6): 366–72. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2020.03.006>
- Wielgos A.A., Pietrzak B. Human papilloma virus-related premalignant and malignant lesions of the cervix and anogenital tract in immunocompromised women. *Ginekol. Pol.* 2020; 91(1): 32–7. <https://doi.org/10.5603/GP.2020.0008>
- Cesarman E., Damania B., Krown S.E., Martin J., Bower M., Whitby D. Kaposi sarcoma. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2019; 5(1): 9. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0060-9>
- Thandra K.C., Barsouk A., Saginala K., Padala S.A., Barsouk A., Rawla P. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Med. Sci. (Basel)*. 2021; 9(1): 5. <https://doi.org/10.3390/medsci9010005>
- Abram M.E., Ferris A.L., Shao W., Alvord W.G., Hughes S.H. Nature, position, and frequency of mutations made in a single cycle of HIV-1 replication. *J. Virol.* 2010; 84(19): 9864–78. <https://doi.org/10.1128/JVI.00915-10>
- Margolis A.M., Heverling H., Pham P.A., Stolbach A. A review of the toxicity of HIV medications. *J. Med. Toxicol.* 2014; 10(1): 26–39. <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0325-8>
- Clutter D.S., Jordan M.R., Bertagnolio S., Shafer R.W. HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 46: 292–307. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.031>
- Качанов Д.А., Атангулов Г.И., Хамале Х., Лишкевич И.А., Елшаптири М.Н.Д., Иванян Ж.Н. и др. Особенности назначения антиретровирусных препаратов при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2021; (2-3): 25–30. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.103.2.066>
- EPIVIR (lamivudine). Tablets and Oral Solution. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020564s031_020596s0301bl.pdf
- Johnson M.A., Verpooten G.A., Daniel M.J., Plumb R., Moss J., Van Caesbroeck D., et al. Single dose pharmacokinetics of lamivudine in subjects with impaired renal function and the effect of haemodialysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998; 46(1): 21–7. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1998.00044.x>
- Manfredi R., Calza L. HIV infection and the pancreas: risk factors and potential management guidelines. *Int. J. STD AIDS.* 2008; 19(2): 99–105. <https://doi.org/10.1258/ijsa.2007.007076>
- Herlitz L.C., Mohan S., Stokes M.B., Radhakrishnan J., D'Agati V.D., Markowitz G.S. Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int.* 2010; 78(11): 1171–7. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.318>
- Abe K., Obara T., Kamio S., Kondo A., Imamura J., Goto T., et al. Renal function in Japanese HIV-1-positive patients who switch to tenofovir alafenamide fumarate after long-term tenofovir disoproxil fumarate: a single-center observational study. *AIDS Res. Ther.* 2021; 18(1): 94. <https://doi.org/10.1186/s12981-021-00420-5>
- Wessman M., Weis N., Katzenstein T.L., Lebeck A.M., Thorsteinsson K., Hansen A.E., et al. The significance of HIV to bone mineral density. *Ugeskr. Laeger.* 2017; 179(36): V05170420. (in Danish)
- Ruane P.J., DeJesus E., Berger D., Markowitz M., Bredeek U.F., Callebaut C., et al. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2013; 63(4): 449–55. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182965d45>
- Bañó M., Morén C., Barroso S., Juárez D.L., Guitart-Mampel M., González-Casacuberta I., et al. Mitochondrial toxicogenomics for antiretroviral management: HIV post-exposure prophylaxis in uninfected patients. *Front. Genet.* 2020; 11: 497. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00497>
- Kinloch-De Loës S., Hirschel B.J., Hoen B., Cooper D.A., Tindall B., Carr A., et al. A controlled trial of zidovudine in primary human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333(7): 408–13. <https://doi.org/10.1056/NEJM199508173330702>
- Hachiya A., Kodama E.N., Schuckmann M.M., Kirby K.A., Michailidis E., Sakagami Y., et al. K70Q adds high-level tenofovir resistance to “Q151M complex” HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism. *PLoS One.* 2011; 6(1): e16242. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016242>
- Sarafianos S.G., Das K., Clark A.D.Jr., Ding J., Boyer P.L., Hughes S.H., et al. Lamivudine (3TC) resistance in HIV-1 reverse transcriptase involves steric hindrance with beta-branched amino acids. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96(18): 10027–32. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10027>
- Marcelin A.G. Resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. In: Geretti A.M., ed. *Antiretroviral Resistance in Clinical Practice. Chapter 1.* London: Mediscript; 2006.
- Rai M.A., Pannek S., Fichtenbaum C.J. Emerging reverse transcriptase inhibitors for HIV-1 infection. *Expert. Opin. Emerg. Drugs.* 2018; 23(2): 149–57. <https://doi.org/10.1080/14728214.2018.1474202>
- Rihs T.A., Begley K., Smith D.E., Sarangapani J., Callaghan A., Kelly M., et al. Efavirenz and chronic neuropsychiatric symptoms: a cross-sectional case control study. *HIV Med.* 2006; 7(8): 544–8. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2006.00419.x>
- Mollan K.R., Smurzynski M., Eron J.J., Daar E.S., Campbell T.B., Sax P.E., et al. Association between efavirenz as initial therapy for HIV-1 infection and increased risk for suicidal ideation or attempted or completed suicide: an analysis of trial data. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(1): 1–10. <https://doi.org/10.7326/M14-0293>
- Leutscher P.D., Stecher C., Storgaard M., Larsen C.S. Discontinuation of efavirenz therapy in HIV patients due to neuropsychiatric adverse effects. *Scand. J. Infect. Dis.* 2013; 45(8): 645–51. <https://doi.org/10.3109/00365548.2013.773067>
- Cohen C., Wohl D., Arribas J.R., Henry K., Van Lunzen J., Bloch M., et al. Week 48 results from a randomized clinical trial of rilpivirine/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate vs. efavirenz/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naïve HIV-1-infected adults. *AIDS.* 2014; 28(7): 989–97. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000169>
- Hsiou Y., Das K., Ding J., Clark A.D.Jr., Kleim J.P., Rösner M., et al. Structures of Tyr188Leu mutant and wild-type HIV-1 reverse

- transcriptase complexed with the non-nucleoside inhibitor HBV 097: inhibitor flexibility is a useful design feature for reducing drug resistance. *J. Mol. Biol.* 1998; 284(2): 313–23. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2171>
38. Kertesz D.J., Brotherton-Pleiss C., Yang M., Wang Z., Lin X., Qiu Z., et al. Discovery of piperidin-4-yl-aminopyrimidines as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. N-benzyl derivatives with broad potency against resistant mutant viruses. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010; 20(14): 4215–8. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.05.040>
 39. Betancor G., Álvarez M., Marcelli B., Andrés C., Martínez M.A., Menéndez-Arias L. Effects of HIV-1 reverse transcriptase connection subdomain mutations on polypurine tract removal and initiation of (+)-strand DNA synthesis. *Nucleic. Acids. Res.* 2015; 43(4): 2259–70. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv077>
 40. Kotler D.P. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated cardiovascular risk in HIV-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2008; 49(Suppl. 2): S79–85. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e318186519c>
 41. Vyas A.K., Koster J.C., Tzekov A., Hruz P.W. Effects of the HIV protease inhibitor ritonavir on GLUT4 knock-out mice. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(47): 36395–400. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.176321>
 42. Hardy W.D., Gulick R.M., Mayer H., Fätkenheuer G., Nelson M., Heera J., et al. Two-year safety and virologic efficacy of maraviroc in treatment-experienced patients with CCR5-tropic HIV-1 infection: 96-week combined analysis of MOTIVATE 1 and 2. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2010; 55(5): 558–64. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181ee3d82>
 43. Yuen M.F., Schiefke I., Yoon J.H., Ahn S.H., Heo J., Kim J.H., et al. RNA interference therapy with ARC-520 results in prolonged hepatitis B surface antigen response in patients with chronic hepatitis B infection. *Hepatology.* 2020; 72(1): 19–31. <https://doi.org/10.1002/hep.31008>
 44. Janssen H.L., Reesink H.W., Lawitz E.J., Zeuzem S., Rodriguez-Torres M., Patel K., et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368(18): 1685–94. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1209026>
 45. Qureshi A., Tantray V.G., Kirmani A.R., Ahangar A.G. A review on current status of antiviral siRNA. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(4): e1976. <https://doi.org/10.1002/rmv.1976>
 46. Пашков Е.А., Файзулов Е.Б., Свитич О.А., Сергеев О.В., Зверев В.В. Перспектива создания специфических противогриппозных препаратов на основе синтетических малых интерферирующих РНК. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(4): 182–90. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-4-182-190>
 47. Page K.A., Liegler T., Feinberg M.B. Use of a green fluorescent protein as a marker for human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 1997 Sep 1; 13(13):1077–81. <https://doi.org/10.1089/aid.1997.13.1077>
 48. Novina C.D., Murray M.F., Dykxhoorn D.M., Beresford P.J., Riess J., Lee S.K., et al. siRNA-directed inhibition of HIV-1 infection. *Nat. Med.* 2002; 8(7): 681–6. <https://doi.org/10.1038/nm725>
 49. Coburn G.A., Cullen B.R. Potent and specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by RNA interference. *J. Virol.* 2002; 76(18): 9225–31. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.18.9225-9231.2002>
 50. Hayafune M., Miyano-Kurosaki N., Park W.S., Moori Y., Taku H. Silencing of HIV-1 gene expression by two types of siRNA expression systems. *Antivir. Chem. Chemother.* 2006; 17(5): 241–9. <https://doi.org/10.1177/095632020601700501>
 51. Kretova O.V., Fedoseeva D.M., Gorbacheva M.A., Gashnikova N.M., Gashnikova M.P., Melnikova N.V., et al. Six highly conserved targets of RNAi revealed in HIV-1-infected patients from Russia are also present in many HIV-1 strains worldwide. *Mol. Ther. Nucleic. Acids.* 2017; 8: 330–44. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.07.010>
 52. Aquaro S., Caliò R., Balzarini J., Bellocchi M.C., Garaci E., Perno C.F. Macrophages and HIV infection: therapeutical approaches toward this strategic virus reservoir. *Antiviral. Res.* 2002; 55(2): 209–25. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00052-9](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00052-9)
 53. Trillo-Pazos G., Diamanturos A., Rislove L., Menza T., Chao W., Belem P., et al. Detection of HIV-1 DNA in microglia/macrophages, astrocytes and neurons isolated from brain tissue with HIV-1 encephalitis by laser capture microdissection. *Brain Pathol.* 2003; 13(2): 144–54. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2003.tb00014.x>
 54. Dave R.S., Pomerantz R.J. Antiviral effects of human immunodeficiency virus type 1-specific small interfering RNAs against targets conserved in select neurotropic viral strains. *J. Virol.* 2004; 78(24): 13687–96. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.24.13687-13696.2004>
 55. Lesch M., Luckner M., Meyer M., Weege F., Gravenstein I., Raftery M., et al. RNAi-based small molecule repositioning reveals clinically approved urea-based kinase inhibitors as broadly active antivirals. *PLoS Pathog.* 2019; 15(3): e1007601. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007601>
 56. Brass A.L., Dykxhoorn D.M., Benita Y., Yan N., Engelman A., Xavier R.J., et al. Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. *Science.* 2008; 319(5865): 921–6. <https://doi.org/10.1126/science.1152725>
 57. Rodriguez M., Lapierre J., Ojha C.R., Kaushik A., Batrakova E., Kashanchi F., et al. Intranasal drug delivery of small interfering RNA targeting Beclin1 encapsulated with polyethylenimine (PEI) in mouse brain to achieve HIV attenuation. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 1862. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01819-9>
 58. Capranico G., Tinelli S., Austin C.A., Fisher M.L., Zunino F. Different patterns of gene expression of topoisomerase II isoforms in differentiated tissues during murine development. *Biochim. Biophys. Acta.* 1992; 1132(1): 43–8. [https://doi.org/10.1016/0167-4781\(92\)90050-a](https://doi.org/10.1016/0167-4781(92)90050-a)
 59. Sunnam L.B.K., Kondapi A.K. Topoisomerase II β gene specific siRNA delivery by nanoparticles prepared with c-ter Apotransferrin and its effect on HIV-1 replication. *Mol. Biotechnol.* 2021; 63(8): 732–45. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00334-7>
 60. Wheeler L.A., Vrbanc V., Trifonova R., Brehm M.A., Gilboa-Geffen A., Tanno S., et al. Durable knockdown and protection from HIV transmission in humanized mice treated with gel-formulated CD4 aptamer-siRNA chimeras. *Mol. Ther.* 2013; 21(7): 1378–89. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.77>

REFERENCES

1. WHO. Fact sheet. HIV. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
2. International Committee on Taxonomy of Viruses. Current ICTV Taxonomy Release. Taxonomy Browser. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
3. Nyamweya S., Hegedus A., Jaye A., Rowland-Jones S., Flanagan K.L., Macallan D.C. Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. *Rev. Med. Virol.* 2013; 23(4): 221–40. <https://doi.org/10.1002/rmv.1739>
4. Spudich S.S., Ances B.M. Neurologic complications of HIV infection. *Top. Antivir. Med.* 2012; 20(2): 41–7.
5. Vachiat A., McCutcheon K., Tsabedze N., Zachariah D., Manga P. HIV and ischemic heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 69(1): 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.09.979>
6. Kearns A., Gordon J., Burdo T.H., Qin X. HIV-1-associated atherosclerosis: unraveling the missing link. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 69(25): 3084–98. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.012>
7. Ances B.M., Anderson A.M., Letendre S.L. Neurologic complications of HIV-1 infection or COVID-19. *Top. Antivir. Med.* 2021; 29(2): 334–43.
8. Heyns C.F., Groeneveld A.E., Sigarroa N.B. Urologic complications of HIV and AIDS. *Nat. Clin. Pract. Urol.* 2009; 6(1): 32–43. <https://doi.org/10.1038/ncpuro1273>
9. Sim J.H., Mukerji S.S., Russo S.C., Lo J. Gastrointestinal dysfunction and HIV comorbidities. *Curr. HIV/AIDS Rep.* 2021; 18(1): 57–62. <https://doi.org/10.1007/s11904-020-00537-8>
10. Barbier F., Mer M., Szychowiak P., Miller R.F., Mariotte É., Galicier L., et al. Management of HIV-infected patients in the intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2020; 46(2): 329–42. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05945-3>
11. Limper A.H., Adenis A., Le T., Harrison T.S. Fungal infections in HIV/AIDS. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(11): e334–43. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30303-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30303-1)
12. José R.J., Periselneris J.N., Brown J.S. Opportunistic bacterial, viral and fungal infections of the lung. *Medicine (Abingdon).* 2020; 48(6): 366–72. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2020.03.006>
13. Wielgos A.A., Pietrzak B. Human papilloma virus-related premalignant and malignant lesions of the cervix and anogenital tract in immunocompromised women. *Ginekol. Pol.* 2020; 91(1): 32–7. <https://doi.org/10.5603/GP.2020.0008>

REVIEWS

14. Cesarman E., Damania B., Krown S.E., Martin J., Bower M., Whitby D. Kaposi sarcoma. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2019; 5(1): 9. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0060-9>.
15. Thandra K.C., Barsouk A., Saginala K., Padala S.A., Barsouk A., Rawla P. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Med. Sci. (Basel)*. 2021; 9(1): 5. <https://doi.org/10.3390/medsci9010005>
16. Abram M.E., Ferris A.L., Shao W., Alvord W.G., Hughes S.H. Nature, position, and frequency of mutations made in a single cycle of HIV-1 replication. *J. Virol.* 2010; 84(19): 9864–78. <https://doi.org/10.1128/JVI.00915-10>
17. Margolis A.M., Heverling H., Pham P.A., Stolbach A. A review of the toxicity of HIV medications. *J. Med. Toxicol.* 2014; 10(1): 26–39. <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0325-8>
18. Clutter D.S., Jordan M.R., Bertagnolio S., Shafer R.W. HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 46: 292–307. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.031>
19. Kachanov D.A., Atangulov G.I., Khamade Kh., Lishkevich I.A., Elshashtiri M.N.D., Ivanyan Zh.N., et al. Aspects of the prescribing antiretroviral drugs in the treatment of HIV-infected patients. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2021; (2-3): 25–30. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.103.2.066> (in Russian)
20. EPIVIR (lamivudine). Tablets and Oral Solution. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020564s031.020596s0301bl.pdf
21. Johnson M.A., Verpooten G.A., Daniel M.J., Plumb R., Moss J., Van Caesbroeck D., et al. Single dose pharmacokinetics of lamivudine in subjects with impaired renal function and the effect of haemodialysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998; 46(1): 21–7. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1998.00044.x>
22. Manfredi R., Calza L. HIV infection and the pancreas: risk factors and potential management guidelines. *Int. J. STD AIDS*. 2008; 19(2): 99–105. <https://doi.org/10.1258/ijsa.2007.007076>
23. Herlitz L.C., Mohan S., Stokes M.B., Radhakrishnan J., D'Agati V.D., Markowitz G.S. Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int.* 2010; 78(11): 1171–7. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.318>
24. Abe K., Obara T., Kamio S., Kondo A., Imamura J., Goto T., et al. Renal function in Japanese HIV-1-positive patients who switch to tenofovir alafenamide fumarate after long-term tenofovir disoproxil fumarate: a single-center observational study. *AIDS Res. Ther.* 2021; 18(1): 94. <https://doi.org/10.1186/s12981-021-00420-5>
25. Wessman M., Weis N., Katzenstein T.L., Lebech A.M., Thorsteinsson K., Hansen A.E., et al. The significance of HIV to bone mineral density. *Ugeskr. Laeger*. 2017; 179(36): V05170420. (in Danish)
26. Ruane P.J., DeJesus E., Berger D., Markowitz M., Bredeek U.F., Callebaut C., et al. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2013; 63(4): 449–55. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182965d45>
27. Baño M., Morén C., Barroso S., Juárez D.L., Guitart-Mampel M., González-Casacuberta I., et al. Mitochondrial toxicogenomics for antiretroviral management: HIV post-exposure prophylaxis in uninfected patients. *Front. Genet.* 2020; 11: 497. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00497>
28. Kinloch-De Loës S., Hirschel B.J., Hoen B., Cooper D.A., Tindall B., Carr A., et al. A controlled trial of zidovudine in primary human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333(7): 408–13. <https://doi.org/10.1056/NEJM199508173330702>
29. Hachiya A., Kodama E.N., Schuckmann M.M., Kirby K.A., Michailidis E., Sakagami Y., et al. K70Q adds high-level tenofovir resistance to “Q151M complex” HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism. *PLoS One*. 2011; 6(1): e16242. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016242>
30. Sarafianos S.G., Das K., Clark A.D.Jr., Ding J., Boyer P.L., Hughes S.H., et al. Lamivudine (3TC) resistance in HIV-1 reverse transcriptase involves steric hindrance with beta-branched amino acids. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1999; 96(18): 10027–32. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10027>
31. Marcelin A.G. Resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. In: Geretti A.M., ed. *Antiretroviral Resistance in Clinical Practice. Chapter 1*. London: Mediscript; 2006.
32. Rai M.A., Pannek S., Fichtenbaum C.J. Emerging reverse transcriptase inhibitors for HIV-1 infection. *Expert. Opin. Emerg. Drugs*. 2018; 23(2): 149–57. <https://doi.org/10.1080/14728214.2018.1474202>
33. Rihs T.A., Begley K., Smith D.E., Sarangapany J., Callaghan A., Kelly M., et al. Efavirenz and chronic neuropsychiatric symptoms: a cross-sectional case control study. *HIV Med.* 2006; 7(8): 544–8. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2006.00419.x>
34. Mollan K.R., Smurzynski M., Eron J.J., Daar E.S., Campbell T.B., Sax P.E., et al. Association between efavirenz as initial therapy for HIV-1 infection and increased risk for suicidal ideation or attempted or completed suicide: an analysis of trial data. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(1): 1–10. <https://doi.org/10.7326/M14-0293>
35. Leutscher P.D., Stecher C., Storgaard M., Larsen C.S. Discontinuation of efavirenz therapy in HIV patients due to neuropsychiatric adverse effects. *Scand. J. Infect. Dis.* 2013; 45(8): 645–51. <https://doi.org/10.3109/00365548.2013.773067>
36. Cohen C., Wohl D., Arribas J.R., Henry K., Van Lunzen J., Bloch M., et al. Week 48 results from a randomized clinical trial of rilpivirine/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate vs. efavirenz/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naïve HIV-1-infected adults. *AIDS*. 2014; 28(7): 989–97. <https://doi.org/10.1097/QAD.000000000000169>
37. Hsiou Y., Das K., Ding J., Clark A.D.Jr., Kleim J.P., Rösner M., et al. Structures of Tyr188Leu mutant and wild-type HIV-1 reverse transcriptase complexed with the non-nucleoside inhibitor HBV 097: inhibitor flexibility is a useful design feature for reducing drug resistance. *J. Mol. Biol.* 1998; 284(2): 313–23. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2171>
38. Kertesz D.J., Brotherton-Pleiss C., Yang M., Wang Z., Lin X., Qiu Z., et al. Discovery of piperidin-4-yl-aminopyrimidines as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. N-benzyl derivatives with broad potency against resistant mutant viruses. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010; 20(14): 4215–8. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.05.040>
39. Betancor G., Álvarez M., Marcelli B., Andrés C., Martínez M.A., Menéndez-Arias L. Effects of HIV-1 reverse transcriptase connection subdomain mutations on polypurine tract removal and initiation of (+)-strand DNA synthesis. *Nucleic. Acids. Res.* 2015; 43(4): 2259–70. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv077>
40. Kotler D.P. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated cardiovascular risk in HIV-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2008; 49(Suppl. 2): S79–85. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e318186519c>
41. Vyas A.K., Koster J.C., Tzekov A., Hruz P.W. Effects of the HIV protease inhibitor ritonavir on GLUT4 knock-out mice. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(47): 36395–400. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.176321>
42. Hardy W.D., Gulick R.M., Mayer H., Fätkenheuer G., Nelson M., Heera J., et al. Two-year safety and virologic efficacy of maraviroc in treatment-experienced patients with CCR5-tropic HIV-1 infection: 96-week combined analysis of MOTIVATE 1 and 2. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2010; 55(5): 558–64. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181ee3d82>
43. Yuen M.F., Schiefke I., Yoon J.H., Ahn S.H., Heo J., Kim J.H., et al. RNA interference therapy with ARC-520 results in prolonged hepatitis B surface antigen response in patients with chronic hepatitis B infection. *Hepatology*. 2020; 72(1): 19–31. <https://doi.org/10.1002/hep.31008>
44. Janssen H.L., Reesink H.W., Lawitz E.J., Zeuzem S., Rodriguez-Torres M., Patel K., et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368(18): 1685–94. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1209026>
45. Qureshi A., Tantray V.G., Kirmani A.R., Ahangar A.G. A review on current status of antiviral siRNA. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(4): e1976. <https://doi.org/10.1002/rmv.1976>
46. Pashkov E.A., Fayzuloev E.B., Svitich O.A., Sergeev O.V., Zverev V.V. The potential of synthetic small interfering RNA-based antiviral drugs for influenza treatment. *Voprosy virusologii*. 2020; 65(4): 182–90. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-4-182-190> (in Russian)
47. Page K.A., Liegler T., Feinberg M.B. Use of a green fluorescent protein as a marker for human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1997 Sep 1; 13(13): 1077–81. <https://doi.org/10.1089/aid.1997.13.1077>
48. Novina C.D., Murray M.F., Dykxhoorn D.M., Beresford P.J., Riess J., Lee S.K., et al. siRNA-directed inhibition of HIV-1 infection. *Nat. Med.* 2002; 8(7): 681–6. <https://doi.org/10.1038/nm725>
49. Coburn G.A., Cullen B.R. Potent and specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by RNA interfer-

- ence. *J. Virol.* 2002; 76(18): 9225–31. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.18.9225-9231.2002>
50. Hayafune M., Miyano-Kurosaki N., Park W.S., Moori Y., Takaku H. Silencing of HIV-1 gene expression by two types of siRNA expression systems. *Antivir. Chem. Chemother.* 2006; 17(5): 241–9. <https://doi.org/10.1177/095632020601700501>
 51. Kretova O.V., Fedoseeva D.M., Gorbacheva M.A., Gashnikova N.M., Gashnikova M.P., Melnikova N.V., et al. Six highly conserved targets of RNAi revealed in HIV-1-infected patients from Russia are also present in many HIV-1 strains worldwide. *Mol. Ther. Nucleic. Acids.* 2017; 8: 330–44. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.07.010>
 52. Aquaro S., Calìo R., Balzarini J., Bellocchi M.C., Garaci E., Perno C.F. Macrophages and HIV infection: therapeutical approaches toward this strategic virus reservoir. *Antiviral. Res.* 2002; 55(2): 209–25. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00052-9](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00052-9)
 53. Trillo-Pazos G., Diamanturos A., Rislove L., Menza T., Chao W., Belem P., et al. Detection of HIV-1 DNA in microglia/macrophages, astrocytes and neurons isolated from brain tissue with HIV-1 encephalitis by laser capture microdissection. *Brain Pathol.* 2003; 13(2): 144–54. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2003.tb00014.x>
 54. Dave R.S., Pomerantz R.J. Antiviral effects of human immunodeficiency virus type 1-specific small interfering RNAs against targets conserved in select neurotropic viral strains. *J. Virol.* 2004; 78(24): 13687–96. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.24.13687-13696.2004>
 55. Lesch M., Luckner M., Meyer M., Weege F., Gravenstein I., Rafferty M., et al. RNAi-based small molecule repositioning reveals clinically approved urea-based kinase inhibitors as broadly active antivirals. *PLoS Pathog.* 2019; 15(3): e1007601. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007601>
 56. Brass A.L., Dykxhoorn D.M., Benita Y., Yan N., Engelman A., Xavier R.J., et al. Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. *Science.* 2008; 319(5865): 921–6. <https://doi.org/10.1126/science.1152725>
 57. Rodriguez M., Lapierre J., Ojha C.R., Kaushik A., Batrakova E., Kashanchi F., et al. Intranasal drug delivery of small interfering RNA targeting Beclin1 encapsulated with polyethylenimine (PEI) in mouse brain to achieve HIV attenuation. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 1862. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01819-9>
 58. Capranico G., Tinelli S., Austin C.A., Fisher M.L., Zunino F. Different patterns of gene expression of topoisomerase II isoforms in differentiated tissues during murine development. *Biochim. Biophys. Acta.* 1992; 1132(1): 43–8. [https://doi.org/10.1016/0167-4781\(92\)90050-a](https://doi.org/10.1016/0167-4781(92)90050-a)
 59. Sunnam L.B.K., Kondapi A.K. Topoisomerase II β gene specific siRNA delivery by nanoparticles prepared with c-ter Apotransferrin and its effect on HIV-1 replication. *Mol. Biotechnol.* 2021; 63(8): 732–45. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00334-7>
 60. Wheeler L.A., Vrbanac V., Trifonova R., Brehm M.A., Gilboa-Geffen A., Tanno S., et al. Durable knockdown and protection from HIV transmission in humanized mice treated with gel-formulated CD4 aptamer-siRNA chimeras. *Mol. Ther.* 2013; 21(7): 1378–89. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.77>