



Генетическое разнообразие капсидного белка (p24) у вариантов вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1), циркулирующих в Российской Федерации

Кузнецова А.И.¹, Мунчак Я.М.¹, Лебедев А.В.¹, Туманов А.С.¹, Ким К.В.¹, Антонова А.А.¹, Ожмегова Е.Н.¹, Пронин А.Ю.², Дробышевская Е.В.², Казеннова Е.В.¹, Бобкова М.Р.¹

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ГКУЗ Московской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями», 129110, г. Москва, Россия

Введение. Белок p24 вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) играет важную роль в жизненном цикле вируса, а также является объектом для диагностических тестов и разработки новых антиретровирусных препаратов и терапевтических вакцин. Наиболее изученным вариантом ВИЧ-1 в мире является субтип В. В России наиболее распространённым вариантом является суб-субтип А6, отмечается появление и распространение новых рекомбинантных форм (CRF63_02A6 и CRF03_A6B) наряду с сохранением циркуляции субтипа G и рекомбинантной формы CRF02_AG. Детального изучения белка p24 у этих вариантов пока не проводилось.

Цель работы. Изучение особенностей белка p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, и оценка вероятности наличия предсуществующих мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру – первому антиретровирусному препарату в классе ингибиторов капсида.

Материалы и методы. Материалом для работы послужили нуклеотидные последовательности ВИЧ-1, полученные из международной базы данных Los Alamos, а также клинические образцы от ВИЧ-инфицированных пациентов.

Результаты и обсуждение. Определены особенности p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России. Мутации V86A, N87Q, I91F являются характеристическими заменами для А6. Показано, что наличие предсуществующих мутаций устойчивости к ленакапавиру маловероятно.

Заключение. Особенности в белке p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, позволяют отличить их от других вариантов и различить между собой. Прогноз применения ленакапавира у пациентов в России в целом благоприятный. Полученные результаты могут быть учтены в будущем при разработке и применении антиретровирусных препаратов и терапевтических вакцин.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека 1-го типа; суб-субтип А6; белок p24; мутации; полиморфизм

Для цитирования: Кузнецова А.И., Мунчак Я.М., Лебедев А.В., Туманов А.С., Ким К.В., Антонова А.А., Ожмегова Е.Н., Пронин А.Ю., Дробышевская Е.В., Казеннова Е.В. и Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие капсидного белка (p24) у вариантов вируса иммунодефицита первого типа (ВИЧ-1), циркулирующих в Российской Федерации. *Вопросы вирусологии.* 2023; 68(1): 66-78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-161>

Для корреспонденции: Кузнецова Анна Игоревна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия. E-mail: a-myznikova@list.ru

Участие авторов: Кузнецова А.И. – методология, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста, разработка окончательного варианта; Мунчак Я.М. – проведение экспериментов, работа с базой данных Los Alamos; Лебедев А.В. – литературный поиск, анализ и интерпретация полученных данных; Туманов А.С. – проведение экспериментов; Ким К.В. – работа с базой данных Los Alamos, статистическая обработка; Антонова А.А. – литературный поиск, филогенетический анализ; Ожмегова Е.Н. – литературный поиск, филогенетический анализ; Пронин А.Ю. – сбор данных, редактирование текста; Дробышевская Е.В. – сбор данных, редактирование текста; Казеннова Е.В. – методология, разработка окончательного варианта; Бобкова М.Р. – разработка концепции, редактирование, разработка окончательного варианта.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-15-00117, <https://rscf.ru/project/22-15-00117/>.

Благодарности. Авторы выражают благодарность д.б.н., заведующему лабораторией молекулярной генетики ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России Прилипову Алексею Геннадьевичу за оказанную помощь в секвенировании провирусной ДНК ВИЧ-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019 г. и № 20 от 17.03.2022 г.).

Поступила 06.01.2023
Принята в печать 17.02.2023
Опубликована 28.02.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-161>

Genetic diversity of capsid protein (p24) in human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) variants circulating in the Russian Federation

Anna I. Kuznetsova¹, Iana M. Munchak¹, Aleksey V. Lebedev¹, Alexander S. Tumanov¹, Kristina V. Kim¹, Anastasiia A. Antonova¹, Ekaterina N. Ozhmegova¹, Alexander Yu. Pronin², Elena V. Drobyshevskaya², Elena V. Kazennova¹, Marina R. Bobkova¹

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology of FSBI "National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya", 123098, Moscow, Russia;

²Moscow Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, 129110, Moscow, Russia

Introduction. The human immunodeficiency virus (HIV) protein p24 plays an important role in the life cycle of the virus, and also is a target for diagnostic tests and for new antiretroviral drugs and therapeutic vaccines. The most studied variant of HIV-1 in the world is subtype B. In Russia, the most common variant is A6, the spread of recombinant forms (CRF63_02A6, CRF03_A6B) is observed as well as circulation of G and CRF02_AG variants. However, a detailed study of the p24 protein in these variants has not yet been conducted.

The aim was to study the features of the p24 protein in HIV-1 variants circulating in Russia and estimate the frequency of occurrence of pre-existing mutations associated with resistance to lenacapavir, the first antiretroviral drug in the class of capsid inhibitors.

Materials and methods. The objects of the study were the nucleotide sequences obtained from the Los Alamos international database and clinical samples from HIV infected patients.

Results and discussion. The features of HIV-1 variants circulating in Russia have been determined. V86A, H87Q, I91F are characteristic substitutions in A6 genome. It is shown that the presence of preexisting mutations associated with resistance to lenacapavir is unlikely.

Conclusion. Features of the p24 protein in HIV-1 variants circulating in Russia allow them to be distinguished from others variants and among themselves. The prognosis for the use of lenacapavir in Russia is generally favorable. The results obtained could be taken into account in developing and using antiretroviral drugs and therapeutic vaccines.

Keywords: HIV-1; sub-subtype A6; p24; mutations; polymorphism

For citation: Kuznetsova A.I., Munchak I.M., Lebedev A.V., Tumanov A.S., Kim K.V., Antonova A.A., Ozhmegova E.N., Pronin A.Yu., Drobyshevskaya E.V., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Genetic diversity of capsid protein (p24) in human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) variants circulating in the Russian Federation. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(1): 66-78 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-161>

For correspondence: Anna I. Kuznetsova, PhD (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, D.I. Ivanovsky Institute of Virology of FSBI "National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya", 123098, Moscow, Russia. E-mail: a-myznikova@list.ru

Information about authors:

Kuznetsova A.I., <https://orcid.org/0000-0001-5299-3081>

Munchak I.M., <https://orcid.org/0000-0002-4792-8928>

Lebedev A.V., <https://orcid.org/0000-0001-6787-9345>

Tumanov A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6221-5678>

Kim K.V., <https://orcid.org/0000-0002-4150-2280>

Antonova A.A., <https://orcid.org/0000-0002-9180-9846>

Ozhmegova E.N., <https://orcid.org/0000-0002-3110-0843>

Pronin A.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6673-1218>

Drobyshevskaya E.V., <https://orcid.org/0000-0002-0654-8646>

Kazennova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-7912-4270>

Bobkova M.R., <https://orcid.org/0000-0001-5481-8957>

Contribution: Kuznetsova A.I. – methodology, data analysis and interpretation, text preparation and editing, final version development; Munchak I.A. – conducting of the experiments, working with Los Alamos database; Lebedev A.V. – thematic literature search, data analysis and interpretation; Tumanov A.S. – conducting of the experiments; Kim K.V. – working with Los Alamos database, statistical analysis; Antonova A.A. – thematic literature search, phylogenetic analysis; Ozhmegova E.N. – thematic literature search, phylogenetic analysis; Pronin A.Yu. – data collection, text editing; Drobyshevskaya E.V. – data collection, text editing; Kazennova E.V. – methodology, final version development; Bobkova M.R. – conceptualization, text editing, final version development

Funding. The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 22-15-00117, <https://rscf.ru/project/22-15-00117/>.

Acknowledgement. The authors are grateful to Dr Sci. (Biol.), chief of the Laboratory of Molecular Genetics of D.I. Ivanovsky Institute of Virology of FSBI “National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya”, 123098, Moscow, Russia Alexey G. Prilipov for assistance in sequencing HIV-1 proviral DNA.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of patients. The protocol of the study was approved by the Committee on Biomedical Ethics of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of FSBI «National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya», 123098, Moscow, Russia (Protocol No. 16 of 02/08/2019 and No. 20 of 03/17/2022).

Received 06 January 2023
Accepted 17 February 2023
Published 28 February 2023

Введение

ВИЧ-инфекция остаётся актуальной проблемой во всём мире. В результате широкого применения современной антиретровирусной терапии в настоящее время продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных людей практически сопоставима со средней продолжительностью жизни в общей популяции [1]. Тем не менее методов полного излечения пока не существует, и лечение ВИЧ-инфекции предполагает ежедневный пожизненный приём комбинированных схем терапии, включающих в среднем 2–3 антиретровирусных препарата разных классов [2–4]. Проблемы лекарственной устойчивости ВИЧ, токсичности препаратов и становящийся всё более актуальным вопрос межлекарственных взаимодействий формируют постоянную необходимость в создании новых антиретровирусных препаратов.

Одной из основных характеристик ВИЧ является его чрезвычайное генетическое разнообразие, которое обеспечивается высокой скоростью возникновения мутаций и рекомбинацией и является результатом работы вирусного фермента – обратной транскриптазы, осуществляющей синтез ДНК на матрице вирусной РНК [5]. В мире существуют разнообразные субтипы и рекомбинантные формы ВИЧ, которые крайне неравномерно распределены по всему земному шару [6, 7]. Генетические различия между различными вариантами ВИЧ-1 определяются мутациями полиморфизма, понимаемыми как единичные замены с частотой встречаемости более 1% и не связанными с лечением [8]. Вопрос о возможном влиянии полиморфных мутаций и субтипа ВИЧ-1 на функциональные свойства вируса, в том числе на скорость возникновения и степень лекарственной устойчивости к антиретровирусной терапии, обсуждается уже много лет и до сих пор остаётся нерешённым [9–11].

Состав вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, кардинально отличается от других стран. На протяжении многих лет доминирующим циркулирующим вариантом ВИЧ-1 является суб-субтип А6, а наиболее часто встречающимся не-А-вариантом – субтип В [12, 13].

Кроме того, на территорию России попал вариант вируса субтипа G, вызвав нозокомиальную вспышку ВИЧ-инфекции в нескольких городах юга России в 1988–1990 гг.; в настоящее время варианты ВИЧ-1 субтипа G выявляются крайне редко [14]. Как и во всём мире, в последнее время в России отмечается тенденция к появлению и распространению рекомбинантных форм вируса. Например, ранее выявляемая в Калининградской области рекомбинантная форма CRF_03AB в настоящее время доминирует в Вологодской области [15, 16]. Рекомбинантная форма CRF_02AG детектируется с небольшой частотой в различных регионах России [13, 17–19], при этом возникшая в результате рекомбинации между CRF_02AG и суб-субтипом А6 рекомбинантная форма CRF63_02A6 активно распространяется в Сибирском регионе [18, 20–22].

Проведённые ранее исследования гена *pol* [23, 24], области гена *gag*, кодирующей белок SP1 [25], области гена *env*, кодирующей белки gp 41 [26] и gp120 [27], а также генов, кодирующих некоторые неструктурные белки [28, 29], показали, что циркулирующие в России варианты ВИЧ-1 обладают рядом особенностей и определили характерные для них мутации полиморфизма. Некоторые из выявленных мутаций полиморфизма связаны с лекарственной устойчивостью ВИЧ [30–32] и изменением функциональных свойств вирусных белков [29].

Капсидный белок p24, играющий важную структурную и функциональную роль в жизненном цикле ВИЧ, является как объектом диагностических тестов, так и мишенью для разработки новых антиретровирусных препаратов и терапевтических вакцин [33–37]. Кроме формирования капсида, p24 активно участвует в различных этапах жизненного цикла вируса: обратной транскрипции ВИЧ, цитоплазматическом переносе посредством микротрубочек, декапсидации и ядерном импорте преинтеграционного комплекса вируса, интеграции вирусной ДНК в геном клетки-хозяина и сборке вириона, а также взаимодействует с несколькими факторами клетки-хозяина, которые могут как способствовать, так и предотвращать развитие вирусной инфекции [33, 34, 38].

Белок p24 (капсидный белок) кодируется участком гена *gag*. При экспрессии этого гена образуются два возможных варианта полипротеина: предшественник внутренних белков ВИЧ Pr55^{Gag} и общий предшественник внутренних белков и всех трёх ферментов – Gag-Pol в соотношении 20 : 1 (рис. 1); этот феномен объясняется рибосомным сдвигом рамки считывания. Pr55^{Gag}, имеющий молекулярную массу ~55 кДа, содержит четыре основных домена: матрикс (MA), капсид (CA), нуклеокапсид (NC) и p6 и два небольших спейсерных пептида SP1 и SP2. Gag-Pol с молекулярной массой 160 кДа содержит те же домены Gag, за исключением домена p6, вместо которого имеется межрамочный домен, известный как p6*, или p6pol. Кроме того, Gag-Pol включает домены протеазы (PR), обратной транскриптазы (RT) и интегразы (IN) [33, 34].

Структура зрелого капсида имеет форму фуллеренового конуса, который состоит примерно из 1100 мономеров p24, собранных в гексамерной решётке. Каждая молекула p24 ВИЧ-1 состоит из двух доменов: N-концевого домена (NTD), состоящего из 146 аминокислот, и C-концевого домена (CTD), состоящего из 85 аминокислот (рис. 2). NTD состоит из N-концевой β-шпильки и 7 следующих за ней α-спиралей,

в то время как CTD имеет 4 α-спирали и C-концевую неструктурированную область из 11 остатков. NTD и CTD соединены междоменной линкерной областью (остатки 146–150). CTD содержит высококонсервативный среди различных ретровирусов регион, состоящий из 20 аминокислот (AK), остатки 153–172, называющийся основной областью гомологии (MHR) [34, 39]. В NTD находится СурА-связывающая петля (85–93 АК), которая связывает клеточный белок циклофилин А [34], регулирующий инфекционность ВИЧ-1 [40]. Проведённые ранее исследования показали высокую консервативность капсида и вместе с тем уязвимость его функциональных свойств к возникающим мутациям [34, 39], а также определили мутации, способные повлиять на его функциональность [41].

Среди препаратов, применяемых для лечения ВИЧ-инфекции, до недавнего времени не было лекарств, имеющих мишенью внутренние белки вируса, однако недавно появился первый экспериментальный препарат класса ингибиторов капсида (p24) – ленакапавир, который одновременно воздействует на три стадии жизненного цикла ВИЧ: «разделение» вириона после его проникновения в клетку, доставку преинтеграционного комплекса в ядро и правильное формирование капсида в ходе созревания. Планируется

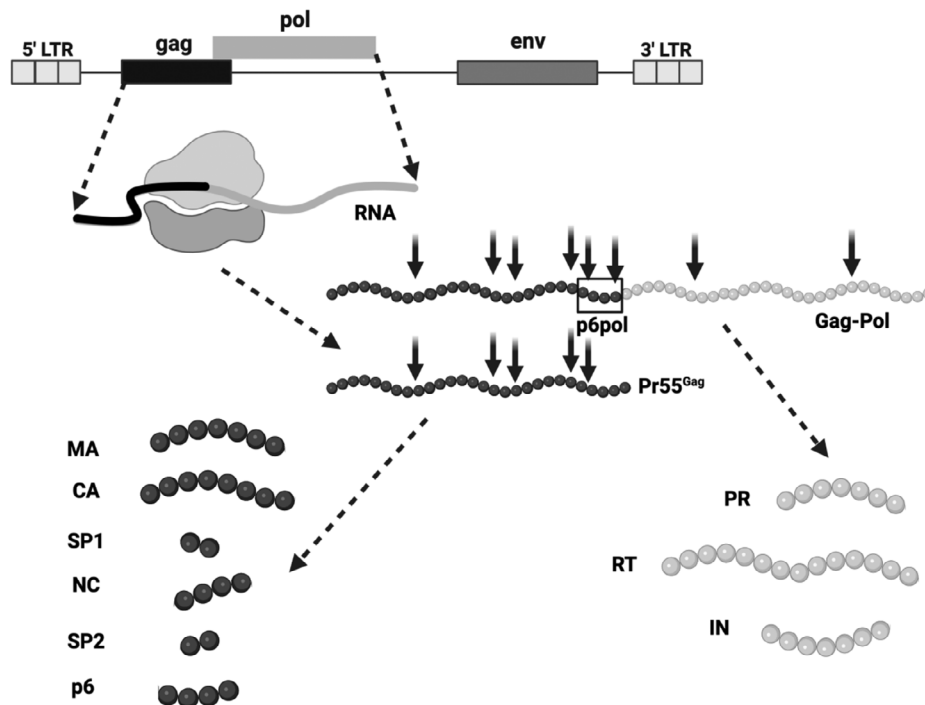


Рис. 1. Экспрессия гена *gag*: 5' LTR и 3' LTR – длинные концевые повторы в составе провирусной ДНК на 5'- и 3'-концах соответственно; *gag* – область гена *gag*; *pol* – область гена *pol*; *env* – область гена *env*; RNA – вирусная РНК на рибосоме; Gag-Pol – общий предшественник внутренних белков и трёх ферментов ВИЧ-1; Pr55^{Gag} – предшественник внутренних белков ВИЧ-1; MA – матрикс; CA – капсид; SP1 – спейсерный пептид 1; NC – нуклеокапсид; SP2 – спейсерный пептид 2; p6 – белок p6; p6pol – межрамочный домен p6pol; PR – протеаза; RT – обратная транскриптаза; IN – интеграза.

Fig. 1. *Gag* gene expression: 5' LTR and 3' LTR – long terminal repeats in proviral DNA at the 5' and 3' ends, respectively; *gag* – *gag* gene; *pol* – *pol* gene; *env* – *env* gene; RNA – viral RNA (ribonucleic acid) on the ribosome; Gag-Pol – common precursor for internal proteins and three HIV-1 enzymes; Pr55^{Gag} – precursor for HIV-1 internal proteins; MA – matrix; CA – capsid; SP1 – spacer peptide 1; NC – nucleocapsid; SP2 – spacer peptide 2; p6 – p6 protein; p6pol – p6pol trans-frame domain; PR – protease; RT – reverse transcriptase; IN – integrase.

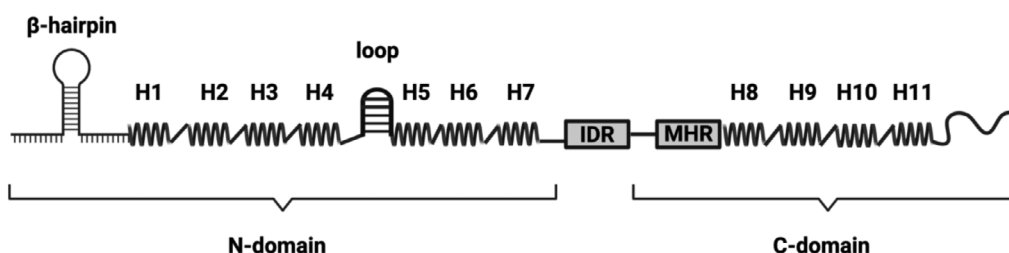


Рис. 2. Вторичная структура p24: N-domain – N-концевой домен; C-domain – C-концевой домен; β -hairpin – N-концевая β -шпилька; H1 – H11 – α -спирали 1–11 соответственно; loop – СурА-связывающая петля; IDR – междоменная линкерная область; MHR – основная область гомологии.

Fig. 2. Secondary structure of p24: N-domain – N-terminal domain; C-domain – C-terminal domain; β -hairpin – N-terminal β -hairpin; H1 – H11 – α -helices 1–11 respectively; loop – CypA-binding loop; IDR – interdomain linker region; MHR – the major homology region.

применение ленакапавира в составе инъекционной терапии пролонгированного действия с интервалом введения до 6 месяцев либо в схемах с пероральным применением с интервалом между приёмами до 7 суток [42].

В настоящее время ленакапавир проходит фазу II/III клинических испытаний [43]. На стадии доклинических испытаний в культуре клеток был определён перечень мутаций в белке p24, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к препарату: L56I, M66I, Q67H, K70N, N74D, N74S и T107N [44, 45]. Анализ последовательностей ВИЧ-1 субтипа В, суб-субтипа А1, субтипа F1, субтипа D и рекомбинантной формы CRF02_AG, полученных из клинических образцов как наивных, так и ранее леченных ВИЧ-инфицированных пациентов, не выявил наличия мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру [46]. Более позднее исследование варибельности белка p24 во всех 4 группах ВИЧ-1 (M, N, O, P) и её возможного влияния на эффективность ленакапавира показало, что естественная резистентность ВИЧ к ленакапавиру на сегодняшний день маловероятна [34]. Вместе с тем детальный анализ генетических особенностей белка p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, до сих пор не проводился.

Целью данной работы является исследование особенностей белка p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории России (суб-субтипа А6, рекомбинантных форм CRF63_02A6, CRF_03AB, CRF02_AG и субтипа G):

- проведение филогенетического анализа фрагмента гена *gag*, кодирующего белок p24;
- анализ особенностей консенсусных последовательностей белка p24 для каждого варианта вируса;
- сравнение профиля естественных полиморфизмов p24 наиболее широко распространённого в России суб-субтипа А6 с наиболее изученным в мире субтипом В и с наиболее близким ему вариантом – суб-субтипом А1;
- анализ наличия мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру.

Полученные данные помогут спрогнозировать эффективность применения ленакапавира в России, обозначат характерные особенности белка p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, что может

стать платформой для создания новых лекарственных препаратов в будущем.

Материалы и методы

Из международной базы данных Los Alamos (www.hiv.lanl.gov/content/index) были отобраны 962 нуклеотидные последовательности фрагмента гена *gag*, кодирующего белок p24, из них 200 – суб-субтипа А6, 180 – суб-субтипа А1, 229 – субтипа В, 200 – субтипа С, 73 – субтипа G, 22 – рекомбинантной формы CRF63_02A6, 7 – рекомбинантной формы CRF03_AB6, 51 – рекомбинантной формы CRF02_AG. Субтиповая принадлежность указанных последовательностей была дополнительно проверена с применением программы идентификации рекомбинантных форм RIP (RIP 3.0 submission form (lanl.gov)). Попарное и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей было выполнено с помощью алгоритма программы MEGA v.10.2.2. Затем для всех отобранных последовательностей был проведён филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [47].

При проведении исследования особенностей консенсусных последовательностей белка p24 вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России (суб-субтипа А6, CRF63_02A6, CRF_03AB, CRF02_AG и субтипа G), проводили сравнение консенсусных последовательностей каждого варианта с референс-штаммом HXB2 (K03455), с консенсусной последовательностью субтипа В и между собой. Для каждого варианта вируса консенсусные последовательности были сформированы при помощи программного обеспечения Advanced Consensus Maker tool на сайте базы данных Los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/AdvCon.html>) с последующей «ручной» проверкой собранных консенсусов и анализом с применением программы MEGA v.10.2.2.

Для проведения сравнения естественных полиморфизмов суб-субтипа А6 и субтипа В первоначально посредством программы MEGA v.10.2.2 выявляли естественные полиморфизмы обоих вариантов относительно референсного штамма HXB2; под полиморфизмами понимали мутации – единичные замены, встречающиеся в $\geq 1\%$ наблюдений [8]. Далее с применением

программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) выявляли сайты со статистически достоверными различиями ($p < 0,05$ при использовании критерия χ^2). В дальнейшем анализе для большей наглядности из выявленных позиций со статистически значимыми различиями учитывали только те, в которых частота полиморфизма одного из сравниваемых вариантов составляла 20% и более. Аналогично проводили сравнение естественных полиморфизмов между суб-субтипами А6 и А1.

При исследовании наличия мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, анализировали последовательности области гена *gag*, кодирующие белок p24, как загруженные из международной базы данных Los Alamos (суб-субтипа А6, рекомбинантных форм CRF63_02A6, CRF_03AB, CRF02_AG и субтипа G), так и полученные *de novo* из 30 клинических образцов наивных ВИЧ-инфицированных пациентов (табл. 1). Все пациенты наблюдались в ГКУЗ Московской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями». Весь полученный клинический материал использовали с информированного добровольного согласия пациента на основании одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 16 от 08.02.2019). Забор клинических образцов осуществляли в 2019–2020 гг. Анализ мутаций лекарственной устойчивости проводили с применением программы MEGA v.10.2.2. на основе перечня мутаций, выявленных в экспериментах *in vitro* в культуре клеток: L56I, M66I, Q67H, K70N, N74P, N74S, T107S [44, 45].

Выделение геномной ДНК, включающей интегрированную провирусную ДНК, из клеток крови ВИЧ-инфицированных пациентов проводили методом высаливания [48]. Получение ПЦР-продуктов (ПЦР – полимеразная цепная реакция) области гена *gag*, кодирующей белок p24, проводили методом гнездовой ПЦР при помощи подобранных праймеров: два внешних праймера – p24F1 (5'-СТС ТАТТГТГТАСАТСААССГАТАГ-3' 1042 → 1066) и p24R1 v1 (5'-СТАГГТГТСТТТТГССАСА ГТТГ-3' 1968 → 1993) и два внутренних – p24F2 (5'-GACACCAAGGAAGCTTTAG-3' 1075 → 1093) и p24R2 v1 (5'-GТАСТТГАСТСАТТГССТССГГ-3' 1880 → 1900), после чего были получены и секвенированы 30 p24-ампликонов. Полученные последовательности анализировали, как описано выше.

Результаты

Анализ с применением программы RIP и последующий филогенетический анализ подтвердили субтипую специфичность отобранных из международной базы Los Alamos нуклеотидных последовательностей.

В результате проведения филогенетического анализа было сформировано 6 кластеров: А1, А6, CRF02_AG + CRF63_02A6, G, В и С (рис. 3).

В кластер А6 вошли все последовательности суб-субтипа А6, две последовательности варианта CRF63_02A6 и все последовательности рекомбинантной формы CRF_03AB. В кластер CRF02_AG + CRF63_02A6 вошли все последовательности рекомбинантной формы CRF02_AG, при этом две из двух последовательностей, полученных от пациентов из России, сгруппировались в середине кластера CRF02_AG, а 20 из 22 нуклеотидных последовательностей CRF63_02A6 сформировали подкластер. Для двух последовательностей CRF63_02A6, сгруппированных с субтипом А6, дополнительно из базы данных Los Alamos были загружены полногеномные последовательности и проанализированы с применением программы RIP. Результаты анализа подтвердили их принадлежность к рекомбинантной форме CRF63_02A6.

В кластере G 24 из 25 последовательностей, полученных от российских пациентов, сформировали подкластер. Принимая это во внимание, для формирования консенсуса субтипа G и последующего анализа мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру были использованы только нуклеотидные последовательности, полученные от пациентов из России.

При анализе особенностей консенсусных последовательностей вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, была определена 31 позиция АК, в которых анализируемые консенсусы отличались от референс-последовательности НХВ2 (K03455) (табл. 2).

Сравнение профилей естественных полиморфизмов суб-субтипа А6 и субтипа В показало, что 83 из 231 позиции АК в белке p24 у обоих вариантов вируса были полностью консервативны, т.е. не содержали АК замен относительно референс-штамма НХВ2. Допол-

Таблица 1. Эпидемиологические и демографические характеристики пациентов

Table 1. Epidemiological and demographic characteristics of patients

Показатель Characteristic	n
Общее число пациентов Total number of patients	30
Средний возраст, лет Average age, years	39
Пол/Gender:	
– мужской/male;	18
– женский/female	12
Путь инфицирования/Route of infection:	
– гетеросексуальный/heterosexual;	19
– мужчины, имеющие секс с мужчинами/MSM;	8
– потребители инъекционных наркотиков/people who inject drugs	3
Генотипы ВИЧ-1/HIV-1 genotypes*:	
– А6;	28
– В;	1
– G	1

Примечание. *Субтип ВИЧ-1 был предварительно определен на основе анализа области гена *pol*.

Note. *The HIV-1 subtype was preliminarily determined based on the analysis of the *pol* gene region.

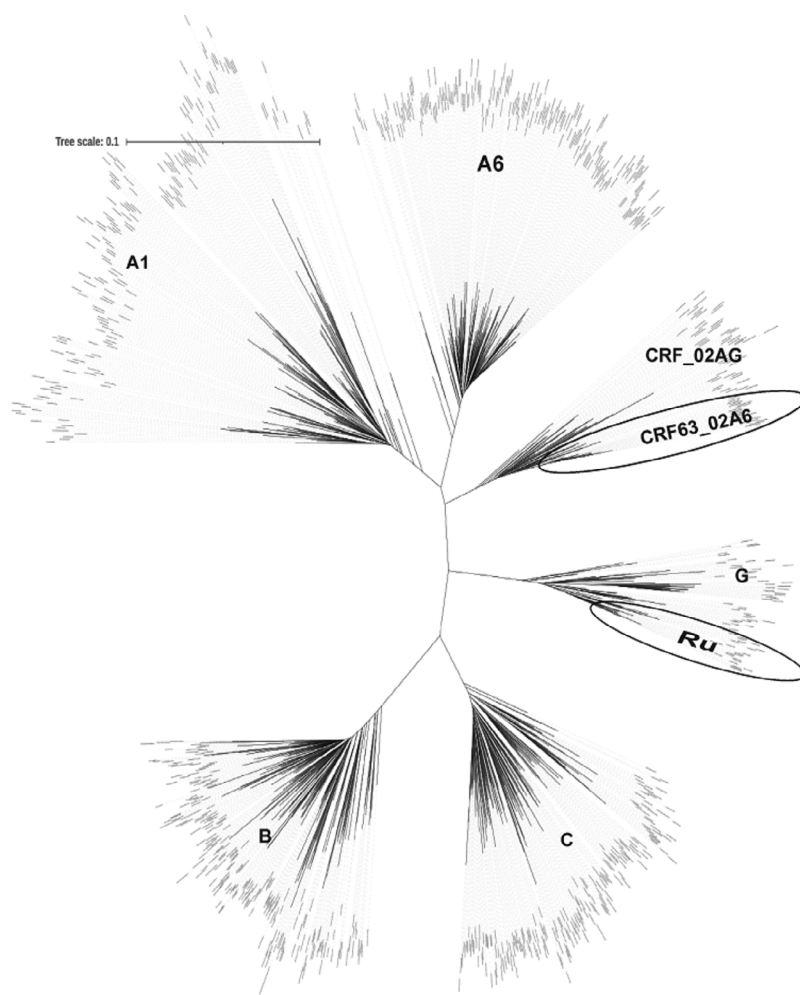


Рис. 3. Результаты филогенетического анализа фрагмента гена *gag*, кодирующего белок p24, методом максимального правдоподобия: A1 – кластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 суб-субтипа A1; A6 – кластер, преимущественно сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 суб-субтипа A6; CRF_02AG+CRF63_02A6 – кластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 рекомбинантных форм CRF_02AG и CRF63_02A6; CRF63_02A6 – подкластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 рекомбинантной формы CRF63_02A6; G – кластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 субтипа G; Ru – подкластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 субтипа C; B – кластер, сформированный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 субтипа B.

Fig. 3. Maximum-likelihood phylogeny of the fragment of gene *gag* encoding the p24 protein; A1 – the cluster formed by the nucleotide sequences of sub-subtype A1 HIV-1; A6 – the cluster mainly formed by the nucleotide sequences of sub-subtype A6 HIV-1; CRF_02AG + CRF63_02A6 – the cluster formed by the nucleotide sequences of HIV-1 recombinant forms – CRF_02AG and CRF63_02A6; CRF63_02A6 – the subcluster formed by nucleotide sequences of HIV-1 CRF63_02A6 recombinant form; G – the cluster formed by the nucleotide sequences of subtype G HIV-1; Ru – the subcluster formed by the nucleotide sequences of HIV-1 obtained from Russia; C – the cluster formed by the nucleotide sequences of subtype G HIV-1 subtype C; B – the cluster formed by the nucleotide sequences of subtype B HIV-1.

нительно только у суб-субтипа A6 полностью консервативными были 52 позиции АК, а только у субтипа B – 23, при этом было выявлено 29 мутаций со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости в 24 позициях АК (табл. 3).

Сравнение профилей естественных полиморфизмов суб-субтипов A6 и A1 показало, что 93 из 231 позиции АК в белке p24 у обоих вариантов вируса были полностью консервативны. Дополнительно только у суб-субтипа A6 полностью консервативными были 39 позиции АК, а только у суб-субтипа A1 – 19, при этом было выявлено 29 мутаций со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости в 25 позициях АК (табл. 4).

Анализ мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, в последовательностях, загруженных из базы данных Los Alamos, выявил 4 случая наличия мутаций лекарственной устойчивости T107S, из них три последовательности принадлежали субтипу G и одна – рекомбинантной форме CRF03_06B. Кроме этого, две последовательности содержали альтернативные замены в значимой T107 позиции АК: замена T107V была обнаружена в последовательности рекомбинантной формы CRF02_AG и замена T107A – в последовательности вируса субтипа G.

Таблица 2. Аминокислотные позиции в белке p24, в которых аминокислоты в консенсусных последовательностях вариантов ВИЧ 1, циркулирующих в России, отличались от аминокислот в референс-последовательности HXB2 (K03455), и аминокислоты в соответствующих позициях консенсусной последовательности субтипа В*

Table 2. Amino acid positions in p24, in which the amino acids of the consensus sequences of HIV-1 variants circulating in Russia differed from the amino acids in reference sequence HXB2 (K03455), and the amino acids in the corresponding positions of the consensus sequence of subtype B*

Регион	HXB2	A6	CRF63_02A6	CRF03_A6B	CRF02_AG	G	B
β-шпилька β-hairpin	I6	I6A	I6A	I6A	I6A	I6A	I6L
	V11	V11T	V11T	V11I	–	–	–
	A14	A14S	A14S	A14S	A14S	–	–
	I15	I15M	I15M	I15M	I15M	–	–
H1	V27	V27I	V27I	V27I	V27I	–	–
H2	S41	–	S41T	–	–	–	–
H3	T54	T54M	T54M	T54M	T54M	–	–
	T58	T58I	T58I	T58I	T58I	–	–
H4	E71	E71D	E71D	E71D	E71D	E71D	–
	T72	–	–	–	–	T72A	–
	V83	V83L	V83T	V83L	–	V83L	V83L
СупА-связывающая петля СупА binding loop	V86	V86A	–	V86A	–	V86P	–
	H87	H87Q	–	H87Q	–	H87Q	–
	I91	I91F	I91N	I91F	–	–	–
	A92	A92P	A92P	A92P	A92P	–	–
H6	G116	–	–	–	–	G116T	–
	N120	N120S	–	N120S	N120S	N120S	–
H7	E128	E128D	–	E128D	–	–	–
	I135	–	I135V	–	I135V	–	–
	L136	–	–	–	–	L136M	–
IDR	T148	T148V	T148V	T148V	T148V	T148V	–
MHR	R154	–	R154K	–	–	R154K/R	–
	Y169	Y169F	Y169F	Y169F	Y169F	Y169F	–
	S178	S178T	S178T	S178T	S178T	S178T	–
H9	E180	E180D	–	E180D	–	–	–
	N183	–	–	–	–	N183G	–
	E187	–	–	–	–	E187D	–
H10	T200	–	T200S	–	T200S	–	–
	K203	K203R	K203R	K203R	K203R	K203R	–
	A208	A208G	A208G	A208G	A208G	A208G	–
	G225	–	–	–	–	G225S	–

Примечание. *Прочерк – аминокислота соответствует аминокислоте в референс-последовательности HXB2 (K03455).

Note. *Dash means that the amino acid corresponds to amino acid in the reference sequence HXB2 (K03455).

При исследовании клинических образцов, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов, субтип-специфичность вирусов, указанная в табл. 1, подтверждалась анализом полученных нуклеотидных последовательностей области гена *gag*, кодирующих белок p24, с применением программы COMET-1 [49] и онлайн программы определения рекомбинантных форм RIP (RIP 3.0 submission form (lanl.gov)). Мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ленакапавиру в клинических образцах обнаружено не было.

Полученные нуклеотидные последовательности были депонированы в GenBank под регистрационными номерами OP726083 – OP726112.

Обсуждение

В экономически развитых странах Европы, США и Австралии, где генотипирование ВИЧ широко используется в рутинной практике, а в последнее время активно применяются и методы полногеномного секвенирования, наиболее распространён субтип В,

Таблица 3. Частота встречаемости мутаций (единичных замен) в белке p24 вариантов ВИЧ-1 суб-субтипов А6 и субтипа В, %
Table 3. Frequency of mutations (single substitutions) in p24 variants of sub-subtype A6 and subtype B HIV-1, %

Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency		Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency		Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency	
	A6	B		A6	B		A6	B
I6A	99,5	0	T54M	95,5	0	T148V	88,5	20,1
I6L	0	76	T58I	96	0	R154K	17	28,4
V11T	38	0	E71D	99	2,2	Y169F	100	0
V11I	20	0,4	V83L	75	86,5	S178T	98	11,8
A14S	82	0,9	V86A	81,5	6,1	E180D	67	30,6
A14P	7	29,3	H87Q	100	24,9	K203R	89	0,4
I15M	64	2,6	I91F	82	0	P207S	26,5	0
I15L	6,5	27,9	I91V	1,5	24,5	A208G	97	21
V27I	100	28,8	A92P	97,5	6,1	G225S	13	22,7
S41T	31	18,3	N120S	80,5	24,5	–	–	–

Примечание. Мутациями считали замены в указанных позициях в сравнении с референс-штаммом HXB2. Жирным шрифтом выделены позиции, в которых замены у суб-субтипа А6 встречались более чем в 80%, при этом у субтипа В обнаружены не были.

Note. Mutations were defined as substitutions in the indicated positions in comparison with the reference strain HXB2. The positions in which substitutions in the A6 subtype were found in more than 80%, while absent in the subtype B, are shown in bold.

Таблица 4. Частота встречаемости мутаций (единичных замен) в белке p24 вариантов суб-субтипов А6 и А1 ВИЧ-1, %
Table 4. Frequency of mutations (single substitutions) in p24 variants sub-subtypes A6 and A1 HIV-1, %

Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency		Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency		Мутация Mutation	Частота встречаемости Frequency	
	A6	A1		A6	A1		A6	A1
V11T	38	5	V83L	75	88,3	T148V	88,5	95,6
V11I	20	61,7	V86A	81,5	6,7	R154K	17	91,1
A14S	82	30,6	H87Q	100	25	S178T	98	85,6
A14N	0	26,1	I91F	82	2,2	E180D	67	26,1
I15M	64	7,8	A92P	97,5	81,1	N183G	0	66,1
I15L	6,5	71,1	L111P	0	76,7	T200S	8	80
V27I	100	94,4	I115L	0	21,7	K203R	89	79,4
A31G	5	26,1	N120S	80,5	48,9	P207T	2	36,7
S41T	31	3,9	N120G	5,5	39,4	G225S	13	26,7
T54M	95,5	83,3	E128D	77,5	89,4	–	–	–

Примечание. Мутациями считали замены в указанных позициях в сравнении с референс-штаммом HXB2. Жирным шрифтом выделены позиции, в которых замены у суб-субтипа А6 встречались в 4 и более раза чаще.

Note. Mutations were defined as substitutions in the indicated positions in comparison with the reference strain HXB2. The positions in which substitutions in the A6 subtype were found ≥ 4 times more often are shown in bold.

поэтому именно он в настоящее время является наиболее широко изученным вариантом [6, 7]. Молекулярная эпидемиология ВИЧ-инфекции в России имеет уникальный характер, однако генотипирование ВИЧ-1 на настоящий момент не является обязательным [4] и проводится, как правило, только по гену *pol*, который кодирует основные белки-мишени антиретровирусной терапии. Полногеномное секвенирование в небольших масштабах могут себе позволить лишь единичные лаборатории в рамках выполнения научных проектов. Таким образом, фрагменты генома за пределами гена *pol* у вариантов ВИЧ, циркулирующих в России, остаются малоизученными. Вместе с тем в мире активно

продолжается разработка новых антиретровирусных препаратов [33, 50, 51] и терапевтических вакцин [36, 37, 52, 53], нацеленных на альтернативные белки-мишени ВИЧ, в том числе на капсидный белок p24 [33, 36, 37]. Эта работа была посвящена изучению особенностей капсидного белка p24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории России.

В результате филогенетического анализа было сформировано 6 кластеров – А1, А6, CRF02_AG + CRF63_02A6, G, В и С (рис. 1), что свидетельствует о существующей гетерогенности фрагмента гена *gag*, кодирующего белок p24, между различными вариантами ВИЧ-1 и о наличии отличий у вариантов ВИЧ-1,

циркулирующих в России (суб-субтипа А6, рекомбинантных форм CRF63_02A6, CRF_03AB, CRF02_AG и субтипа G), от наиболее изученного субтипа В.

Последовательности рекомбинантной формы CRF_03AB сгруппировались с последовательностями субтипа А6, так как CRF_03AB является продуктом рекомбинации суб-субтипа А6 и субтипа В и в области гена *gag* CRF_03AB соответствует суб-субтипу А6 [54].

Из 22 последовательностей рекомбинантной формы CRF63_02A6 20 сформировали общий кластер с последовательностями CRF02_AG, так как CRF63_02A6 являются продуктом рекомбинации CRF02_AG и субтипа А6 [55]. Тем не менее последовательности CRF63_02A6 сформировали отдельный подкластер в кластере CRF02_AG+CRF63_02A6, что свидетельствует о наличии некоторых особенностей в области гена *gag*, кодирующей белок р24, отличающих CRF63_02A6 от CRF02_AG.

В кластере G 24 из 25 последовательностей, полученных от пациентов из России, сформировали кладу. Дополнительный анализ данных литературы показал, что эти последовательности были получены от пациентов, инфицированных во время нозокомиальной вспышки в 1988–1990 гг. на юге России [14, 56].

В консенсусных последовательностях вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории РФ, были обнаружены замены АК в 31-й позиции относительно референсной последовательности HXB2 и консенсусной последовательности субтипа В (табл. 2). При этом замены были выявлены практически во всех участках р24, за исключением Н5, Н8 и Н11, что согласуется с данными о том, что наиболее консервативными структурами в группе М ВИЧ-1 являются области Н5 и Н8 [34]. Наибольшее число замен обнаружено в области СурА-связывающей петли, тогда как в регионе МНР были найдены замены только в двух сайтах – 154 и 169. В целом консенсусные последовательности белка р24 вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории РФ, содержали как общие замены, так и отличия, количество и качество которых менялись в зависимости от варианта вируса, при этом каждый вариант вируса имел уникальный профиль замен.

При сравнении профилей полиморфизмов суб-субтипа А6 и субтипа В, суб-субтипов А6 и А1 были определены достоверные статистически значимые отличия, которые свидетельствуют о наличии индивидуальных особенностей в профиле полиморфизма суб-субтипа А6 и генетическом разнообразии белка р24 внутри субтипа А.

Отдельно следует отметить три мутации (V86A, H87Q, I91F), которые у суб-субтипа А6 выявлялись более чем в 80% случаев, и в 4 и более раза чаще, чем у субтипа В и суб-субтипа А1 (табл. 3 и 4), вследствие чего их можно обозначить в качестве характеристических замен для суб-субтипа А6. Мутации V86A, H87Q, I91F располагаются в области СурА-связывающей петли, которая отвечает за взаимодействие р24 с клеточным белком циклофилином А, предотвращающим ограничение репликации ВИЧ-1 путём блокировки клеточного фактора TRIM5α [34, 57]. При этом ранее

было показано, что замена H87Q снижает эффективность связывания р24 с циклофилином А [41].

Также дополнительно необходимо выделить замену в 92-м положении – A92P, которая встречалась у суб-субтипов А6 и А1 в 97,5 и 81,1% случаев соответственно, в то время как у субтипа В – лишь в 6,1% случаев. Ранее было показано, что замена A92E влияет на репликацию вируса [41]. Хотя данных о значимости мутации A92P пока нет, эту замену следует отметить для дальнейшего изучения.

При исследовании наличия мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у вариантов ВИЧ, циркулирующих в России, в последовательностях, загруженных из базы данных Los Alamos, в одной из 7 последовательностей рекомбинантной формы CRF03_A6B и в трёх из 25 последовательностей субтипа G была обнаружена мутация T107S. Последовательности ВИЧ-1 субтипа G, согласно приложенным к ним описаниям, были получены от разных пациентов, хотя и инфицированных в результате одной нозокомиальной вспышки [56]. Наличие единичной мутации T107S не приводит к развитию лекарственной устойчивости к ленакапавиру, необходимо сочетание с мутацией Q67H [44], однако неизвестно, может ли под воздействием ленакапавира наличие T107S ускорить возникновение мутации Q67H. Кроме того, обращает на себя внимание выявление T107S у CRF03_AB в одной из 7 последовательностей (14,3%), а у субтипа G – в трёх из 25 (12%). Небольшая выборка последовательностей не позволяет определить частоту встречаемости T107S у этих вариантов ВИЧ-1, тем не менее полученный результат может способствовать дальнейшему исследованию распространённости мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у рекомбинантной формы CRF03_A6B и вариантов ВИЧ-1 субтипа G, циркулирующих на территории РФ.

В клинических образцах, полученных от пациентов, мутации лекарственной устойчивости к ленакапавиру обнаружены не были. В целом результаты анализа свидетельствуют о низкой вероятности предсуществования мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, что согласуется с общемировыми данными [34, 46].

Заключение

В результате проведённого исследования обозначены особенности белка р24 у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории России. Для наиболее широко распространённого в России суб-субтипа А6 определены характеристические замены и обозначены достоверные отличия естественных полиморфизмов от наиболее близкого ему суб-субтипа А1 и наиболее хорошо изученного субтипа В. Полученные данные смогут быть учтены при разработке антиретровирусных препаратов и терапевтических вакцин на основе белка р24 в будущем. Показано, что предсуществование мутаций лекарственной устойчивости к ленакапавиру у всех вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории РФ, маловероятно. Прогноз применения ленакапавира в будущем в России в целом благоприятный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV*. 2017; 4(8): e349–56. [https://doi.org/10.1016/s2352-3018\(17\)30066-8](https://doi.org/10.1016/s2352-3018(17)30066-8)
2. Ryom L., Cotter A., De Miguel R., Béguelin C., Podlekareva D., Arribas J.R., et al. 2019 update of the European AIDS Clinical Society Guidelines for treatment of people living with HIV version 10.0. *HIV Med*. 2020; 21(10): 617–24. <https://doi.org/10.1111/hiv.12878>
3. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/adult-and-adolescent-arv>
4. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых; 2020. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/79_1
5. Cilento M.E., Kirby K.A., Sarafianos S.G. Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase. *Chem. Rev*. 2021; 121(6): 3271–96. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00967>
6. Hemelaar J., Elangovan R., Yun J., Dickson-Tetteh L., Fleminger I., Kirtley S., et al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990–2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *Lancet Infect. Dis*. 2019; 19(2): 143–55. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30647-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30647-9)
7. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/coh.0000000000000534>
8. Shafer R.W., Rhee S.Y., Pillay D., Miller V., Sandstrom P., Schapiro J.M., et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS*. 2007; 21(2): 215–23. <https://doi.org/10.1097/qad.0b013e328011e691>
9. Wainberg M.A., Brenner B.G. The impact of HIV genetic polymorphisms and subtype differences on the occurrence of resistance to antiretroviral drugs. *Mol. Biol. Int*. 2012; 2012: 256982. <https://doi.org/10.1155/2012/256982>
10. Udeze A.O., Olaleye D.O., Odaibo G.N. Polymorphisms and drug resistance analysis of HIV-1 isolates from patients on first line antiretroviral therapy (ART) in South-eastern Nigeria. *PLoS One*. 2020; 15(4): e0231031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231031>
11. Sun Z., Ouyang J., Zhao B., An M., Wang L., Ding H., et al. Natural polymorphisms in HIV-1 CRF01_AE strain and profile of acquired drug resistance mutations in a long-term combination treatment cohort in northeastern China. *BMC Infect. Dis*. 2020; 20(1): 178. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4808-3>
12. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Казеннова Е.В., Лебедев А.В., Бобкова М.Р. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987–2015 гг. *Терапевтический архив*. 2017; (11): 44–9. <https://doi.org/10.17116/terarkh2017891144-49>
13. Lebedev A., Lebedeva N., Moskaleychik F., Pronin A., Kazennova E., Bobkova M. Human immunodeficiency virus-1 diversity in the Moscow region, Russia: Phylodynamics of the most common subtypes. *Front. Microbiol*. 2019; 10: 320. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00320>
14. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses*. 2019; 11(4): 348. <https://doi.org/10.3390/v11040348>
15. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Ryabov G.S., Bobkova M.R., et al. Temporal trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J. Med. Virol*. 2004; 74(2): 191–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20177>
16. Ожмегова Е.Н., Антонова А.А., Лебедев А.В., Мельникова Т.Н., Крылова Т.В., Казачек А.В. и др. Генетический профиль ВИЧ-1 в Вологодской области: доминирование CRF03_AB и быстрое распространение URFs. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020; 12(2): 79–88. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-2-79-88>
17. Kazennova E., Laga V., Lapovok I., Glushchenko N., Neshumaev D., Vasilyev A., et al. HIV-1 genetic variants in the Russian Far East. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(8): 742–52. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0194>
18. Maksimenko L.V., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Astakhova E.M., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., et al. Genetic diversity of HIV-1 in Krasnoyarsk Krai: Area with high levels of HIV-1 recombination in Russia. *Biomed. Res. Int*. 2020; 2020: 9057541. <https://doi.org/10.1155/2020/9057541>
19. Туманов А.С., Казеннова Е.В., Громов К.Б., Ломакина Е.А., Зогула Е.Ю., Берснев П.Г. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в Сахалинской области. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2017; 9(3): 113–20. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2017-9-3-113-120>
20. Gashnikova N.M., Bogachev V.V., Baryshev P.B., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Kazachinskaya A.G., et al. A rapid expansion of HIV-1 CRF63_02A1 among newly diagnosed HIV-infected individuals in the Tomsk Region, Russia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2015; 31(4): 456–60. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0375>
21. Shcherbakova N.S., Shalamova L.A., Delgado E., Fernández-García A., Vega Y., Karpenko L.I., et al. Short communication: Molecular epidemiology, phylogeny, and phylodynamics of CRF63_02A1, a recently originated HIV-1 circulating recombinant form spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(9): 912–9. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0075>
22. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. HIV-1 genetic diversity in Russia: CRF63_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(6): 592–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0196>
23. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Васильев А.В., Бобкова М.Р. Естественные полиморфизмы гена pol варианта ВИЧ 1 IDU А. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2012; 4(4): 44–51.
24. Kirichenko A., Lapovok I., Baryshev P., van de Vijver D.A.M.C., van Kampen J.J.A., Boucher C.A.B., et al. Genetic features of HIV-1 integrase sub-subtype A6 predominant in Russia and predicted susceptibility to INSTIs. *Viruses*. 2020; 12(8): 838. <https://doi.org/10.3390/v12080838>
25. Казеннова Е.В., Васильев А.В., Бобкова М.Р. Прогноз эффективности применения препарата Бевиримат в России. *Вопросы вирусологии*. 2010; 55(3): 37–41.
26. Васильев А.В., Ахмеров К.Р., Саламов Г.Г., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р. Анализ полиморфизма области генома ВИЧ-1, кодирующей белок слияния. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57(4): 9–13.
27. Васильев А.В., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р. Анализ распространенности мутаций лекарственной устойчивости к препаратам – антагонистам корцептора CCR5 среди вариантов ВИЧ-1 в России. *Вопросы вирусологии*. 2011; 56(3): 32–7.
28. Громов К.Б., Киреев Д.Е., Мурзакова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р. Анализ полиморфизма белка Nef вариантов ВИЧ-1 (Human immunodeficiency virus-1, Lentivirus, Orthoretrovirinae, Retroviridae), циркулирующих в странах бывшего СССР. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(6): 281–90. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-6-281-290>
29. Кузнецова А.И., Громов К.Б., Киреев Д.Е., Шлыкова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В. и др. Анализ особенностей белка Tat вируса иммунодефицита человека 1 типа суб-субтипа А6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 452–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-83>
30. Xu H.T., Colby-Germinario S.P., Asachop E.L., Oliveira M., McCallum M., Schader S.M., et al. Effect of mutations at position E138 in HIV-1 reverse transcriptase and their interactions with the M184I mutation on defining patterns of resistance to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors rilpivirine and etravirine. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2013; 57(7): 3100–9. <https://doi.org/10.1128/aac.00348-13>
31. Maldonado J.O., Mansky L.M. The HIV-1 Reverse transcriptase A62V mutation influences replication fidelity and viral fitness in the context of multi-drug-resistant mutations. *Viruses*. 2018; 10(7): 376. <https://doi.org/10.3390/v10070376>
32. Garrido C., Villacian J., Zahonero N., Pattery T., Garcia F., Gutierrez F., et al. Broad phenotypic cross-resistance to elvitegravir in HIV-infected patients failing on raltegravir-containing regimens. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2012; 56(6): 2873–8. <https://doi.org/10.1128/aac.06170-11>
33. McFadden W.M., Snyder A.A., Kirby K.A., Tedbury P.R., Raj M., Wang Z., et al. Rotten to the core: antivirals targeting the HIV-1 capsid core. *Retrovirology*. 2021; 18(1): 41. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00583-z>
34. Troyano-Hernández P., Reinoso R., Holguín Á. HIV capsid protein genetic diversity across HIV-1 variants and impact on new capsid-inhibitor lenacapavir. *Front. Microbiol*. 2022; 13: 854974. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.854974>
35. Gray E.R., Bain R., Varsaneux O., Peeling R.W., Stevens M.M., McKendry R.A. p24 revisited: a landscape review of antigen detection for early HIV diagnosis. *AIDS*. 2018; 32(15): 2089–102. <https://doi.org/10.1097/qad.0000000000001982>
36. Larjani M.S., Sadat S.M., Bolhassani A., Khodaie A., Pouriayevali M.H., Ramezani A. HIV-1 p24-nef DNA vaccine plus protein boost expands T-Cell responses in BALB/c. *Curr. Drug Deliv*. 2021; 18(7): 1014–21. <https://doi.org/10.2174/1567201818666210101113601>
37. Sadat Larjani M., Ramezani A., Mashhadi Abolghasem Shirazi M., Bolhassani A., Pouriayevali M.H., Shahbazi S., et al. Evaluation of transduced dendritic cells expressing HIV-1 p24-Nef antigens in HIV-specific cytotoxic T cells induction as a therapeutic candidate vaccine. *Viruses Res*. 2021; 298: 198403. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198403>
38. Novikova M., Zhang Y., Freed E.O., Peng K. Multiple roles of HIV-1 capsid during the virus replication cycle. *Virol. Sin*. 2019; 34(2): 119–34. <https://doi.org/10.1007/s12250-019-00095-3>

39. Rihn S.J., Wilson S.J., Loman N.J., Alim M., Bakker S.E., Bhella D., et al. Extreme genetic fragility of the HIV-1 capsid. *PLoS Pathog.* 2013; 9(6): e1003461. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003461>
40. Braaten D., Luban J. Cyclophilin A regulates HIV-1 infectivity, as demonstrated by gene targeting in human T cells. *EMBO J.* 2001; 20(6): 1300–9. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.6.1300>
41. Saito A., Yamashita M. HIV-1 capsid variability: viral exploitation and evasion of capsid-binding molecules. *Retrovirology.* 2021; 18(1): 32. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00577-x>
42. Dvory-Sobol H., Shaik N., Callebaut C., Rhee M.S. Lenacapavir: a first-in-class HIV-1 capsid inhibitor. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2022; 17(1): 15–21. <https://doi.org/10.1097/coh.0000000000000713>
43. Gilead. Pipeline Gilead – 2022. Available at: <https://www.gilead.com/science-and-medicine/pipeline>
44. Link J.O., Rhee M.S., Tse W.C., Zheng J., Somoza J.R., Rowe W., et al. Clinical targeting of HIV capsid protein with a long-acting small molecule. *Nature.* 2020; 584(7822): 614–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2443-1>
45. Yant S.R., Mulato A., Hansen D., Thielen A., Schroeder S.D. In vitro resistance profile of GS-6207, a first-in-class picomolar HIV capsid inhibitor in clinical development as a novel long-acting antiretroviral agent. In: *Tenth IAS Conference on HIV Science.* Mexico City; 2019.
46. Marcelin A.G., Charpentier C., Jary A., Perrier M., Margot N., Callebaut C., et al. Frequency of capsid substitutions associated with GS-6207 in vitro resistance in HIV-1 from antiretroviral-naïve and -experienced patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020; 75(6): 1588–90. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa060>
47. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1): 268–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
48. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic. Acids. Res.* 1988; 16(3): 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
49. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COM-ET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic. Acids Res.* 2014; 42(18): e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gku739>
50. Jin H., Sun Y., Li D., Lin M.H., Lor M., Rustanti L., et al. Strong in vivo inhibition of HIV-1 replication by nullbasic, a Tat mutant. *mBio.* 2019; 10(4): e01769–19. <https://doi.org/10.1128/mbio.01769-19>
51. Leoz M., Kukanja P., Luo Z., Huang F., Cary D.C., Peterlin B.M., et al. HEXIM1-Tat chimera inhibits HIV-1 replication. *PLoS Pathog.* 2018; 14(11): e1007402. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007402>
52. Sgadari C., Monini P., Tripiciano A., Picconi O., Casabianca A., Orlandi C., et al. Continued decay of HIV proviral DNA upon vaccination with HIV-1 Tat of subjects on long-term ART: An 8-Year follow-up study. *Front. Immunol.* 2019; 10: 233. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00233>
53. Loret E.P., Darque A., Jouve E., Loret E.A., Nicolino-Brunet C., Morange S., et al. Intradermal injection of a Tat Oyi-based therapeutic HIV vaccine reduces of 1.5 log copies/mL the HIV RNA rebound median and no HIV DNA rebound following cART interruption in a phase I/II randomized controlled clinical trial. *Retrovirology.* 2016; 13: 21. <https://doi.org/10.1186/s12977-016-0251-3>
54. Liitsola K., Holm K., Bobkov A., Pokrovsky V., Smolskaya T., Leinikki P., et al. An AB recombinant and its parental HIV type 1 strains in the area of the former Soviet Union: low requirements for sequence identity in recombination. UNAIDS Virus Isolation Network. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2000; 16(11): 1047–53. <https://doi.org/10.1089/08892220050075309>
55. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. HIV-1 genetic diversity in Russia: CRF63_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2014; 30(6): 592–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0196>
56. Knops E., Däumer M., Awerkiew S., Kartashev V., Schülter E., Kutsev S., et al. Evolution of protease inhibitor resistance in the gag and pol genes of HIV subtype G isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65(7): 1472–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq129>
57. Selyutina A., Persaud M., Simons L.M., Bulnes-Ramos A., Buffone C., Martinez-Lopez A., et al. Cyclophilin A prevents HIV-1 restriction in lymphocytes by blocking human TRIM5 α binding to the viral core. *Cell Rep.* 2020; 30(11): 3766–77.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.100>
2. Ryom L., Cotter A., De Miguel R., Béguelin C., Podlekareva D., Arribas J.R., et al. 2019 update of the European AIDS Clinical Society Guidelines for treatment of people living with HIV version 10.0. *HIV Med.* 2020; 21(10): 617–24. <https://doi.org/10.1111/hiv.12878>
3. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/adult-and-adolescent-arv>
4. Ministry of Health of the Russian Federation. Clinical recommendations. HIV infection in adults; 2020. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/79_1 (in Russian)
5. Cileto M.E., Kirby K.A., Sarafianos S.G. Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase. *Chem. Rev.* 2021; 121(6): 3271–96. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00967>
6. Hemelaar J., Elangovan R., Yun J., Dickson-Tetteh L., Fleminger I., Kirtley S., et al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990–2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(2): 143–55. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30647-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30647-9)
7. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/coh.0000000000000534>
8. Shafer R.W., Rhee S.Y., Pillay D., Miller V., Sandstrom P., Schapiro J.M., et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS.* 2007; 21(2): 215–23. <https://doi.org/10.1097/qad.0b013e328011e691>
9. Wainberg M.A., Brenner B.G. The impact of HIV genetic polymorphisms and subtype differences on the occurrence of resistance to antiretroviral drugs. *Mol. Biol. Int.* 2012; 2012: 256982. <https://doi.org/10.1155/2012/256982>
10. Udeze A.O., Olaleye D.O., Odaibo G.N. Polymorphisms and drug resistance analysis of HIV-1 isolates from patients on first line antiretroviral therapy (ART) in South-eastern Nigeria. *PLoS One.* 2020; 15(4): e0231031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231031>
11. Sun Z., Ouyang J., Zhao B., An M., Wang L., Ding H., et al. Natural polymorphisms in HIV-1 CRF01_AE strain and profile of acquired drug resistance mutations in a long-term combination treatment cohort in northeastern China. *BMC Infect. Dis.* 2020; 20(1): 178. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4808-3>
12. Lapovok I.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kazennova E.V., Lebedev A.V., Bobkova M.R., et al. Molecular epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in Russia in 1987–2015. *Terapevticheskiiy arkhiv.* 2017; (11): 44–9. <https://doi.org/10.17116/terarkh2017891144-49> (in Russian)
13. Lebedev A., Lebedeva N., Moskaleychik F., Pronin A., Kazennova E., Bobkova M. Human immunodeficiency virus-1 diversity in the Moscow region, Russia: Phylogenetics of the most common subtypes. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 320. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00320>
14. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses.* 2019; 11(4): 348. <https://doi.org/10.3390/v11040348>
15. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Ryabov G.S., Bobkova M.R., et al. Temporal trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J. Med. Virol.* 2004; 74(2): 191–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20177>
16. Ozhmegova E.N., Antonova A.A., Lebedev A.V., Mel'nikova T.N., Krylova T.V., Kazachek A.V., et al. Genetic profile of HIV-1 in the Volgoda region: domination of CRF03_AB and rapid distribution of URF5. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2020; 12(2): 79–88. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-2-79-88> (in Russian)
17. Kazennova E., Laga V., Lapovok I., Glushchenko N., Neshumayev D., Vasilyev A., et al. HIV-1 genetic variants in the Russian Far East. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2014; 30(8): 742–52. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0194>
18. Maksimenko L.V., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Astakhova E.M., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., et al. Genetic diversity of HIV-1 in Krasnoyarsk Krai: Area with high levels of HIV-1 recombination in Russia. *Biomed. Res. Int.* 2020; 2020: 9057541. <https://doi.org/10.1155/2020/9057541>
19. Tumanov A.S., Kazennova E.V., Gromov K.B., Lomakina E.A., Zozulya E.Yu., Bersenev P.G., et al. The molecular epidemiological analysis of HIV infection in Sakhalin region, Russia. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2017; 9(3): 113–20. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2017-9-3-113-120> (in Russian)
20. Gashnikova N.M., Bogachev V.V., Baryshev P.B., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Kazachinskaya A.G., et al. A rapid expansion of HIV-1 CRF63_02A1 among newly diagnosed HIV-infected individuals in the Tomsk Region, Russia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2015; 31(4): 456–60. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0375>
21. Shcherbakova N.S., Shalamova L.A., Delgado E., Fernández-García A., Vega Y., Karpenko L.I., et al. Short communica-

REFERENCES

1. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV.* 2017; 4(8): e349–56. [https://doi.org/10.1016/s2352-3018\(17\)30066-8](https://doi.org/10.1016/s2352-3018(17)30066-8)

- tion: Molecular epidemiology, phylogeny, and phylodynamics of CRF63_02A1, a recently originated HIV-1 circulating recombinant form spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(9): 912–9. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0075>
22. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. HIV-1 genetic diversity in Russia: CRF63_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(6): 592–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0196>
23. Kazennova E.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Vasil'ev A.V., Bobkova M.R. Natural polymorphisms of HIV-1 IDU-A variant pol gene. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2012; 4(4): 44–51. (in Russian)
24. Kirichenko A., Lapovok I., Baryshev P., van de Vijver D.A.M.C., van Kampen J.J.A., Boucher C.A.B., et al. Genetic features of HIV-1 integrase sub-subtype A6 predominant in Russia and predicted susceptibility to INSTIs. *Viruses*. 2020; 12(8): 838. <https://doi.org/10.3390/v12080838>
25. Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Bobkova M.R. The forecast of the effectiveness of the drug Bevirimat in Russia. *Voprosy virusologii*. 2010; 55(3): 37–41. (in Russian)
26. Vasil'ev A.V., Akhmerov K.R., Salamov G.G., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Analysis of the polymorphism of the genome region of HIV-1 encoding the fusion protein. *Voprosy virusologii*. 2012; 57(4): 9–13. (in Russian)
27. Vasil'ev A.V., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Analysis of the prevalence of drug resistance mutations to drugs belonging to the class of CCR5 co-receptor antagonists among HIV-1 variants in Russia. *Voprosy virusologii*. 2011; (3): 32–7. (in Russian)
28. Gromov K.B., Kireev D.E., Murzakova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Analysis of HIV-1 (human immunodeficiency VIRUS-1, lentivirus, orthoretrovirinae, retroviridae) NEF protein polymorphism of variants circulating in the former USSR countries. *Voprosy virusologii*. 2019; 64(6): 281–90. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-6-281-290> (in Russian)
29. Kuznetsova A.I., Gromov K.B., Kireev D.E., Shlykova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., et al. Analysis of tat protein characteristics in human immunodeficiency virus type 1 SUB-SUBTYPE A6 (retroviridae: orthoretrovirinae: lentivirus: human immunodeficiency VIRUS-1). *Voprosy virusologii*. 2021; 66(6): 452–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-83> (in Russian)
30. Xu H.T., Colby-Germinario S.P., Asahchop E.L., Oliveira M., McCallum M., Schader S.M., et al. Effect of mutations at position E138 in HIV-1 reverse transcriptase and their interactions with the M184I mutation on defining patterns of resistance to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors rilpivirine and etravirine. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2013; 57(7): 3100–9. <https://doi.org/10.1128/aac.00348-13>
31. Maldonado J.O., Manky L.M. The HIV-1 Reverse transcriptase A62V mutation influences replication fidelity and viral fitness in the context of multi-drug-resistant mutations. *Viruses*. 2018; 10(7): 376. <https://doi.org/10.3390/v10070376>
32. Garrido C., Villacian J., Zahonero N., Pattery T., Garcia F., Gutierrez F., et al. Broad phenotypic cross-resistance to elvitegravir in HIV-infected patients failing on raltegravir-containing regimens. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2012; 56(6): 2873–8. <https://doi.org/10.1128/aac.06170-11>
33. McFadden W.M., Snyder A.A., Kirby K.A., Tedbury P.R., Raj M., Wang Z., et al. Rotten to the core: antivirals targeting the HIV-1 capsid core. *Retrovirology*. 2021; 18(1): 41. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00583-z>
34. Troyano-Hernández P., Reinoso R., Holguín Á. HIV capsid protein genetic diversity across HIV-1 variants and impact on new capsid-inhibitor lenacapavir. *Front. Microbiol*. 2022; 13: 854974. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.854974>
35. Gray E.R., Bain R., Varsaneux O., Peeling R.W., Stevens M.M., McKendry R.A. p24 revisited: a landscape review of antigen detection for early HIV diagnosis. *AIDS*. 2018; 32(15): 2089–102. <https://doi.org/10.1097/qad.0000000000001982>
36. Larijani M.S., Sadat S.M., Bolhassani A., Khodaie A., Pouriayevali M.H., Ramezani A. HIV-1 p24-nef DNA vaccine plus protein boost expands T-Cell responses in BALB/c. *Curr. Drug Deliv*. 2021; 18(7): 1014–21. <https://doi.org/10.2174/1567201818666210101113601>
37. Sadat Larijani M., Ramezani A., Mashhadi Abolghasem Shirazi M., Bolhassani A., Pouriayevali M.H., Shahbazi S., et al. Evaluation of transduced dendritic cells expressing HIV-1 p24-Nef antigens in HIV-specific cytotoxic T cells induction as a therapeutic candidate vaccine. *Viruses*. 2021; 298: 198403. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198403>
38. Novikova M., Zhang Y., Freed E.O., Peng K. Multiple roles of HIV-1 capsid during the virus replication cycle. *Viral. Sin*. 2019; 34(2): 119–34. <https://doi.org/10.1007/s12250-019-00095-3>
39. Rihn S.J., Wilson S.J., Loman N.J., Alim M., Bakker S.E., Bhella D., et al. Extreme genetic fragility of the HIV-1 capsid. *PLoS Pathog*. 2013; 9(6): e1003461. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003461>
40. Braaten D., Luban J. Cyclophilin A regulates HIV-1 infectivity, as demonstrated by gene targeting in human T cells. *EMBO J*. 2001; 20(6): 1300–9. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.6.1300>
41. Saito A., Yamashita M. HIV-1 capsid variability: viral exploitation and evasion of capsid-binding molecules. *Retrovirology*. 2021; 18(1): 32. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00577-x>
42. Dvory-Sobol H., Shaik N., Callebaut C., Rhee M.S. Lenacapavir: a first-in-class HIV-1 capsid inhibitor. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2022; 17(1): 15–21. <https://doi.org/10.1097/coh.0000000000000713>
43. Gilead. Pipeline Gilead – 2022. Available at: <https://www.gilead.com/science-and-medicine/pipeline>
44. Link J.O., Rhee M.S., Tse W.C., Zheng J., Somoza J.R., Rowe W., et al. Clinical targeting of HIV capsid protein with a long-acting small molecule. *Nature*. 2020; 584(7822): 614–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2443-1>
45. Yant S.R., Mulato A., Hansen D., Thielen A., Schroeder S.D. In vitro resistance profile of GS-6207, a first-in-class picomolar HIV capsid inhibitor in clinical development as a novel long-acting antiretroviral agent. In: *Tenth IAS Conference on HIV Science*. Mexico City; 2019.
46. Marcelin A.G., Charpentier C., Jary A., Perrier M., Margot N., Callebaut C., et al. Frequency of capsid substitutions associated with GS-6207 in vitro resistance in HIV-1 from antiretroviral-naïve and -experienced patients. *J. Antimicrob. Chemother*. 2020; 75(6): 1588–90. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa060>
47. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol*. 2015; 32(1): 268–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
48. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic. Acids. Res*. 1988; 16(3): 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
49. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic. Acids Res*. 2014; 42(18): e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gku739>
50. Jin H., Sun Y., Li D., Lin M.H., Lor M., Rustanti L., et al. Strong in vivo inhibition of HIV-1 replication by nullbasic, a Tat mutant. *mbio*. 2019; 10(4): e01769–19. <https://doi.org/10.1128/mbio.01769-19>
51. Leoz M., Kukanja P., Luo Z., Huang F., Cary D.C., Peterlin B.M., et al. HEXIM1-Tat chimera inhibits HIV-1 replication. *PLoS Pathog*. 2018; 14(11): e1007402. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007402>
52. Sgadari C., Monini P., Tripiciano A., Picconi O., Casabianca A., Orlandi C., et al. Continued decay of HIV proviral DNA upon vaccination with HIV-1 Tat of subjects on long-term ART: An 8-Year follow-up study. *Front. Immunol*. 2019; 10: 233. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00233>
53. Loret E.P., Darque A., Jouve E., Loret E.A., Nicolino-Brunet C., Morange S., et al. Intradermal injection of a Tat Oyi-based therapeutic HIV vaccine reduces of 1.5 log copies/mL the HIV RNA rebound median and no HIV DNA rebound following cART interruption in a phase I/II randomized controlled clinical trial. *Retrovirology*. 2016; 13: 21. <https://doi.org/10.1186/s12977-016-0251-3>
54. Liitsola K., Holm K., Bobkov A., Pokrovsky V., Smolskaya T., Leinikki P., et al. An AB recombinant and its parental HIV type 1 strains in the area of the former Soviet Union: low requirements for sequence identity in recombination. UNAIDS Virus Isolation Network. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2000; 16(11): 1047–53. <https://doi.org/10.1089/08892220050075309>
55. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. HIV-1 genetic diversity in Russia: CRF63_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(6): 592–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0196>
56. Knops E., Däumer M., Awerkiw S., Kartashev V., Schülter E., Kutsev S., et al. Evolution of protease inhibitor resistance in the gag and pol genes of HIV subtype G isolates. *J. Antimicrob. Chemother*. 2010; 65(7): 1472–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq129>
57. Selyutina A., Persaud M., Simons L.M., Bulnes-Ramos A., Buffone C., Martinez-Lopez A., et al. Cyclophilin A prevents HIV-1 restriction in lymphocytes by blocking human TRIM5a binding to the viral core. *Cell Rep*. 2020; 30(11): 3766–77.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.100>