

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ORIGINAL RESEARCH

УДК 616.981.21/.958.7:578.32

<http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2024-16-2-40-50>

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ БЕЛКА VPU ВИЧ-1 СУБ-СУБТИПА А6 У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

¹А. А. Антонова, ¹А. В. Лебедев, ¹Е. В. Казеннова, ¹К. В. Ким, ¹Е. Н. Ожмегова, ¹А. С. Туманов, ¹Я. М. Мунчак,
²Е. А. Орлова-Морозова, ²А. Ю. Пронин, ¹А. Г. Прилипов, ¹А. И. Кузнецова*

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия

²Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Москва, Россия

Цель: провести сравнение генетического разнообразия белка Vpu ВИЧ-1 суб-субтипа А6 у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), с разными стадиями заболевания.

Материалы и методы. Проведен анализ 259 клинических образцов цельной крови ВИЧ-инфицированных пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии, которые наблюдались в ГКУЗ Московской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями». Анализ включал в себя следующие этапы: экстракцию провирусной ДНК, амплификацию области генома вируса, содержащей ген *vpu*, секвенирование продуктов амплификации, генотипирование, сравнение консервативности и аминокислотных замен в последовательностях белка Vpu у ЛЖВ с различными стадиями заболевания.

Результаты и их обсуждение. В 255 из 259 (98,4%) клинических образцах был идентифицирован вариант вируса суб-субтипа А6. Получена консенсусная последовательность белка Vpu суб-субтипа А6, которая содержала 81 аминокислоту. Достоверных различий в консервативности последовательностей белка Vpu у вариантов ВИЧ-1, полученных от пациентов с различной стадией заболевания, обнаружено не было. Аминокислотная замена РЗА достоверно чаще встречалась у ЛЖВ со второй стадией ВИЧ-инфекции.

Заключение. Полученные результаты актуализируют вопрос влияния неструктурных белков ВИЧ-1 на течение заболевания и задают направления возможных исследований в будущем.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок Vpu, суб-субтип А6, аминокислотные замены, консервативность

* Контакт: Кузнецова Анна Игоревна, a-myznikova@list.ru

VARIABILITY OF VPU PROTEIN IN HIV-1 SUB-SUBTYPE A6 IN PATIENTS WITH DIFFERENT STAGES OF HIV INFECTION

¹A. A. Antonova, ¹A. V. Lebedev, ¹E. V. Kazennova, ¹K. V. Kim, ¹E. N. Ozhmegova, ¹A. S. Tumanov, ¹Ya. M. Munchak,
²E. A. Orlova-Morozova, ²A. Yu. Pronin, ¹A. G. Prilipov, ¹A. I. Kuznetsova*

¹N. F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

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

The aim of the study: to compare the genetic diversity of the Vpu protein in HIV-1 in the people living with HIV (PLWH) with different stages of the disease.

Materials and methods. An analysis was carried out of 259 clinical samples of whole blood from HIV-infected patients with no experience of taking antiretroviral therapy, who were observed at the Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Moscow, Russia. The analysis included the following stages: extraction of proviral DNA, amplification of the region of the virus genome containing the *vpu* gene, sequencing of amplification products, genotyping, comparison of conservation and amino acid substitutions in the Vpu protein sequences in PLWH with different stages of the disease.

Results and discussion. In 255 out of 259 (98.4%) clinical samples, a sub-subtype A6 virus variant was identified. The consensus sequence of the Vpu sub-subtype A6 protein was obtained, which contained 81 amino acids. No significant differences in the conservation of Vpu protein sequences were found between HIV-1 variants obtained from patients with different stages of the disease. Amino acid substitution P3A was significantly more common in PLWH with the second stage of HIV infection.

Conclusion. The results obtained highlight the issue of the influence of non-structural proteins of HIV-1 on the course of the disease and indicate directions for possible research in the future.

Keywords: HIV-1, Vpu protein, sub-subtype A6, amino acid substitutions, conservation

* Contact: *Kuznetsova Anna Igorevna, a-myznikova@list.ru*

© Антонова А.А. и соавт., 2024 г.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Антонова А.А., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В., Ожмегова Е.Н., Туманов А.С., Мунчак Я.М., Орлова-Морозова Е.А., Пронин А.Ю., Прилипов А.Г., Кузнецова А.И. Вариабельность белка VPU ВИЧ-1 суб-субтипа А6 у пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2024. Т. 16, № 2. С. 40–50, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2024-16-2-40-50>.

Conflict of interest: the authors stated that there is no potential conflict of interest.

For citation: Antonova A.A., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., Ozhmegova E.N., Tumanov A.S., Munchak Ya.M., Orlova-Morozova E.A., Pronin A.Yu., Prilipov A.G., Kuznetsova A.I. Variability of VPU protein in HIV-1 sub-subtype A6 in patients with different stages of HIV infection // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2024. Vol. 16, No. 2. P. 40–50, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2024-16-2-40-50>.

Введение. Различная скорость прогрессирования заболевания у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией (ЛЖВ), является одним из актуальных вопросов в изучении данного заболевания. Исследуются как генетические, так и вирусологические детерминанты, которые могут оказывать влияние на течение ВИЧ-инфекции [1–3]. Неструктурные белки ВИЧ-1 (Tat, Rev, Vpr, Vif, Vpr, Nef) участвуют в репликации вируса и в защите вируса от действия иммунной системы хозяина. Особенности строения этих белков могут влиять как на течение ВИЧ-инфекции, так и на развитие коморбидных заболеваний у ЛЖВ [4]. В зависимости от генетического варианта ВИЧ-1 и стадии заболевания в строении неструктурных белков могут присутствовать различия. Проведенные исследования белков Tat и Nef наиболее распространенного в России суб-субтипа А6 ВИЧ-1 определили характерные особенности, которые могут влиять на их функциональность [5–7]. При изучении гена *nef* было отмечено, что на продвинутых стадиях ВИЧ-инфекции в ядрах клеток наблюдается феномен сплайсинга, который отсутствует на ранних стадиях заболевания. Возможно, это может способствовать переходу бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции в манифестирующую [8]. Кроме того, анализ белка Tat у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа

А6, полученных от пациентов с различными стадиями заболевания, определил наличие достоверной разницы в частоте встречаемости функционально значимой аминокислотной замены, которая ассоциируется со сниженной провоспалительной функцией и, как следствие, сниженной нейротоксичностью белка Tat [9].

Белок Vpu представляет собой многофункциональный вирусный белок, который содержит от 77 до 86 аминокислот (АК); наиболее хорошо известен вариант, содержащий 81 АК. Vpu регулирует экспрессию и транспорт некоторых белков клетки-хозяина: подавляет экспрессию рестрикционного клеточного фактора — тетерина, который препятствует высвобождению вирионов с поверхности инфицированных клеток, ограничивает образование новых молекул CD4, которые связываются с предшественником белков оболочки вируса и блокируют дальнейшее формирование соответствующих белков, изменяет презентацию МНС II и противодействует многим другим клеточным белкам. Также Vpu формирует ион-селективные каналы в клеточной мембране, что приводит к её деполяризации и высвобождению готовых вирусных частиц [10, 11].

На сегодняшний день существует мало исследований по изучению связи строения и функциональных свойств Vpu с генетическими вариантами

ВИЧ-1 и с клинико-лабораторными данными пациентов. Анализ вариантов Vpr1, полученных от элитных контроллеров, показал снижение некоторых функциональных свойств по сравнению с вариантами Vpr1, полученными от пациентов с классическим течением ВИЧ-инфекции [12]. Изучение генетической вариабельности Vpr1 субтипа С в группах детей раннего возраста (от 6 недель до 18 месяцев), рожденных от ВИЧ-положительных матерей, показало, что гетерогенность белка уменьшалась с возрастом пациентов [13]. Последовательности Vpr1 субтипа В, полученные от пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции, продемонстрировали значительные различия в аминокислотных последовательностях, что может приводить также к различиям в функциональных свойствах белка. Также была отмечена тенденция к большей однородности у вариантов белка, полученных от пациентов на более продвинутых стадиях ВИЧ-инфекции [14]. Исследования функциональных свойств белка Vpr1 у вариантов вируса субтипа А определило наличие у них классического набора функций, при этом различные варианты вызывали различную степень ингибирования HLA-C: от отсутствия эффекта до подавления экспрессии поверхностного HLA-C на 88% [15]. Однако исследование разнообразия последовательностей Vpr1 суб-субтипа А6, наиболее широко распространенного в России, до настоящего времени не проводилось.

Цель: провести сравнение генетического разнообразия белка Vpr1 ВИЧ-1 суб-субтипа А6 у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), с разными стадиями заболевания.

Материалы и методы. Материалом настоящего исследования служили клинические образцы цельной крови, полученные от 259 наивных (без опыта приема АРТ) ВИЧ-инфицированных пациентов ГКУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД». Забор крови осуществляли единоразово, в период с августа 2019 г. по июль 2020 г. в рамках реализации проекта CARE (<https://www.careresearch.eu/>, доступ на 16 февраля 2024 г.). Весь полученный клинический материал использовали с информированного согласия пациентов 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). Выявление факторов риска инфицирования проводили путем опроса в процессе сбора анамнеза. Также регистрировали следующую дополнительную информацию: пол и возраст пациента, дату забора клинического образца, стадию заболевания, показатели вирусной нагрузки (ВН) и иммунный статус пациента (количество CD4⁺-клеток). В табл. 1 представлены основные демографические и клинико-эпидемиологические показатели пациентов, включенных в исследование, в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции, согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ¹.

Экстракцию провирусной ДНК в составе геномной ДНК из клеток крови (лимфоцитов) осуществляли методом высаливания [16]. На следующем этапе проводили амплификацию гена *vpr1* «гнездовой (Nested)» двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием продуктов амплификации. Последовательности использованных в работе праймеров и условия амплификации:

1-й раунд: праймеры TatRevF1 (CAGAATTGGGGTGCCAACATAGCAG) и Vpr1o (GCCCAGACATGTGTACTTCTTTATC); программа: 1) 95°С — 5 мин; 2) 35 циклов: 95°С — 30 с, 57°С — 1 мин, 72°С — 1 мин 20 с; 3) 72°С — 7 мин; 4) 4°С — ∞ (хранение);

2-й раунд: праймеры TatRevf2_v1 (GTGCCAACATAGCAGAATAGGC) и Vpr2o (GCATCTCTCSACACAGGTAC); программа: 1) 95°С — 5 мин; 2) 35 циклов: 95°С — 30 с, 53°С — 1 мин, 72°С — 1 мин 20 с; 3) 72°С — 7 мин; 4) 4°С — ∞ (хранение).

Общая длина амплифицированного фрагмента составила 658 нуклеотидных оснований. Очистку амплифицированных ДНК-фрагментов проводили с использованием коммерческого набора для очистки ПЦР-фрагментов — Clean S-Cap («Евроген», Россия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли дидезокси-методом по Сэнгеру с использованием набора BigDye Terminator v3.1

¹ Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых; 2020. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/79_1 [Интернет]. Дата обращения: 04.04.2024 [Ministry of Health of the Russian Federation. Clinical recommendations. HIV infection in adults; 2020. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/79_1 [Internet]. Accessed: 04.04.2024 (In Russ.)].

Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) и праймеров TatRevf2_v1 и Vpu2o согласно протоколу фирмы-производителя. Проведение оценки реакции секвенирования осуществлялось автоматически в генетическом анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США).

ных Лос-Аламосской лаборатории, США (<https://www.hiv.lanl>). Модель замещения нуклеотидов определяли при помощи программы jModelTest v.2.1.7 на основании информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) [21]. Достоверность выведенных филогении оценивали с помощью бутстрэп-теста (bootstrap) и кри-

Таблица 1
Характеристика включенных в исследование ВИЧ-инфицированных пациентов, классифицированных по стадии ВИЧ-инфекции

Table 1

Characteristics of HIV-infected patients included in the study, classified by stage of HIV infection

Характеристики	2 стадия/стадия начальных проявлений, п	3 стадия/субклиническая стадия, п	4 стадия/стадия вторичных проявлений, п
Всего пациентов	49	102	108
Пол:			
Мужчины	29	53	80
Женщины	20	49	28
Возраст (медиана лет, диапазон)	37,66 [32,1–46,02]	37,85 [32,94–44,95]	39,78 [35,53–46,59]
Путь инфицирования:			
Гетеро	30	72	68
ПИН	6	19	35
МСМ	13	8	4
Неизвестно	0	3	1
CD4, кл/мкл	619,49 (108–2022)	431,16 (65–1658)	242,86 (8–1062)
Вирусная нагрузка Ig РНК (копий/мл)	5,0 (3,1–6,8)	4,6 (3,3–6,2)	5,1 (3,5–6,4)

Сборку и редактирование полученных нуклеотидных последовательностей выполняли с использованием приложения SeqMan II 6.1 (DNA-STAR Inc, США). Попарное и множественное выравнивание было выполнено с помощью модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет AliView [17].

Вначале проводили генотипирование полученных последовательностей. Определение генетических вариантов ВИЧ-1 проводили с применением специализированных программ: COMET HIV-1 (<https://comet.lnh.lu/>) — использует контекстно-ориентированное моделирование для быстрого типирования вирусов ВИЧ-1 [18]; jPHMM — определяет рекомбинантные формы вируса, используя скрытую марковскую модель [19]; RIP 3.0 (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP>) — служит для идентификации рекомбинантных форм вируса; размер окна при анализе составил 50 н.о., что позволило детектировать рекомбинацию в последовательностях короткой длины. Для уточнения полученных результатов был проведен филогенетический анализ. Филогенетический анализ осуществляли методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [20]. Источником эталонных последовательностей служила база дан-

терия приближенного отношения правдоподобия Шимодаиры–Хасегавы (SH-aLRT) с 1000 послестартовых итерации. Кластеры с поддержкой SH-aLRT > 0,9 считались достоверно установленными. Визуализацию и графическую обработку результатов филогенетического анализа осуществляли в программе iTOL [22].

В дальнейший анализ были включены только последовательности ВИЧ-1, принадлежащие субтипу А6. Так как в исследовании оценивали генетическое разнообразие в пределах одного генетического варианта (суб-субтипа А6), в качестве референс-последовательности использовали общую консенсусную последовательность Vpu суб-субтипа А6, сформированную на основе всех последовательностей Vpu суб-субтипа А6, полученных в процессе исследования, с использованием программы (Simple Consensus Maker (lanl.gov)), а не референсную последовательность — НХВ2 (K03455). При формировании консенсусной последовательности использовали последовательности аминокислот.

Затем оценивали консервативность последовательностей белка Vpu у пациентов с различными стадиями заболевания. При этом последовательности Vpu суб-субтипа А6 были сгруппированы

в соответствии со стадией ВИЧ-инфекции пациента, от которого они были получены. Для каждой группы дополнительно формировали консенсусные последовательности. Оценивали уровень консервативности аминокислот в каждой позиции в каждой группе, между группами и по отношению с общим консенсусом. Для каждой позиции аминокислоты проводилось оценка консервативности по следующей шкале: 100%, 90–99%, 76–89%, 51–75%, $\leq 50\%$. Затем с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) оценивали статистически значимые различия в консервативности последовательностей белка *Vpr* у пациентов с различными стадиями заболевания (точный двусторонний тест Фишера, $p < 0,05$).

Далее сравнивали генетическое разнообразие белка *Vpr* у ЛЖВ с различными стадиями заболевания. Для этого с применением программы MEGA v.10.2.2. в каждой группе пациентов выявляли аминокислотные замены относительно общей консенсусной последовательностей белка *Vpr* суб-субтипа А6. После этого с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) выявляли сайты со статистически достоверными различиями в частоте встречаемости у пациентов с различными стадиями заболевания ($p < 0,05$ при использовании критерия χ^2).

На завершающем этапе проводили описательную статистику демографических и клинических характеристик ВИЧ-инфицированных пациентов, включенных в исследование. Непрерывные и категориальные переменные представлены в виде медиан и межквартильных интервалов (МКИ), а также абсолютных величин и процентов (%) соответственно. Исходные характеристики анализировали с использованием U-критерия Манна–Уитни (некатегоричные переменные) и хи-квадрата Пирсона (χ^2) или точного критерия Фишера (категориальные переменные). При анализе факторов, влияющих на вероятность обнаружения тех или иных мутаций, в зависимости от клинических и лабораторных характеристик пациентов, была использована модель многомерной логистической регрессии, результаты которой представлены как отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ). Для всех тестов $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA v.10.0 (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение. Все полученные в исследовании последовательности гена *vpr* ВИЧ-1 (259) были депонированы в GenBank со следующими номерами: PP776176–PP776434. При проведении генотипирования в программах COMET HIV-1 [18] и jпНММ [19] два образца, полученные от ЛЖВ со 2-й стадией заболевания, 1311000528 и 1311000615, были определены как URF и исключены из филогенетического анализа. По результатам филогенетического анализа одна (0,4%, 1/257) нуклеотидная последовательность (1311000470), полученная от ЛЖВ со 2-й стадией, вошла в кластер субтипа В и одна (0,4%, 1/257) нуклеотидная последовательность (1311000445), полученная от ЛЖВ со 2-й стадией, вошла в кластер субтипа G. Остальные 255 образцов (98,4%, 255/259) образовали достоверный кластер с нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 суб-субтипа А6, наиболее широко распространенного на территории России и, в частности, в Московской области (рис. 1) [7, 23].

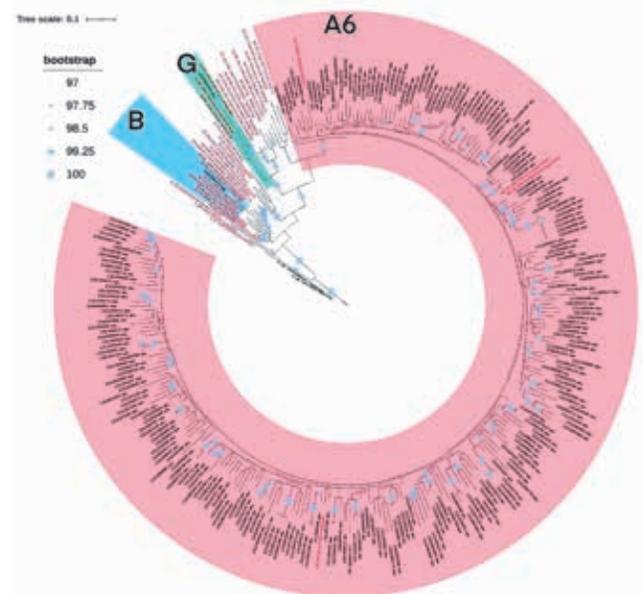


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *vpr* ВИЧ-1 ($n=296$, модель замещения нуклеотидов — GTR+I+G4). Референсные последовательности выделены красным цветом, исследуемые — черным

Fig. 1. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the HIV-1 *vpr* gene ($n=296$, nucleotide substitution model — GTR+I+G4). Reference sequences are highlighted in red, study sequences are highlighted in black

В дальнейшее исследование вошли только последовательности *vpr* суб-субтипа А6 (всего — 255 нуклеотидных последовательностей от 255 пациентов с различной стадией ВИЧ-инфекции): 45 — со 2-й стадией (стадией начальных проявле-

ний), 102 — с 3-й (субклинической стадией) и 108 — с 4-й стадией (стадией вторичных проявлений) заболевания.

Общая консенсусная последовательность для фрагмента белка Vpu была сформирована на основе 255 последовательностей. Полученная консенсусная последовательность содержала 81 АК. При формировании консенсусной последовательности инсерции аминокислотные вставки не учитывались. Восемнадцать из 255 исследуемых аминокислотных последовательностей, полученные от пациентов с разными стадиями заболевания, содержали различные инсерции:

2-я стадия: 1) 1311000431 — 72insL; 2) 1311000435 — 72insL, 70insV, 72ins3 (QAL); 3) 1311000740 — 72insLN; 4) 1311001049 — 5ins3 (XYT);

3-я стадия: 1) 1311000013 — 2insS; 2) 1311000298 — 72insLN; 3) 1311000510 — 70insV, 72ins3 (QAH); 4) 1311000737 — 72ins3 (NDL); 5) 1311000780 — 72insQN, 78insD; 6) 1311000997 — 72ins3 (HXL); 7) 311001132 — 72ins3 (XAL);

4-я стадия: 1) 1311000011 — 64insS; 2) 1311000430 — 72insL; 3) 1311000487 — 70ins5 (GNLEG); 4) 1311000513 — 70ins3 (GNL); 5) 1311000577 — 72insG; 6) 1311000767 — 5ins3 (GWT); 7) 1311001071 — 5ins3 (SLT).

Кроме того, две аминокислотные последовательности, полученные от пациентов со 2-й стадией ВИЧ-инфекции, содержали делеции, точечные мутации, связанные с отсутствием АК в заданной позиции. Выявленные делеции (номер образца — позиция в АК последовательности): 1311000412 — в 6 положении, 1311000543 — в 80 положении. Три последовательности от пациентов с 3-й стадией заболевания содержали делеции: 1311000069 — в 78 положении, 1311000563 — в 8 положении, 1311001025 — в 78 положении. Две последовательности от пациентов с 4-й стадией заболевания содержали делеции: 1311000856 — в 6 позиции, 1311000916 — в 78 позиции.

Одна АК последовательность (1311000656), полученная от пациента с 4-й стадией заболевания, содержала стоп-кодон в 69 позиции. Известно, что в структуре других неструктурных белков, Rev и Tat, могут присутствовать преждевременные стоп-кодона, которые незначительно изменяют функциональные свойства [24, 25]. Однако на настоящий момент данных о том, может ли белок Vpu содержать преждевременные стоп-

кодона, нет, поэтому в рамках этого исследования невозможно было точно определить, является ли наличие стоп-кодона особенностью соответствующего варианта вируса или результатом действия клеточных белков, таких как APOBEG3G [26]. В связи с этим последовательность не была исключена из исследования.

При сравнении консервативности белка Vpu у пациентов с различными стадиями заболевания было показано, что консенсусные последовательности в каждой группе содержали преимущественно аминокислоты аналогичные аминокислотам в общей консенсусной последовательности, однако с различной частотой выявления (рис. 2). При этом оценка распределения позиций с различной степенью консервативности в белке Vpu в различных группах ЛЖВ не выявила статистически значимых различий (табл. 2).

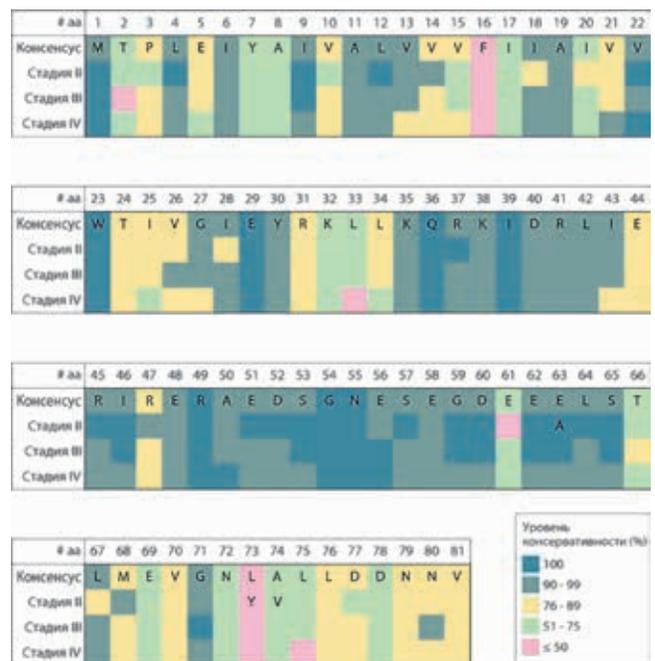


Рис. 2. Консервативность аминокислотных последовательностей белка Vpu суб-субтипа A6 в группах пациентов с различными стадиями заболевания. Аминокислоты в общем консенсусе обозначены однобуквенным кодом: А — аланин; С — цистеин; D — аспарагиновая кислота; E — глутаминовая кислота; F — фенилаланин; G — глицин; H — гистидин; I — изолейцин; K — лизин; L — лейцин; M — метионин; N — аспарагин; P — пролин; Q — глутамин; R — аргинин; S — серин; T — треонин; V — валин; W — триптофан; Y — тирозин

Fig. 2. Conservatism of amino acid sequences of the Vpu sub-subtype A6 protein in groups of patients with different stages of the disease. Amino acids are designated by a general consensus with a one-letter code: A — alanine; C — cysteine; D — aspartic acid; E — glutamic acid; F — phenylalanine; G — glycine; H — histidine; I — isoleucine; K — lysine; L — leucine; M — methionine; N — asparagine; P — proline; Q — glutamine; R — arginine; S — serine; T — threonine; V — valine; W — tryptophan; Y — tyrosine

При сравнении генетического разнообразия Vpu у ЛЖВ с разными стадиями ВИЧ-инфекции выявлено 16 замен со статистически значимыми различиями (табл. 3).

заболевания. Функциональная значимость этой замены в настоящее время неизвестна. Следует отметить, что разница в частоте встречаемости аминокислотных замен в третьем положении

Таблица 2

Распределение консервативности позиций в белке Vpu в группах пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции (%)*

Table 2

Distribution of conserved positions in the Vpu protein in groups of patients with different stages of HIV infection (%)*

Консервативность	Число сайтов, абс. ч.			p-значение*		
	II стадия	III стадия	IV стадия	II vs III	III vs IV	II vs IV
100	25	18	11	0,2857	0,2184	0,0133
90–99	20	29	32	0,1709	0,5182	0,0419
76–89	17	18	19	1,0000	1,0000	0,8503
51–75	16	13	15	0,6824	0,2612	1,0000
≤50	3	3	4	1,0000	0,8357	1,0000

Примечание: * указано значение p для разницы в показателе между группами (точный двусторонний тест Фишера с коррекцией множественного теста Бонферрони, p=0,0033).

Note: * indicates P-value for difference between groups is indicated (Fisher’s exact two-tailed test with Bonferroni multiple test correction, p=0.0033).

Таблица 3

Аминокислотные замены Vpu-A6 со статистически значимыми различиями по частоте встречаемости в группах ВИЧ-инфицированных пациентов с различными стадиями заболевания*

Table 3

Vpu-A6 amino acid substitutions with statistically significant differences in frequency of occurrence in groups of HIV-infected patients with different stages of the disease*

Мутация	Стадия II	Стадия III	Стадия IV	p II–III	p II–IV	p III–IV
T2H	3	0	1	–	0,043	–
P3A	6	2	1	0,005	0,001	–
Y7L	7	5	5	0,030	0,022	–
Y7X	0	9	2	–	–	0,023
A8X	0	2	9	–	–	0,038
F16A	19	21	30	0,007	–	–
F16S	5	27	33	0,038	0,011	–
I18L	6	3	7	0,015	–	–
V26A	6	3	9	0,015	–	–
I43L	1	2	10	–	–	0,023
E61A	22	32	39	0,042	–	–
A74V	24	28	39	0,002	0,049	–
L75F	5	19	29	–	0,033	–
D77A	6	4	4	0,037	0,028	–
D78N	9	32	16	–	–	0,004
N79H	3	1	1	–	0,043	–

Примечание: * Значения p-value представлены для позиций с p<0,05; позиции с p≤0,05 отмечены знаком «–». Жирным шрифтом отмечены значимые по χ² тесту p-value с поправкой Бонферрони (p<0,001).

Note: * p-value are presented for positions with p<0.05; positions with p≤0.05 are marked with a «–» sign. Bold font indicates p-value significant by the χ² test with Bonferroni correction (p<0.001).

Таким образом, с учетом поправки Бонферрони, лишь одна замена, P3A, в белке Vpu, достоверно чаще встречалась у пациентов со второй стадией заболевания, чем у пациентов с четвертой стадией

у пациентов с разными стадиями заболевания также отмечалась при исследовании, проведенном на вариантах Vpu субтипа В. Так, у пациентов на более ранних стадиях заболевания замена P3S

Таблица 4
Общая характеристика ВИЧ-инфицированных пациентов, классифицированных по наличию/отсутствию мутации P3A в белке Vpu*

Table 4
General characteristics of HIV-infected patients classified by the presence/absence of the P3A mutation in the Vpu protein*

Показатель	Когорта		P-значение*
	M+ (n=9)	M- (n=242)	
Возраст (медиана лет, МКИ)	36,4 (19,6)	39,0 (12,3)	0,375
Пол, абс. ч. (%):			0,015
Мужчины	9 (100,0)	147 (60,7)	
Женщины	0	95 (39,3)	
Путь передачи, абс. ч. (%):			0,008
ПИН	1 (11,2)	58 (24,0)	
ГТС	4 (44,4)	165 (68,2)	
МСМ	4 (44,4)	19 (7,8)	
Стадия заболевания, абс. ч. (%):			0,001
2	6 (66,7)	39 (16,1)	
3	2 (22,2)	97 (40,1)	
4	1 (11,1)	106 (43,8)	
Уровень CD4+Т-клеток (медиана клеток/мм ³ , МКИ)	409,0 (373,0)	360,0 (316,0)	0,267
Вирусная нагрузка (медиана log РНК копий/см ³ , МКИ)	5,3 (0,6)	4,8 (0,9)	0,057

Примечание: * P-значение для разницы между когортами; МКИ — межквартильный интервал; ПИН — потребители инъекционных наркотиков; ГТС — гетеросексуальные контакты; МСМ — мужчины, практикующие секс с мужчинами.

Note: * P-value for the difference between cohorts; IQR — interquartile range; IDUs — injection drug users; HTS — heterosexual contacts; MSM — men who have sex with men.

Таблица 5
Многофакторный анализ клинико-демографических характеристик ВИЧ-инфицированных пациентов (M+/M-) P3A в белке Vpu*

Table 5
Multivariate analysis of clinical and demographic characteristics of HIV-infected patients (M+/M-) P3A in the Vpu protein*

Переменная	ОШ (95% ДИ)	P-значение
Возраст, лет	0,87 (0,02–45,79)	0,944
Пол		
Мужчины	1	
Женщины	Н/д	Н/д
Путь передачи:		
ПИН	1	
ГТС	1,01 (0,09–11,39)	0,993
МСМ	5,23 (0,23–116,29)	0,288
Иммунный статус (CD4+–клетки, кл/мкл)		
Низкий (<350)	1	
Средний (350–500)	0,16 (0,01–5,09)	0,292
Высокий (>500)	1,00 (0,16–6,10)	1,000
Вирусная нагрузка (РНК копии/мл)		
>100 000	1	
10 000–100 000	0,79 (0,04–5,80)	0,571
<10 000	1,97 (0,21–18,91)	0,552
Стадия заболевания:		
4	1	
3	1,22 (0,09–17,04)	0,882
2	19,93 (1,36–292,50)	0,027

Примечание: * ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал; н/д — недоступно; ПИН, потребители инъекционных наркотиков; ГТС — гетеросексуальные контакты; МСМ — мужчины, практикующие секс с мужчинами.

Note: * OR — odds ratio; CI — confidence interval; N/A — not available; IDUs — injection drug users; HTS — heterosexual contacts; MSM — men who have sex with men.

встречалась чаще, чем у пациентов на продвинутых стадиях [14].

Далее была проведена оценка возможного влияния клинично-демографических характеристик пациентов на вероятность выявления РЗА в выборке пациентов со всеми известными переменными: пол, возраст, путь заражения, стадия заболевания, значение CD4-клеток, вирусная нагрузка. Оценку проводили для 251 пациента, так как 4 пациента с неизвестным путем инфицирования были исключены из анализа. Общая характеристика пациентов, классифицированных по наличию (M+) /отсутствию (M-) мутации РЗА на две когорты представлена в табл. 4. Как показано в таблице, когорта M+ (3,6%, n=9), по сравнению с когортой M- характеризовалась преобладанием лиц мужского пола (100,0% vs 60,7%; p=0,015) и лиц на 2-й стадии ВИЧ-инфекции (66,7% vs 16,1%; p<0,001); доля MSM-лиц по сравнению с ПИН была существенно выше в когорте M+ (44,4% vs 7,8%; p=0,020). Остальные показатели не демонстрировали значимых различий между сравниваемыми когортами (p>0,05 для всех; табл. 4).

Многофакторный анализ показал, что пациенты на более ранних стадиях ВИЧ-инфекции имели более высокие шансы обнаружения мутации РЗА. В частности, шанс встретить такую мутацию среди пациентов со 2-й стадией ВИЧ-инфекции составил

19,93 [95% ДИ: 1,36–292,50] по сравнению с пациентами с 4-й стадией заболевания. Значимой связи между возрастом, путем инфицирования, иммунным статусом, вирусной нагрузкой и наличием у пациентов мутации РЗА обнаружено не было (табл. 5).

Заключение. На основании проведенного исследования была получена консенсусная последовательность белка Vpr суб-субтипа A6 и показано, что доминирующий вариант вируса этого варианта содержит 81 АК. Различий в консервативности последовательностей белка Vpr суб-субтипа A6 у вариантов ВИЧ-1, полученных от пациентов с различными стадиями заболевания, выявлено не было. Однако была определена аминокислотная замена, РЗА, которая достоверно чаще встречалась у ЛЖВ со второй стадией ВИЧ-инфекции. Для прояснения функциональной значимости этой замены необходимо проведение дополнительных исследований. Необходимо подтверждение полученных данных при исследовании одних и тех же пациентов на различных стадиях заболевания. В целом полученные результаты имеют ценность для проведения дальнейшего изучения роли белка Vpr в патогенетических механизмах течения ВИЧ-инфекции.

* * *

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 23-15-00027, <https://rscf.ru/project/23-15-00027/>.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Сайдакова Е.В. Генетические, вирусологические, инфекционные и фармакологические факторы риска нарушения регенерации CD4+ T-клеток у ВИЧ-инфицированных лиц, получающих антиретровирусную терапию // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023. Т. 15, № 3. С. 38–49. [Saidakova E.V. Genetic, virological, infectious, and pharmacological risk factors for CD4+T-cell regeneration failure in HIV-infected subjects receiving ART. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2023, Vol. 15, No. 3, pp. 38–49 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-38-49>.
2. Colomer-Lluch M., Kilpelainen A., Pernas M., Peña R., Ouchi D., Jimenez-Moyano E., Dalmau J., Casado C., López-Galíndez C., Clotet B., Martínez-Picado J., Prado J.G. Viral and cellular factors leading to the loss of CD4 homeostasis in HIV-1 viremic nonprogressors // *J. Virol.* 2022. Vol. 96. e01499–21. <https://doi.org/10.1128/JVI.01499-21>.
3. Tarasova O., Biziukova N., Shemshura A., Filimonov D., Kireev D., Pokrovskaya A., Poroikov V.V. Identification of Molecular Mechanisms Involved in Viral Infection Progression Based on Text Mining: Case Study for HIV Infection // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. P. 1465. <https://doi.org/10.3390/ijms24021465>.
4. Кузнецова А.И. Роль полиморфизма ВИЧ-1 в патогенезе // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023. Т. 15, № 3. С. 26–37. [Kuznetsova A.I. The role of HIV-1 polymorphism in the pathogenesis of the disease. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2023, Vol. 15, No. 3, pp. 26–37 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-26-37>.
5. 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. Т. 64, № 6. С. 281–290. [Gromov K.B., Kazennova E.V., Kireev D.E., Murzakova A.V., Lopatukhin A.E., 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. *Problems of Virology*, 2019, Vol. 64, No. 6, pp. 281–290 (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-2019-64-6-281-290.

6. Кузнецова А.И., Громов К.Б., Киреев Д.Е., Шлыкова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В., Лебедев А.В., Туманов А.С., Ким К.В., Бобкова М.Р. Анализ особенностей белка Tat вируса иммунодефицита человека 1 типа суб-субтипа А6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1) // *Вопросы вирусологии*. 2021. Т. 66, № 6. С. 452–463. [Kuznetsova A.I., Gromov K.B., Kireev D.E., Shlykova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., Lebedev A.V., Tumanov A.S., Kim K.V., Bobkova M.R. Analysis of Tat protein characteristics in human immunodeficiency virus type 1 sub-subtype A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Problems of Virology*, 2021, Vol. 66, No. 6, pp. 452–463 (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-83.
7. Антонова А.А., Кузнецова А.И., Ожмегова Е.Н., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В., Туманов А.С., Глинкина Л.Н., Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации: увеличение распространенности рекомбинантных форм // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023. Т. 15, № 3. С. 61–72. [Antonova A.A., Kuznetsova A.I., Ozhmegova E.N., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., Tumanov A.S., Glinkina L.N., Bobkova M.R. Genetic diversity of HIV-1 at the current stage of the epidemic in the Russian Federation: an increase in the prevalence of recombinant forms. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2023, Vol. 15, No. 3, pp. 61–72 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72>.
8. Рыжов К.А., Носик М.Н., Кравченко А.В. Изменчивость регуляторных генов ВИЧ-1, выявляемых с помощью полимеразной цепной реакции // *Вопросы вирусологии*. 2015. Т. 60, № 3. С. 41–44. [Ryzhov K.A., Nosik M.N., Kravtchenko A.V. A study of the HIV-1 regulatory genes using the polymerase chain reaction. *Problems of Virology*, 2015, Vol. 60, No. 3, pp. 41–44 (In Russ.)].
9. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., Ozhmegova E., Orlova-Morozova E., Drobyshevskaya E., Pronin A., Prilipov A. and Kazennova E. Features of Tat Protein in HIV-1 Sub-Subtype A6 Variants Circulating in the Moscow Region, Russia // *Viruses*. 2023. Vol. 15. P. 2212. <https://doi.org/10.3390/v15112212>.
10. Khan N., Geiger J.D. Role of Viral Protein U (Vpu) in HIV-1 Infection and Pathogenesis // *Viruses*. 2021. Vol. 13. P. 1466. <https://doi.org/10.3390/v13081466>.
11. Soper A., Juarez-Fernandez G., Aso H., Moriwaki M., Yamada E., Nakano Y., Koyanagi Y., Sato K. Various plus unique: Viral protein U as a plurifunctional protein for HIV-1 replication // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2017. Vol. 242, No. 8. P. 850–858. doi: 10.1177/1535370217697384.
12. Chen J., Tibroni N., Sauter D., Galaski J., Miura T., Alter G, Mueller B., Haller C., Walker B. D., Kirchhoff F., Brumme Z. L., Ueno T., Fackler O.T. Modest Attenuation of HIV-1 Vpu Alleles Derived from Elite Controller Plasma // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, No. 3. P. e0120434. doi: 10.1371/journal.pone.0120434.
13. Sharma U., Gupta P., Gupta S., Venkatesh S., Husain M. Comparative Genetic Variability in HIV-1 Subtype C vpu Gene in Early Age Groups of Infants // *Curr. HIV Res*. 2018. Vol. 16, No. 1. P. 64–76. doi: 10.2174/1570162X16666180219154601.
14. Gondim M.V., da Silva J.X., Prosdociami F., Leonardecz-Neto E., Franco O.L., Argañaraz E.R. Evidences for viral strain selection in late stages of HIV infection: an analysis of Vpu alleles // *Protein J*. 2012. Vol. 31, No. 2. P. 184–193. doi: 10.1007/s10930-011-9389-y.
15. Romani B., Kavyanifard A., Allahbakhshi E. Functional conservation and coherence of HIV-1 subtype A Vpu alleles // *Sci. Rep*. 2017. Vol. 87. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00222-8>.
16. 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. Vol. 16, No. 3. P. 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1>.
17. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30, No. 22. P. 3276–3278. doi: 10.1093/bioinformatics/btu531.
18. 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. Vol. 42, No. 18. P. e144. doi: 10.1093/nar/gku739.
19. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekarou M., Gordien E., Morgenstern B., Zoaulim F., Dény P., Stanke M. jpHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus // *Nucleic Acids Res*. 2012. Vol. 40. W193–198. doi: 10.1093/nar/gks414.
20. 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. Vol. 32, No. 1. P. 268–274. doi: 10.1093/molbev/msu300.
21. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // *Nat. Methods*. 2012. Vol. 9, No. 8. P. 772. doi: 10.1038/nmeth.2109.
22. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation // *Nucleic Acids Res*. 2021. Vol. 49, No. W1. P. W293-W296. doi: 10.1093/nar/gkab301.
23. 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. Vol. 10. P. 320. doi: 10.3389/fmicb.2019.00320.
24. Jayaraman B, Fernandes J.D., Yang S., Smith C., Frankel A.D. Highly Mutable Linker Regions Regulate HIV-1 Rev Function and Stability // *Sci. Rep*. 2019. Vol. 9. P. 5139. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41582-7>.
25. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., Nonnemacher M.R., Wigdahl B. Impact of Tat Genetic Variation on HIV-1 Disease // *Adv. Virol*. 2012. Vol. 2012. P. 123605. doi: 10.1155/2012/123605.

26. Bishop K.N., Verma M., Kim E.Y., Wolinsky S.M., Malim M.H. APOBEC3G Inhibits Elongation of HIV-1 Reverse Transcripts // *PLOS Pathogens*. 2008. Vol. 4, No. 12. P. e1000231. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000231>.

Поступила в редакцию / Received by the Editor: 09.04.2024 г.

Авторство: вклад в концепцию и план исследования — А. И. Кузнецова, Е. В. Казеннова. Вклад в сбор данных — А. Ю. Пронин, Е. А. Орлова-Морозова. Вклад в анализ данных и выводы — А. А. Антонова, А. В. Лебедев, К. В. Ким, Е. Н. Ожмегова, А. С. Туманов, Я. М. Мунчак, А. И. Кузнецова, А. Г. Прилипов. Вклад в подготовку рукописи — А. А. Антонова, А. В. Лебедев, А. И. Кузнецова, Е. В. Казеннова.

Сведения об авторах:

Антонова Анастасия Александровна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: anastaseika95@mail.ru (aantonova1792@gmail.com); ORCID 0000-0002-9180-9846; SPIN 9149-7167;

Лебедев Алексей Владимирович — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: lebedevalsha236@gmail.com; ORCID 0000-0001-6787-9345; SPIN 3762-3285;

Казеннова Елена Валерьевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: kazennova@rambler.ru; ORCID 0000-0002-7912-4270; SPIN 4171-1578;

Ким Кристина Вячеславовна — лаборант-исследователь лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: kimsya99@gmail.com; ORCID 0000-0002-4150-2280;

Ожмегова Екатерина Никитична — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: belokopytova.01@mail.ru; ORCID 0000-0002-3110-0843;

Туманов Александр Сергеевич — научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: desep@mail.ru; ORCID 0000-0002-6221-5678; SPIN 5393-9522;

Мунчак Яна Михайловна — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: yana_munchak@mail.ru; ORCID 0000-0002-4792-8928;

Орлова-Морозова Елена Александровна — кандидат медицинских наук, заведующая амбулаторно-поликлиническим отделением государственного казенного учреждения здравоохранения Московской области «Центра по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями»; 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, к. 8; ORCID 0000-0003-2495-6501;

Пронин Александр Юрьевич — кандидат медицинских наук, главный врач государственного казенного учреждения здравоохранения Московской области «Центра по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями»; 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, к. 8; ORCID 0000-0001-9268-4929;

Прилипов Алексей Геннадьевич — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: a_pripilov@mail.ru; ORCID 0000-0001-8755-1419;

Кузнецова Анна Игоревна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18; e-mail: a-myznikova@list.ru; ORCID 0000-0001-5299-3081; SPIN 2821-0540.