

На правах рукописи

ДЕМЕНТЬЕВА

Наталья Евгеньевна

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ВИЧ
В КРОВИ И СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ**

03.02.02 – вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
Николай Алексеевич Беляков

Научный консультант:

доктор биологических наук **Марина Ридовна Бобкова**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУЗ «Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского департамента здравоохранения города Москвы» **Михаил Андреевич Годков**

доктор биологических наук, руководитель лаборатории ассоциированных инфекций (с группой по изучению возбудителя СПИД) ФГБУ «Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ **Галина Генриховна Миллер**

Ведущая организация:

Федеральное государственное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 20__ г. в _____ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.131.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава Российской Федерации по адресу: 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава РФ (123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16).

Автореферат разослан «_____» _____ 20__ г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Елена Ивановна Бурцева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Высокая значимость исследований в области патогенеза, диагностики, лечения и профилактики ВИЧ-инфекции обусловлена исключительной опасностью и широкой распространенностью этого инфекционного заболевания, а также отсутствием средств, способных полностью излечить либо способствовать развитию невосприимчивости к этому заболеванию. Число лиц с положительным ВИЧ-статусом в России к декабрю 2012 года превышало 700 тыс. человек (Покровский В.В., 2012). В Санкт-Петербурге к началу 2013 года было зарегистрировано более 50 тыс. ВИЧ-инфицированных пациентов – один из самых высоких показателей в Российской Федерации (Рахманова А.Г. и соавт., 2012, Беляков Н.А. и соавт., 2013).

Вирусная популяция в инфицированном организме генетически гетерогенна, что является следствием естественных мутационных процессов, существования гистогематических барьеров и селективного давления противовирусных препаратов (Бобкова М.Р., 2010, Alexaki A. et al., 2008). При исследовании разных биологических материалов, полученных у одного и того же пациента, могут быть обнаружены локальное увеличение вирусной нагрузки ВИЧ в тканях, а также различный спектр мутаций генома ВИЧ (Caragounis E.C. et al., 2008, Cunningham P.H. et al., 2000, Lambert-Niclot S. et al., 2012, Cu-Uvin S. et al., 2010).

Центральная нервная система (ЦНС) - один из наиболее объемных и клинически значимых резервуаров ВИЧ в инфицированном организме. Гематоэнцефалический барьер препятствует не только свободному переходу ВИЧ из крови в ткани ЦНС и обратно, но и затрудняет проникновение лекарственных препаратов (Letendre S. et al., 2008). Несмотря на широкое применение антиретровирусной терапии, распространенность нейрокогнитивных расстройств средней и легкой степени остается высокой, достигая уровня 50% и более (Patel K. et al, 2009, Heaton R.K. et al., 2011, Simioni S. Et al., 2010). На фоне антиретровирусной терапии и супрессии ВИЧ в крови часто наблюдается длительное сохранение у больных неврологических нарушений. В настоящее время не существует алгоритма лабораторной диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС и мониторинга вирусологической эффективности антиретровирусной терапии в тканях ЦНС.

Таким образом, изучение генетических особенностей вируса и оценка его количества в различных биологических субстратах является важной составляющей исследования патогенетических механизмов развития ВИЧ-инфекции и эволюции вируса в инфицированном организме, а также способствует созданию более эффективных методов диагностики и лечения ВИЧ-инфекции.

Состояние научной разработанности проблемы. В мировой научной литературе встречаются результаты исследований, направленных на изучение особенностей репликации ВИЧ в клетках ЦНС и патогенеза ВИЧ-ассоциированных нейрокогнитивных расстройств, однако полученные разными научными группами результаты значительно различаются. В России подобные исследования не проводили, а зарубежные исследования выполнялись с

использованием биологических образцов пациентов, инфицированных субтипами ВИЧ, не получившими в России широкого распространения.

Клиническая информативность вирусологических исследований СМЖ для оценки степени тяжести ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС до сих пор не доказана. В мире не существует зарегистрированных тест-систем для оценки вирусной нагрузки и профиля лекарственной устойчивости ВИЧ в СМЖ, и эти методы диагностики не применяются в клинической практике.

Цель исследования. Провести сравнительный анализ и оценить клинико-диагностическое значение определения уровня вирусной нагрузки и исследования генотипа ВИЧ в парных образцах спинномозговой жидкости и крови у больных ВИЧ-инфекцией.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ уровня вирусной нагрузки в парных образцах плазмы крови и СМЖ и оценить взаимосвязь количества ВИЧ в СМЖ и содержания CD4⁺-лимфоцитов в крови.
2. Проанализировать взаимосвязь между субтипом ВИЧ, содержанием CD4⁺-лимфоцитов в крови, уровнем вирусной нагрузки в крови и СМЖ и наличием признаков ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.
3. Выполнить сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ, полученных в результате генотипирования ВИЧ в парных образцах крови и СМЖ.
4. Оценить клинико-диагностическое значение определения уровня вирусной нагрузки и тестирования лекарственной устойчивости ВИЧ в образцах СМЖ у больных ВИЧ-инфекцией.

Объект исследования. Исследование посвящено изучению вирусологических аспектов патогенеза ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС, а также разработке новых диагностических подходов для оценки степени поражения ЦНС при ВИЧ-инфекции и вирусологической эффективности антиретровирусной терапии.

Предмет исследования. Основные результаты получены при исследовании вирусной нагрузки и нуклеотидной последовательности гена *pol* ВИЧ в образцах плазмы крови и СМЖ, количества CD4⁺-лимфоцитов в крови ВИЧ-инфицированных пациентов. В процессе анализа учитывалась клиническая оценка состояния функций ЦНС у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Теоретические и методологические основы исследования. В основу научно-квалификационного исследования легли вопросы вирусологии, патологической физиологии, лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. В процессе работы применялись общенаучные и специальные методы исследования (методы клинической и лабораторной медицинской диагностики, эпидемиологические методы). Для анализа значимости выявленных закономерностей применялись современные статистические методы оценки.

Информационная база исследования. В качестве информационных источников использовали научные публикации российских и зарубежных исследователей, материалы конференций, нормативные документы, инструкции к

использованным в работе тест-системам, данные клинической документации, собственные результаты исследований.

Основные научные результаты исследования, полученные лично автором. Автор участвовал в сборе материала, самостоятельно проводил молекулярно-биологические исследования биологических образцов, анализ архивной и клинической документации, статистическую обработку и интерпретацию полученных результатов, подготовку и публикацию материалов.

Впервые проведены исследования уровня вирусной нагрузки и генотипирование ВИЧ в образцах СМЖ в большой выборке пациентов, инфицированных характерным для России ВИЧ субтипа А1.

Обнаружены ранее неизвестные особенности (соотношение вирусной нагрузки и генетические различия ВИЧ в крови и СМЖ, количество ВИЧ в СМЖ при наличии ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС), характеризующие количественные и качественные различия субпопуляций ВИЧ в двух биологических жидкостях инфицированного организма.

Обоснована возможность и целесообразность применения молекулярно-биологических исследований образцов спинномозговой жидкости для подтверждающей диагностики ВИЧ-обусловленных поражений центральной нервной системы и определения профиля лекарственной устойчивости ВИЧ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Между концентрацией ВИЧ в СМЖ и крови обнаружена корреляционная связь слабой силы ($r=0,3$, $p<0,01$). У пациентов, не принимавших антиретровирусных препаратов, вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ ниже, чем в крови, в среднем на $1,5 \lg$ копий РНК/мл ($p<0,01$). У нелеченых больных с клиническими признаками поражения ЦНС уровень вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ в среднем на $1,4 \lg$ копий РНК/мл выше, чем у пациентов без нарушения функций ЦНС, при этом разница между концентрацией ВИЧ в крови и СМЖ составляет $0,8 \lg$ и $1,9 \lg$ копий РНК/мл соответственно ($p<0,0001$).
2. У пациентов, не принимавших антиретровирусные препараты, количество ВИЧ в СМЖ, равное или превышающее $4,00 \lg$ копий РНК/мл, свидетельствует о высокой вероятности наличия ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС ($p<0,0001$). Определение вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ рекомендуется применять для лабораторной диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.
3. Обнаружена генетическая дивергенция и, в ряде случаев, несовпадение профилей лекарственной устойчивости субпопуляций ВИЧ, циркулирующих в СМЖ и крови. Определение профиля лекарственной устойчивости ВИЧ в СМЖ рекомендуется использовать для лабораторного мониторинга эффективности антиретровирусной терапии в ЦНС.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Обнаружены ранее неизвестные особенности патогенеза поражения ЦНС при ВИЧ-инфекции, а также генетической изменчивости и репликации ВИЧ в инфицированном организме. Выявленные закономерности позволили произвести оценку диагностической эффективности определения уровня вирусной нагрузки и определения профиля фармакорезистентности ВИЧ в СМЖ. Обнаружено, что в

ряде случаев определение профиля лекарственной устойчивости ВИЧ только в образцах крови может быть недостаточно информативным, так как степень чувствительности ВИЧ к препаратам в СМЖ может отличаться от результата, полученного в крови. Полученные данные могут быть использованы для диагностики ВИЧ-ассоциированных поражений ЦНС и лабораторного мониторинга эффективности терапии ВИЧ-инфекции.

Апробация результатов исследования. Материалы работы были представлены на двух Международных симпозиумах «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии» (Санкт-Петербург, 2011, 2013 г.), региональной научно-практической конференции «Развитие службы ВИЧ/СПИДа. Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению ВИЧ-инфекции» (Мурманск, 2011 г.), Международном симпозиуме «Женщина, ребенок и ВИЧ» (Санкт-Петербург, 2011 г.), Научно-практической конференции III Виноградовские чтения «ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии – приверженность больных к лечению и фармакорезистентность ВИЧ» (Санкт-Петербург, 2011 г.), Международном конгрессе «Женщина, ребенок, ВИЧ» (Санкт-Петербург, 2012 г.), Юбилейной всероссийской научной конференции «Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные направления развития и новые направления диагностики и профилактики болезней человека» (Санкт-Петербург, 2012 г.), Международном круглом столе «НейроСПИД – от минимальной когнитивной дисфункции до грубых структурных изменений» (Санкт-Петербург, 2013 г.).

Полученные результаты внедрены в практическую диагностику ВИЧ-ассоциированных поражений ЦНС в Санкт-Петербургском Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, а также включены в учебный курс «ВИЧ-медицина» СПбГМУ им. И.П.Павлова.

Публикации по теме диссертации. По результатам исследования опубликовано 18 печатных работ, из них 9 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Материалы исследования были использованы при подготовке двух руководств для врачей: «ВИЧ-медицина» (СПб, 2010 г.) и «Женщина, ребенок и ВИЧ» (СПб, 2012 г.)

Структура и содержание диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, текст иллюстрирован 10 таблицами и 12 рисунками. В списке литературы приведены 272 источника, из них 38 отечественных и 234 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Отбор больных производился методом спонтанной выборки среди ВИЧ-инфицированных пациентов, пришедших на прием в Санкт-Петербургский Центр СПИД. Основным лимитирующим фактором было согласие пациента на

проведение спинномозгового пунктирования. Критериями исключения являлись возраст менее 18 лет и старше 60 лет, черепно-мозговые травмы и психические расстройства в анамнезе, признаки органического заболевания ЦНС, текущая зависимость от психоактивных веществ, острые соматические заболевания, беременность. Всего было получено 150 парных образцов крови и спинномозговой жидкости от 139 пациентов, из них 5 больных обследовались в динамике двукратно, 3 пациента - трехкратно.

Для оценки клинического статуса больных использовался комплекс диагностических методов: клинический осмотр врача-инфекциониста, врача-невролога, других специалистов, психологическое тестирование, лабораторные и инструментальные методы диагностики.

У 54 пациентов (39,1%) были выявлены клинические признаки ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС (энцефалит, менингоэнцефалит, энцефалопатия, судорожный синдром, мозжечковая атаксия, дистальная сенсорная полинейропатия, умеренное и выраженное снижение нейрокогнитивных функций при психологическом тестировании и др.). У 90% пациентов была диагностирована 4 стадия ВИЧ-инфекции, 75% больных до включения в исследование не принимали АРВП.

Парные образцы крови и СМЖ отбирали у пациентов одномоментно во время каждого визита. Всего было получено 150 парных образцов крови и СМЖ.

Определение вирусной нагрузки ВИЧ выполняли с использованием автоматизированного комплекса Abbott *m2000 RealTime System*. Исследования проводили с помощью тест-систем Abbott RealTime HIV-1, предназначенных для анализа вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови. Исследование СМЖ проводили по такой же методике, как и для плазмы, так как химический состав и реологические свойства СМЖ позволяют использовать данную методику без дополнительной модификации. Чувствительность метода для плазмы крови составила 40 копий РНК/мл, линейный диапазон измерения от 40 копий РНК/мл (1,6 lg копий РНК/мл) до 10 млн. копий РНК/мл (7 lg копий РНК/мл). В связи с невозможностью получить достаточный объем образцов СМЖ для выполнения исследований с такой же высокой чувствительностью, количество ВИЧ в СМЖ определяли с чувствительностью 150 копий РНК/мл (2,2 lg копий РНК/мл) согласно инструкции по применению тест-системы Abbott RealTime HIV-1.

Определение нуклеотидной последовательности гена *pol* ВИЧ проводили с помощью системы генотипирования ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Celera Diagnostics), предназначенной для анализа области генома ВИЧ, включающей ген протеазы (кодоны 1-99) и две трети гена обратной транскриптазы (кодоны 1-335). Детекцию нуклеотидной последовательности осуществляли на анализаторе молекул ДНК ABI Prism 3100-Avant.

Для анализа мутаций и получения заключения о профиле фармакорезистентности применяли программное обеспечение базы данных HIVdbProgram: SequenceAnalysis Стэнфордского университета (URL: <http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra>).

Субтипирование ВИЧ проводили с применением on-line программы Rega HIV-1 Subtyping Tool (URL: <http://dbpartners.stanford.edu/RegaSubtyping>). Для

оценки генетических дистанций между последовательностями и построения филогенетических деревьев с помощью метода ближайших соседей (neighbor-joining method) использовали программный пакет Mega 5.05. Референсные нуклеотидные последовательности субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ были получены с сайта базы данных ВИЧ Национальной лаборатории Лос-Аламоса (URL: <http://www.hiv.lanl.gov/content/index>). Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, полученных из парных образцов плазмы и СМЖ, выполняли с применением программы CLC Sequence Viewer (URL: <http://www.clcbio.com/products/clc-sequence-viewer>).

Оценку количества CD4⁺-лимфоцитов в крови выполняли методом проточной цитофлюориметрии на проточном цитометре Becton Dickinson FACS Calibur с использованием реагента TriTEST CD3/CD4/CD45 в пробирках TruCount.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы SAS 9.3 (SAS Institute Inc., США). Различия признавали значимыми при критическом уровне вероятности принятия «нулевой гипотезы» $p \leq 0,05$.

Результаты определения количества CD4⁺-лимфоцитов, вирусной нагрузки и генотипирования ВИЧ при исследовании парных образцов крови и СМЖ

Результаты определения количества CD4⁺-лимфоцитов в крови, концентрации ВИЧ в плазме крови и СМЖ удалось получить для всех 150 парных образцов, полученных у 139 пациентов (табл. 1).

Количество CD4⁺-лимфоцитов в крови составляло от 1 клетки/мкл до 862 клеток/мкл. Концентрация ВИЧ в плазме крови колебалась от неопределяемой (ниже границы аналитической чувствительности теста) до 6,78 lg копий РНК/мл, в СМЖ – от неопределяемой до 6,08 lg копий РНК/мл.

Таблица 1

Средние величины исследуемых показателей у ВИЧ-инфицированных пациентов (по данным первого визита)

Исследуемый показатель	Среднее значение с 95% ДИ
Количество CD4 ⁺ -лимфоцитов в крови (клеток/мкл, n=139)	101 (71-133)
Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в крови (lg копий РНК/мл, n=139)	5,3 (5,1-5,4)
Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ (lg копий РНК/мл, n=139)	3,7 (3,5-4,0)
Количество однонуклеотидных замен при сравнении нуклеотидных последовательностей гена <i>pol</i> ВИЧ, выявленного в крови и СМЖ (n=105)	20 (17-23)

Для определения субтипа ВИЧ проводили анализ полученных нуклеотидных последовательностей гена *pol*. Во всех случаях результаты определения субтипа в образцах крови и парных образцах СМЖ совпадали между собой. Из 133 обследованных пациентов, для которых удалось получить

нуклеотидную последовательность гена *pol* ВИЧ в крови и/или СМЖ, 88,0% (117) были инфицированы ВИЧ субтипа А1, 11,2% (15) - субтипа В и 0,8% (1) циркулирующей рекомбинантной формой CRF 06_srx.

Результаты проведенных исследований показали, что уровень вирусной нагрузки ВИЧ в спинномозговой жидкости варьирует в таком же широком диапазоне, как и в крови. Нуклеотидная последовательность гена *pol* ВИЧ, характеризующая ВИЧ в СМЖ, имеет отличия (однонуклеотидные замены) от нуклеотидной последовательности вирусов, циркулирующих в крови.

Вирусная нагрузка ВИЧ в крови и СМЖ у пациентов, ранее не принимавших АРВП, и на фоне ВААРТ

Среди обследованных пациентов 21 принимали АРВП на момент участия в исследовании, 104 больных никогда ранее не принимали АРВП. Так как назначение ВААРТ приводит к супрессии репликации ВИЧ, был проведен сравнительный анализ содержания CD4⁺-лимфоцитов и уровней вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови и СМЖ в группах пациентов с разным опытом приема ВААРТ (табл. 2).

Результаты исследования уровня вирусной нагрузки ВИЧ в крови и спинномозговой жидкости у пациентов до и на фоне ВААРТ показали, что прием антиретровирусных препаратов приводит к снижению количества вируса и в крови, и в СМЖ, однако динамика супрессии вирусов в этих биологических жидкостях значительно различается. У пациентов, принимающих ВААРТ, разница между показателями вирусной нагрузки ВИЧ в крови и СМЖ была значительно меньше, чем у нелеченых пациентов, достигая отрицательных значений в группе больных, принимающих препараты более полугода.

Таблица 2

Показатели содержания CD4⁺-лимфоцитов в крови и концентрации ВИЧ в крови и СМЖ в зависимости от опыта приема антиретровирусных препаратов (усеченные средние величины с 95% ДИ, n=125)

Опыт приема АРВП	Вирусная нагрузка ВИЧ в крови (lg копий РНК/мл)	Вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ (lg копий РНК/мл)	Разница между вирусной нагрузкой ВИЧ в крови и СМЖ (lg копий РНК/мл)	Количество CD4 ⁺ -лимфоцитов в крови (клеток/мкл)
Никогда не принимали АРВП (n=104)	5,4 (5,3-5,6)*	3,8 (3,5-4,0)	1,5 (1,3-1,8)*	97 (58-136)
Начали ВААРТ (6-127 дней приема) (n=12)	3,5 (2,8-4,2)*	3,2 (1,9-4,5)	0,4 (-0,3-1,0)*	153 (60-245)
Длительно принимают ВААРТ (более 199 дней) (n=9)	1,6 (0,1-3,2)*	1,7 (0-3,4)**	-0,4 (-0,9-0,1)*	265 (150-380)**

* статистически значимые различия между всеми группами (p<0,05, критерий Манна-Уитни)

** статистически значимые различия между группой пациентов, длительно принимающих ВААРТ, и группами начинающих ВААРТ и никогда не принимавших АРВП (p<0,05, критерий Манна-Уитни)

Анализ взаимосвязи между исследуемыми лабораторными показателями и клиническими характеристиками заболевания ВИЧ-инфекцией у пациентов, ранее не принимавших АРВП

Поскольку прием АРВП оказывает значительное влияние на уровень вирусной нагрузки, как в крови, так и в СМЖ, для дальнейшего статистического анализа были отобраны результаты, полученные у пациентов, не имевших опыта приема препаратов. Была обнаружена статистически значимая взаимосвязь между концентрацией ВИЧ в крови и количеством CD4⁺-лимфоцитов и их корреляция со стадией и продолжительностью заболевания ($p < 0,05$). Концентрация ВИЧ в СМЖ находилась в корреляции слабой степени с вирусной нагрузкой в крови ($r = 0,3$, $p < 0,01$) и не коррелировала с количеством CD4⁺-лимфоцитов, продолжительностью заболевания и стадией ВИЧ-инфекции ($p > 0,05$).

В группе пациентов, ранее не принимавших АРВП, вирусная нагрузка в крови колебалась от 2,7 до 6,8, составляя в среднем 5,4 lg копий РНК/мл, в СМЖ – от неопределяемой до 6 lg копий РНК/мл, в среднем 3,8 lg копий РНК/мл. В среднем в крови концентрация ВИЧ была выше на 1,5 lg копий РНК/мл. Подъем вирусной нагрузки в крови на 1 lg копий РНК/мл соответствовал росту концентрации ВИЧ в СМЖ только на 0,37 lg (робастная регрессия, $p = 0,04$).

Преобладание уровня вирусной нагрузки ВИЧ в крови над количеством ВИЧ в СМЖ было выявлено у большинства больных - 89,4% (93/104). Однако, среди этих пациентов у 26,9% (25/93) наблюдалось значительное превышение разницы между концентрацией ВИЧ в крови и СМЖ по сравнению со средним значением: более 2,5 lg копий РНК/мл, вплоть до полного отсутствия вируса в СМЖ на фоне количества ВИЧ в крови более 4 lg копий РНК/мл. В этой группе пациентов только у одного (4%) были обнаружены признаки поражения ЦНС.

У остальных 10,6% (11/104) нелеченых пациентов количество вируса в СМЖ было равным или превышало вирусную нагрузку в крови. Из них 81,8% (9/11) принадлежали к когорте пациентов с неврологическими нарушениями.

Таким образом, у 35% больных были выявлены значительные отличия от среднего значения разницы между уровнями вирусной нагрузки ВИЧ в крови и СМЖ. Сокращение разницы между концентрацией ВИЧ в крови и СМЖ наблюдалось преимущественно у больных с клиническими признаками поражения ЦНС.

Анализ взаимосвязи между наличием ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС и субтипом ВИЧ, количеством CD4⁺-лимфоцитов в крови, вирусной нагрузкой ВИЧ в крови и СМЖ

В целях изучения взаимосвязи результатов выполненных исследований с наличием у пациентов неврологических нарушений для дальнейшего статистического анализа были отобраны результаты, полученные у больных, не имевших опыта приема АРВП, чтобы исключить влияние терапии на уровень этих показателей (табл. 3).

Выполненный анализ показал, что наличие у пациентов клинических признаков поражения ЦНС было статистически значимо взаимосвязано с уровнем вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ (логистическая регрессия, $p < 0,0001$) и не связано

с содержанием CD4⁺-лимфоцитов, уровнем вирусной нагрузки ВИЧ в крови, субтипом ВИЧ ($p>0,05$). Концентрация ВИЧ в СМЖ у больных с неврологическими нарушениями была в среднем на 1,4 lg копий РНК/мл выше, чем у пациентов без симптомов нарушения функций ЦНС ($p<0,0001$). Разница между вирусной нагрузкой ВИЧ в крови и СМЖ при наличии нейрокогнитивных нарушений сокращалась до 0,8 lg копий РНК/мл по сравнению с 1,9 lg копий РНК/мл в группе больных без признаков поражения ЦНС.

Таблица 3

Средние величины количества CD4⁺-лимфоцитов в крови и вирусной нагрузки ВИЧ в крови и СМЖ в группах пациентов с наличием и без неврологических нарушений (по данным первого визита у нелеченых пациентов, $n=104$)

Группа пациентов Наименование исследования	Пациенты с неврологическими нарушениями, (среднее значение с 95% ДИ, $n=34$)	Пациенты без неврологических нарушений, (среднее значение с 95% ДИ, $n=70$)	p-уровень, однофакторный дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни
Количество CD4 ⁺ -лимфоцитов в крови (клеток/мкл)	74 (14-133)	107 (49-165)	$p=0,66$
Концентрация ВИЧ в крови (lg копий РНК/мл)	5,6 (5,3-5,8)	5,3 (5,1-5,5)	$p=0,08$
Концентрация ВИЧ в СМЖ (lg копий РНК/мл)	4,8 (4,5-5,2)	3,4 (3,2-3,6)	$p<0,0001$
Разница концентрацией ВИЧ в крови и СМЖ (lg копий РНК/мл)	0,8 (0,4-1,1)	1,9 (1,6-2,2)	$p<0,0001$

Оценка клинической информативности определения уровня вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ для лабораторной диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС у не принимавших АРВП пациентов

Анализ кривой оперативной характеристики лабораторного теста (ROC-кривая) показал, что метод определения количества ВИЧ в СМЖ обладает хорошей клинической информативностью (AUC=0,85 - «очень хорошая прогностическая модель», $p<0,0001$) для диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.

Определение порога клинического решения при интерпретации результатов исследования, то есть числового значения количества ВИЧ в СМЖ являющегося критерием поражения ЦНС, проводилось с помощью индекса Юдена. Уровень вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ, равный или превышающий 4,00 lg копий РНК/мл, свидетельствовал о значительной вероятности наличия у пациентов ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС ($p<0,0001$).

Определение вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ с порогом принятия клинического решения на уровне 4,00 lg копий РНК/мл обладало следующими характеристиками диагностического лабораторного теста:

1. Выявление в СМЖ концентрации ВИЧ, равной или превышающей 4,00 lg копий РНК/мл, обладало диагностической чувствительностью 76% и

диагностической специфичностью 84% в отношении наличия у пациента ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.

2. Вероятность обнаружения у больного ВИЧ-ассоциированного нейркогнитивного расстройства (прогностическая ценность положительного результата) при вирусной нагрузке ВИЧ в СМЖ, равной или превышающей 4,00 lg копий РНК/мл, составила 70%.

3. Вероятность отсутствия у пациента ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС (прогностическая ценность отрицательного результата) при вирусной нагрузке ВИЧ в СМЖ меньше 4,00 lg копий РНК/мл составила 88%.

4. Диагностическая эффективность теста (процент истинных результатов к общему числу полученных результатов) составила 82%. Истинность результатов, то есть наличие или отсутствие поражения ЦНС, определяли по клиническим критериям.

5. Вероятность обнаружить ВИЧ-ассоциированное поражение ЦНС при выявлении концентрации ВИЧ в СМЖ, равной или большей 4,00 lg копий РНК/мл, в 4,9 раза выше, чем получить такой же результат при отсутствии неврологических нарушений (отношение правдоподобия для положительного результата).

6. Шансы обнаружить ВИЧ-ассоциированное поражение ЦНС при выявлении у ВИЧ-инфицированных пациентов вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ, равной или большей 4,00 lg копий РНК/мл, в 17 раз выше, чем диагностировать неврологические нарушения у пациентов с вирусной нагрузкой в СМЖ менее 4,00 lg копий РНК/мл (отношение шансов OR, $p < 0,0001$).

Определение уровня вирусной нагрузки ВИЧ в образцах СМЖ может применяться для оптимизации алгоритма диагностики ВИЧ-ассоциированных поражений ЦНС, дифференциальной диагностики с неврологическими расстройствами другой этиологии. Порогом принятия клинического решения является уровень вирусной нагрузки ВИЧ в образце СМЖ, равный или превышающий 4,00 lg копий РНК/мл, что свидетельствует о значительной вероятности наличия у пациента ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.

Сравнительный анализ результатов генотипирования ВИЧ в парных образцах крови и спинномозговой жидкости

Для оценки существования генетических различий между вирусами, циркулирующими в крови и СМЖ, был проведен анализ парных нуклеотидных последовательностей ВИЧ. У обследованных пациентов при сравнении парных нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ обнаруживалось до 65 нуклеотидных замен. Величина эволюционной дистанции между вирусами в различных тканях организма может быть оценена как количество однонуклеотидных замен при сравнении парных нуклеотидных последовательностей одного и того же вирусного гена, полученного из разных биологических образцов. У нелеченых пациентов количество однонуклеотидных замен находилось в прямой зависимости от продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией (коэффициент корреляции Спирмена, $r=0,60$, $p < 0,0001$). При увеличении продолжительности заболевания на 1 год количество

однонуклеотидных замен в парных нуклеотидных последовательностях увеличивалось на 2 замены (робастная регрессия, $p < 0,0001$) (рис. 1).

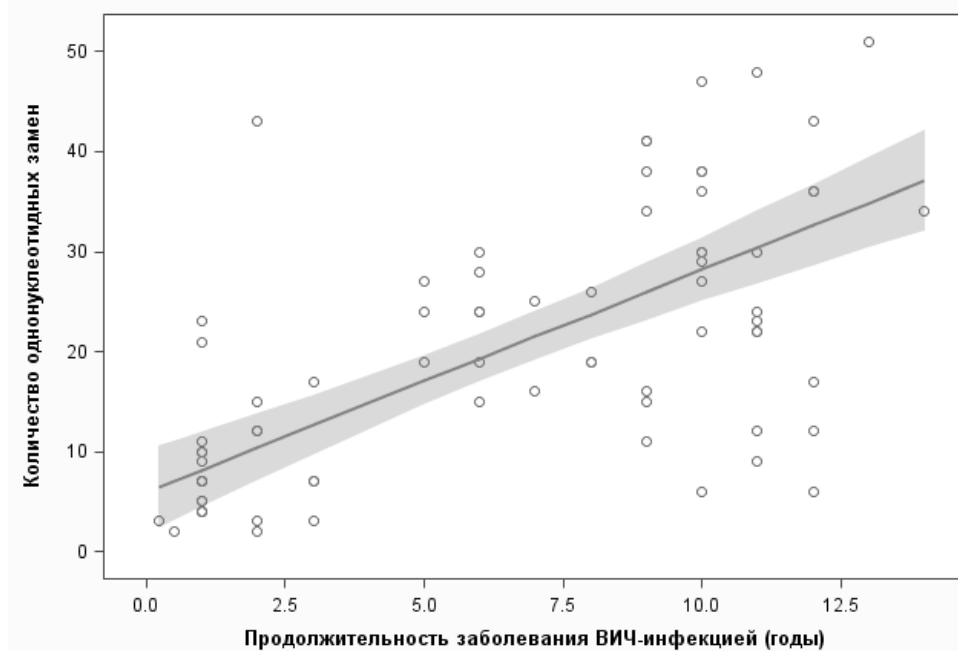


Рис. 1. Зависимость количества однонуклеотидных замен от продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией в парных нуклеотидных последовательностях гена *pol* ВИЧ у нелеченых пациентов (робастная регрессия с зоной 95% ДИ, $n=82$)

Косвенным подтверждением генетической дивергенции вирусов в крови и ЦНС с увеличением продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией является также статистически значимая обратная зависимость между количеством однонуклеотидных замен в парных нуклеотидных последовательностях гена *pol* и уровнем $CD4^+$ -лимфоцитов в крови (коэффициент корреляции Спирмена, $r = -0,54$, $p < 0,0001$). Очевидно, что выявленная зависимость является опосредованной, так как количество $CD4^+$ -лимфоцитов в крови падает с увеличением продолжительности заболевания.

Вследствие вырожденности генетического кода, некоторые нуклеотидные замены являются синонимичными и не приводят к замене аминокислоты в соответствующей позиции. При оценке различий в кодируемых геном *pol* парных аминокислотных последовательностях белков были обнаружены закономерности, сходные с полученными при анализе нуклеотидных последовательностей. Количество аминокислотных замен находилось в прямой зависимости от продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией (коэффициент корреляции Спирмена, $r=0,58$, $p < 0,0001$), и наблюдалась косвенная обратная зависимость с содержанием $CD4^+$ -лимфоцитов в крови (коэффициент корреляции Спирмена, $r = -0,53$, $p < 0,0001$).

Частным и клинически значимым следствием аминокислотных замен в белковой структуре ферментов ВИЧ является возникновение лекарственной устойчивости вируса. При анализе профилей лекарственной устойчивости ВИЧ было обнаружено, что у 13 пациентов в гене *pol* ВИЧ присутствуют мутации, связанные с формированием лекарственной устойчивости, в том числе у 6

пациентов (6%) профили фармакорезистентности при сравнении парных образцов крови и СМЖ не совпадали (табл. 4).

Таблица 4

Случаи несовпадения профилей лекарственной устойчивости ВИЧ в парных образцах крови и СМЖ (согласно интерпретации базы данных Стенфордского университета HIV Drug Resistance Database)

Пациенты	Аминокислотные замены в геноме ВИЧ, связанные с формированием фармакорезистентности и обнаруженные в крови		Аминокислотные замены в геноме ВИЧ, связанные с формированием фармакорезистентности и обнаруженные в СМЖ	
	Обратная транскриптаза	Протеаза	Обратная транскриптаза	Протеаза
X2647	K70TK, V106IV	L10I	-	L10FI
B1711	-	-	T69NT	
A1411	-	-	T215IT	
B1455	T69NT, V108IMV	-	-	
П1243	K103KN, E138A, G190GS	-	E138AE	
B1273	M184V, L74V, K101E, Y181F, G190S	M46IM, L10I	-	L10I

Результаты генотипирования ВИЧ показали, что с увеличением продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией наблюдается генетическая дивергенция ВИЧ в крови и СМЖ. Профили лекарственной устойчивости ВИЧ, полученные при анализе образцов СМЖ, у ряда пациентов отличаются от результатов, полученных при исследовании крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При разработке подходов к лечению и лабораторной диагностике ВИЧ-ассоциированных поражений органов и систем организма необходимо учитывать гистологические, физиологические и иммунологические особенности тканей и органов, неодинаковую тропность ВИЧ к различным клеткам и значительную генетическую изменчивость ВИЧ.

Анализ крови малоинформативны для диагностики ВИЧ-ассоциированных неврологических расстройств. Для лабораторной диагностики состояния ЦНС используют клинические и биохимические исследования ликвора, но оценить степень инфицированности клеток ЦНС с помощью этих методов не представляется возможным. Для более детального изучения вопросов вирусной репликации в ткани ЦНС, патогенеза и диагностики ВИЧ-ассоциированных неврологических расстройств нами были проанализированы парные образцы СМЖ и крови, полученные у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Результаты исследования показали, что вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ не коррелирует ни с содержанием CD4⁺-лимфоцитов в крови, ни с продолжительностью заболевания. Статистическая взаимосвязь обнаружена

только с вирусной нагрузкой ВИЧ в крови. Однако слабая степень корреляции ($r=0,3$, $p<0,01$) и значительные отклонения от средней разницы между количеством ВИЧ в крови и СМЖ у трети пациентов говорят о том, что степень инфицированности клеток ЦНС, вероятно, находится во взаимосвязи с другими факторами, например с концентрацией некоторых цитокинов в ткани мозга или с различиями во внутриклеточных условиях размножения вируса.

В результате статистического анализа полученных в исследовании данных было обнаружено, что в среднем у нелеченых пациентов вирусная нагрузка в крови превышает показатель в СМЖ на 1,5 lg копий РНК/мл. Более высокая концентрация вируса в СМЖ и уменьшение разницы между количеством ВИЧ в крови и СМЖ наблюдались в группе пациентов с ВИЧ-ассоциированными нарушениями. Выявленные закономерности позволили рекомендовать определение вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ для оптимизации алгоритма диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС у нелеченых пациентов.

Прием антиретровирусных препаратов значительно изменял картину результатов лабораторных исследований. У пациентов, обследованных на фоне ВААРТ, было обнаружено сокращение разницы между количеством ВИЧ в крови и СМЖ. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что сроки наступления супрессии вируса в СМЖ на фоне терапии могут быть сравнимы с принятыми для крови, то есть 24 недели после начала ВААРТ, или более длительными.

При изучении нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ в парных образцах крови и СМЖ было установлено, что с увеличением продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией степень генетической дивергенции вирусов, циркулирующих в СМЖ и в крови, росла. Возможно, это свидетельствует о независимой эволюции субпопуляции ВИЧ, относительно изолированной в ткани ЦНС из-за гематоэнцефалического барьера. Мутации в геноме ВИЧ, связанные с лекарственной устойчивостью к антиретровирусным препаратам, у некоторых обследованных пациентов обнаруживались только в крови, или только в СМЖ. Возможно первичное формирование фармакорезистентных вариантов ВИЧ в ЦНС из-за неполного проникновения АРВП через гематоэнцефалический барьер или других особенностей фармакокинетики.

Риск появления лекарственной устойчивости ВИЧ особенно возрастает по мере повышения продолжительности репликации вирусов на фоне приема ВААРТ. По нашим и литературным данным, вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ медленно снижается на фоне терапии, что особенно характерно для пациентов с ВИЧ-ассоциированным поражением ЦНС. У пациентов с ВИЧ-ассоциированными неврологическими расстройствами вирусы могут длительно реплицироваться в клетках ЦНС на фоне селективного давления АРВП, что увеличивает вероятность появления и закрепления мутаций, связанных с лекарственной устойчивостью.

Таким образом, определение вирусной нагрузки и генотипирование ВИЧ в СМЖ позволяет более точно оценить степень тяжести поражения ЦНС и оптимизировать антиретровирусную терапию для снижения патогенного влияния ВИЧ на клетки ЦНС.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ у пациентов, не принимавших АРВП, коррелирует с количеством ВИЧ в крови ($r=0,3$, $p<0,01$) и в среднем ниже показателя в крови на 1,5 lg копий РНК/мл. Между количеством ВИЧ в СМЖ и содержанием $CD4^+$ -лимфоцитов в крови не выявлено статистически значимой корреляционной связи ($p>0,05$).
2. В отсутствие терапии у больных с клиническими признаками поражения ЦНС вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ в среднем на 1,4 lg копий РНК/мл выше, чем у пациентов без нарушения функций ЦНС, а разница между концентрацией ВИЧ в крови и СМЖ составляет 0,8 lg и 1,9 lg копий РНК/мл соответственно ($p<0,0001$). Статистически значимой связи между содержанием $CD4^+$ -лимфоцитов в крови, подтипом ВИЧ и наличием клинических признаков поражения ЦНС не выявлено.
3. Выявление уровня вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ $\geq 4,00$ lg копий РНК/мл у не принимавших АРВП больных обладает диагностической чувствительностью 76% и диагностической специфичностью 84% в отношении наличия у пациента ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.
4. При сравнении аминокислотных последовательностей, кодируемых геном *pol* ВИЧ и полученных при анализе парных образцов крови и СМЖ, обнаружены точечные замены, количество которых растет с увеличением продолжительности заболевания ВИЧ-инфекцией ($p<0,0001$), что свидетельствует о генетической дивергенции вирусов.
5. Установлено, что у 6% (6/108) пациентов профили лекарственной устойчивости субпопуляций ВИЧ, циркулирующих в крови и СМЖ, различались между собой.

Практические рекомендации

1. Для подтверждающей диагностики ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС у нелеченых больных с ВИЧ-инфекцией рекомендуется исследование вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ. Количество ВИЧ в спинномозговой жидкости, равное или превышающее 4,00 lg копий РНК/мл, свидетельствует о высокой вероятности наличия ВИЧ-ассоциированного поражения ЦНС.
2. При отсутствии улучшения нейрокогнитивных функций или при появлении неврологических нарушений у пациента на фоне терапии через 24 недели после ее начала рекомендуется определение вирусной нагрузки ВИЧ в СМЖ для оценки вирусологической эффективности антиретровирусной терапии в ткани ЦНС. Результаты исследования могут быть показанием к определению профиля фармакорезистентности ВИЧ в СМЖ, если обнаружено отсутствие супрессии ВИЧ в образце СМЖ через 6 месяцев после начала терапии.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Особенности патогенеза ВИЧ-ассоциированных неврологических расстройств остаются недостаточно изученными. Отсутствует диагностический алгоритм и система мониторинга нейрокогнитивных нарушений у ВИЧ-инфицированных больных. Учитывая медленную положительную динамику

нейрокогнитивных нарушений у больных на фоне ВААРТ и возможные отличия в пенетрации антиретровирусных препаратов через гематоэнцефалический барьер, существует потребность в разработке алгоритма оценки вирусологической эффективности ВААРТ в ткани ЦНС. Для решения этой проблемы необходимо провести проспективное исследование с изучением парных образцов крови и СМЖ у больных в динамике до и на фоне ВААРТ. Информативным может оказаться определение в образцах СМЖ уровней цитокинов, неоптерина, нейрофиламентов, концентрации антиретровирусных препаратов.

Список сокращений

АРВП – антиретровирусные препараты
 ВААРТ – высокоактивная антиретровирусная терапия
 ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
 ДИ – доверительный интервал
 СМЖ – спинномозговая жидкость
 СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
 ЦНС – центральная нервная система
 AUC – Area Under The Curve (площадь под ROC-кривой)
 CRF – Circulating Recombinant Form (циркулирующая рекомбинантная форма)
 OR – Odds Ratio (отношение шансов)
 ROC-кривая – Receiver Operating Characteristic (кривая взаимной зависимости вероятностей ложноположительных и истинно положительных результатов)

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК

[1] Петрова, Л.В. Проблема резистентности к антиретровирусным препаратам в терапии ВИЧ-инфекции и результаты ее определения у ВИЧ-инфицированных больных по материалам ГИБ № 30 имени С.П.Боткина/ Л.В.Петрова, Н.Е.Дементьева, А.А.Яковлев// Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11: Медицина. — 2008. — №2. — С.59–67. (0,7 п.л.)

[2] Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга/ Н.Е.Дементьева, Н.В.Сизова, З.Н.Лисицина, В.А.Маклакова, Л.И.Крутицкая, Н.А.Беляков// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2011. — Т.3, №4. — С.34–43. (0,8 п.л.)

[3] Определение ВИЧ и его генотипов в спинномозговой жидкости/ Н.Е.Дементьева, Н.В.Фоменкова, О.Н.Леонова, А.С.Шеломов, Н.А.Беляков// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2011. — Т.3, №4. — С.96. (0,1 п.л.)

[4] Дементьева, Н.Е. Особенности репликации и компартиментализации ВИЧ в ЦНС/ Н.Е.Дементьева, А.С.Шеломов// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т.4, №4. — С.132–133. (0,1 п.л.)

[5] Механизмы поражения головного мозга при ВИЧ-инфекции/ Н.А.Беляков, С.В.Медведев, Т.Н.Трофимова, В.В.Рассохин, Н.Е.Дементьева, А.С.Шеломов// Вестник Российской академии медицинских наук. — 2012. — №9. — С.4–12. (1,3 п.л.)

[6] Моделирование и общие закономерности циркуляции субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ/ Н.А.Беляков, В.В.Розенталь, Н.Е.Дементьева, Т.Н.Виноградова, Н.В.Сизова// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т.4, №2. — С.7–18. . (0,9 п.л.)

[7] Эффективность химиопрофилактики и исследование фармакорезистентности ВИЧ у инфицированных беременных женщин/ А.В.Самарина, М.М.Мартirosян, Н.В.Сизова, Н.Е.Дементьева, Н.А.Беляков // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т.4, №3. — С.28–34. (0,8 п.л.)

[8] Выбор методов нейropsychологической, клинической и инструментальной диагностики ВИЧ-обусловленных нейрокогнитивных расстройств/ В.В.Рассохин, Т.Д.Сизова, Н.Е.Дементьева, Е.А.Громова, Т.Н.Трофимова, О.Е.Гурская, Н.А.Беляков// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2013. — Т.5, №1. — С.42–53. (1,3 п.л.)

[9] Клиническое значение парного определения ВИЧ-1 у больных в крови и цереброспинальной жидкости / Е. В. Степанова, О. Н. Леонова, А. С. Шеломов, Н. В. Фоменкова, Н.Е.Дементьева, Н. А. Беляков // Журнал инфектологии. — 2013. — Т.5, №1. — С.55–62. (0,8 п.л.)

Учебные и учебно-методические пособия

[10] Дементьева, Н.Е. Этапы лабораторной диагностики и организации мониторинга ВИЧ-инфекции/ Н.Е.Дементьева, Л.И.Крутицкая, З.Н.Лисицина// Вирус иммунодефицита человека - медицина: руководство для врачей/ Под ред. Н.А.Белякова, А.Г.Рахмановой. — СПб:Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. — С.489–522. (2,5 п.л.)

[11] Лисицина, З.Н. Лабораторная диагностика и оценка иммунного статуса у беременных женщин и детей/ З.Н.Лисицина, Н.Е.Дементьева, Л.И.Крутицкая// Женщина, ребенок и ВИЧ/ Под ред. Н.А.Белякова, Н.Ю.Рахманиной, А.Г.Рахмановой. — СПб: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. — С.279–312. (2,7 п.л.)

[12] Риски заражения плода и ребенка ВИЧ/ Е.В.Степанова, А.В.Самарина, Н.В.Сизова, Н.Е.Дементьева, М.М.Мартirosян // Женщина, ребенок и ВИЧ/ Под ред. Н.А.Белякова, Н.Ю.Рахманиной, А.Г.Рахмановой. — СПб: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. — С.99–130. (2,5 п.л.)

[13] Эпидемиология ВИЧ-инфекции/ Н.А.Беляков, Т.Н.Виноградова, Н.Е.Дементьева, В.Е. Жолобов, О.В.Пантелеева// Женщина, ребенок и ВИЧ/ Под ред. Н.А.Белякова, Н.Ю.Рахманиной, А.Г.Рахмановой. — СПб: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. — С.17–44. (2,2 п.л.)

Публикации в других изданиях

[14] Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции в Санкт-Петербурге/ Н.Е.Дементьева, Н.В.Сизова, З.Н.Лисицина, Н.А.Беляков// Медицинский академический журнал. — 2012. — Т.12, №2. — С.97–104. (0,6 п.л.)

[15] Дементьева, Н.Е. Первый опыт оценки вирусной нагрузки, определения генотипа ВИЧ и количества CD4-клеток в спинномозговой жидкости/ Н.Е.Дементьева, З.Н.Лисицина, Л.И.Крутицкая// Сборник тезисов III

Международного симпозиума "Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии". — СПб, 2011. — С.94. (0,1 п.л.)

[16] Анализ циркулирующих субтипов ВИЧ и передающейся лекарственной устойчивости у пациентов с ВИЧ в Санкт-Петербурге/ Н.Е.Дементьева, З.Н.Лисицина, Л.И.Крутицкая, Н.В.Сизова, Н.А.Беляков// Сборник тезисов Юбилейной всероссийской научной конференции "Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные направления развития и новые технологии в диагностике и профилактике болезней человека". — СПб, 2012. — С.78. (0,1 п.л.)

[17] Взгляд эпидемиологов, генетиков и математиков на развитие эпидемии ВИЧ-инфекции/ Н.А.Беляков, Т.Н.Виноградова, Н.Е.Дементьева, В.В.Розенталь, О.В.Пантелеева// Сборник тезисов Юбилейной всероссийской научной конференции "Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные направления развития и новые технологии в диагностике и профилактике болезней человека". — СПб, 2012. — С.74. (0,1 п.л.)

[18] Распространенность резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Санкт-Петербурге у больных, получающих высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ)/ Н.Г.Захарова, А.Н.Виноградова, Н.Е.Дементьева, О.В.Калыгина// Альманах "Инфекционные болезни - 2007 г." / Под. ред. А. А. Яковлева и А. Г. Рахмановой. — СПб: НИИХ, 2008. — С.98–100. . (0,2 п.л.)