



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνω-



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η μετάλλαξη M184V/I και αντοχή στην αντιρετροϊκή αγωγή

POST GRADUATE THESIS

Mutation M184V/I and resistance to antiretroviral therapy

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Μάρκος Λημναίος

Markos Limnaios

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Απόστολος Μπελούκας

Apostolos Beloukas

Aigaleo/Αιγάλεω 2024



Faculty of Health and Caring Professions

Department of Biomedical Sciences

Postgraduate program:

Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

Mutation M184V/I and resistance to antiretroviral therapy

MARKOS LIMNAIOS

dml21014

limnmark@gmail.com

FIRST SUPERVISOR

APOSTOLOS BELOUKAS

SECOND SUPERVISOR

PETROS KARKALOUSOS

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 10/02/2024

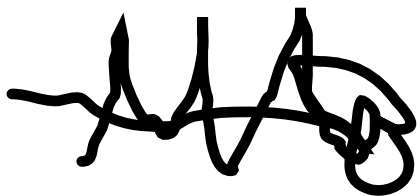
	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Απόστολος Μπελούκας	
2 ^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Μάρκος Λημναίος του Αλεξάνδρου, με αριθμό μητρώου 21014 φοιτητής του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών

Μάρκος Λημναίος



Ευχαριστίες

Ευχαριστώ τον Καθηγητή μου Απόστολο Μπελούκα Αναπληρωτή Καθηγητή Μοριακής Μικροβιολογίας και Ιολογίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και του Πανεπιστημίου του Λίβερπουλ (*Honorary Senior Lecturer*), Διευθυντή του θεσμοθετημένου Ερευνητικού Εργαστηρίου Μοριακής Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών και Επιστημονικά Υπεύθυνο της Μονάδας Εργαστηριακής επιτήρησης HIV/AIDS λοίμωξης και ιογενών ηπατιτίδων, όπου εντάσσεται και το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Νοτίου Ελλάδος για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση του στην εκπόνηση της εργασίας μου, καθώς επίσης ευχαριστώ θερμά και τον β'επιβλέποντα μου Πέτρο Καρκαλούσο, Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και επιθεωρητή ποιότητας (ISO 15189, ISO 17025) στο Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (ΕΣΥΔ) για τις σημαντικές και έγκαιρες διορθώσεις του σε όλη την πορεία της εργασίας μου.

Επίσης θερμές ευχαριστίες στον Διευθυντή του ΠΜΣ Αναστάσιο Κριεμπάρδη Αναπληρωτή Καθηγητή στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, Διευθυντή του Ερευνητικού Εργαστηρίου Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία-HemQcR του Τομέα Ιατρικών Εργαστηρίων για την στήριξη του από την αρχή μέχρι το τέλος του προγράμματος.

Επιπροσθέτως, ευχαριστώ την οικογένεια μου για την στήριξη της στην όλη πορεία της διατριβής μου, που με τόση προθυμία και ενδιαφέρον μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα. Η υπερπολύτιμη και έμπρακτη βοήθεια της αποτέλεσε ακρογωνιαίο λίθο για την ευδόκιμη ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Τέλος, είμαι ευγνώμων σε όλα τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής για την προσεκτική ανάγνωση της εργασίας μου και για τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

*Αφιερώνεται στη μνήμη
της πολυαγαπημένης μου μητέρας Στέλλας,
αλλά και σε όλους όσους ήταν δίπλα μου
στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής*

Περίληψη

Ο ιός HIV-1, που εμφανίζει συνεχείς προκλήσεις στην παγκόσμια δημόσια υγεία, εντείνει ακόμα περισσότερο τον κίνδυνο λόγω εμφάνισης της μετάλλαξης M184V/I. Αυτή η μετάλλαξη, ευρέως γνωστή για τον ρόλο της στην αντοχή στα αντιρετροϊκά φάρμακα, απαιτεί περαιτέρω κατανόηση της δυναμικής της και των επιπτώσεών της στην αποτελεσματική διαχείριση της νόσου. Σε αυτήν τη σφαιρική βιβλιογραφική ανασκόπηση, εξετάζουμε τον επιπολασμό της μετάλλαξης M184V/I σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές και κατηγορίες ατόμων που ζουν με τον ιό HIV-1, προσφέροντας μια εκλεπτυσμένη προοπτική για τη σημασία της.

Ο HIV-1, ενώ διαχειρίζεται αποτελεσματικά με αντιρετροϊκά φάρμακα, λόγω της μετάλλαξης M184V/I, συνιστά απειλή αντοχής. Στη Λατινική Αμερική, όπου ο επιπολασμός της μετάλλαξης στη μεταδιδόμενη αντοχή έχει χαμηλό ποσοστό (1%), αναρριχάται σημαντικά στο 55% στα άτομα υπό αντιρετροϊκή αγωγή (επίκτητη αντοχή). Παρομοίως, στη Νοτιοανατολική Ασία, η εμφάνιση της μετάλλαξης στη μεταδιδόμενη αντοχή ανέρχεται σε 1%, αλλά αυξάνεται σημαντικά στο 50% στα άτομα υπό αγωγή. Σε χώρες υψηλού εισοδήματος, όπως η Βόρεια Αμερική και η Ευρώπη, η μετάλλαξη M184V/I εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά σε νέες λοιμώξεις HIV (1%-2%), αλλά αυξάνεται εντυπωσιακά στα άτομα υπό θεραπεία, σε ποσοστό να κυμαίνεται από 49% έως 87%. Η Μέση Ανατολή και η Βόρεια Αφρική αναφέρουν 1% επιπολασμό στη μεταδιδόμενη αντοχή, φτάνοντας το 41% σε άτομα υπό αγωγή. Παγκοσμίως, η μετάλλαξη M184V στη μεταδιδόμενη αντοχή είναι 1%, ενώ σε άτομα υπό αγωγή κυμαίνεται από 42% έως 71%, με τη Βραζιλία να ξεχωρίζει με 65,53%. Η μετάλλαξη M184V συντελεί σημαντικά στην αντοχή στα αντιρετροϊκά φάρμακα, υπογραμμίζοντας τη σημασία της παρακολούθησης και προσαρμογής της θεραπείας. Η έντονη αύξηση της μετάλλαξης σε περιοχές όπως η Κίνα αναδεικνύει την ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση. Η μελέτη του παγκόσμιου επιπολασμού της μετάλλαξης M184V παρέχει σημαντικές πληροφορίες για επαγγελματίες υγείας και ερευνητές, καθοδηγώντας τη βέλτιστη θεραπεία HIV-1 και τη διαχείριση της αντοχής στα φάρμακα.

Συμπερασματικά, η εξέλιξη της μετάλλαξης M184V στο γονιδίωμα του HIV-1 αντικατοπτρίζει τη δυναμική του ιού και τις προκλήσεις που αντιμετωπίζει η παγκόσμια κοινότητα υγείας στη θεραπεία του HIV-1. Ο ανόμοιος επιπολασμός της μετάλλαξης ανά γεωγραφικές περιοχές και μεταξύ νεοδιαγνωσθέντων ατόμων και ατόμων υπό θεραπεία, υποδηλώνουν την ανάγκη προσαρμογής των φαρμακευτικών προσεγγίσεων. Η πρόοδος στην επιστήμη και η κατανόηση των μηχανισμών αντοχής είναι απαραίτητες για τη διαμόρφωση πιο αποτελεσματικών και εξατομικευμένων θεραπευτικών στρατηγικών. Συνιστάται η παγκόσμια κοινότητα να προωθήσει συλλογικά την έρευνα για την κατανόηση της δυναμικής της μετάλλαξης M184V/I και να προτείνει νέες προσεγγίσεις για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της φαρμακευτικής αντοχής. Η εξατομίκευση της θεραπείας, λαμβάνοντας υπόψη χωρικές και κοινωνικές διαφορές, είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων και την επίτευξη της ιικής καταστολής. Η συνεχής παρακολούθηση της μετάλλαξης M184V/I είναι απαραίτητη για την κατανόηση των προκλήσεων σε παγκόσμια κλίμακα, συνιστώντας την έρευνα και συνεργασία μεταξύ κλινικών ομάδων, εθνικών υγειονομικών αρχών και διεθνών οργανισμών, με σκοπό αποτελεσματικές πολιτικές και θεραπευτικές στρατηγικές για ένα υγιές μέλλον.

Λέξεις κλειδιά: HIV-1, αντιρετροϊκά φάρμακα, αντιρετροϊκή αγωγή, μετάλλαξη M184V/I, φαρμακευτική αντοχή, παγκόσμιος επιπολασμός

Abstract

The global impact of HIV-1, a virus that has posed persistent challenges to public health, is further complicated by the emergence and prevalence of the M184V mutation. This mutation, known for its role in antiretroviral drug resistance, demands a comprehensive understanding of its dynamics and implications for effective disease management. In this extensive literature review, we delve into the prevalence of the M184V mutation across diverse geographical regions and different categories of individuals with HIV-1, offering a nuanced perspective on its significance.

HIV-1, a virus that has affected millions worldwide, is effectively managed with antiretroviral drugs. However, the development of drug resistance, specifically the M184V mutation, poses a direct threat to treatment efficacy. In Latin America, where M184V prevalence in transmitted resistance is 1%, this figure dramatically rises to 55% among individuals undergoing antiretroviral treatment. Similarly, Southeast Asia reports a 1% prevalence in transmitted resistance, spiking to 50% in treated individuals. High-income regions such as North America and Europe exhibit lower M184V rates in new HIV cases (1%-2%), but the prevalence surges impressively in treated individuals, ranging from 49% to 87%. The Middle East and North Africa witness a 1% prevalence in transmitted resistance, reaching 41% in treated individuals. Globally, M184V prevalence in transmitted resistance is 1%, while in treated individuals, it fluctuates between 42% and 71%, with Brazil notably standing out at 65.53%. The M184V mutation significantly contributes to antiretroviral drug resistance, underscoring the importance of therapy monitoring and adaptation. The gradual rise of this mutation in regions like China emphasizes the need for continuous surveillance. Understanding the global prevalence of the M184V mutation provides vital insights for healthcare professionals and researchers, guiding optimal HIV-1 therapy and drug resistance management.

In conclusion, the evolution of M184V prevalence in the HIV-1 genome reflects the virus's dynamics and the challenges faced by the global health community in antiretroviral ther-

apy. Diverse mutation rates in different regions and between newly diagnosed and treated individuals highlight the necessity of adapting clinical approaches. Progress in science and understanding resistance mechanisms is crucial for formulating more effective and personalized therapeutic strategies. The global community must collaboratively promote research understanding the dynamics of the M184V/I mutation, proposing novel approaches to address drug resistance effectively. Personalized treatment, accounting for spatial and social differences, is vital for improving outcomes and achieving sustainable HIV-1 management. Continuous monitoring of M184V epidemiology is key to grasping challenges on a global scale, fostering research collaboration among clinical teams, national health authorities, and international organizations, ultimately advancing policies and therapeutic strategies for a healthier future.

Keywords: HIV-1, antiretroviral drugs, antiretroviral therapy, M184V/I mutation, drug resistance, global prevalence

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες.....	v
Περίληψη.....	vii
Abstract.....	ix
Συνομογραφίες.....	xiii
Πρόλογος.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.1 Η γενετική του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας.....	2
1.1.1 Η προέλευση των ιών.....	2
1.1.2 Ιοί – Δομή και συστήματα ταξινόμησης των ιών.....	3
1.1.3 Ταξινόμηση του HIV-1.....	4
1.1.4 Δομή και γονιδίωμα του HIV-1.....	8
1.1.5 Κύκλος ζωής του ιού HIV-1.....	10
1.1.6 Γονιδιακή περιοχή <i>pol</i>	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - Μοριακή επιδημιολογία του HIV-1.....	13
2.1 Παγκόσμια κατανομή.....	13
2.2 Ευρωπαϊκή κατανομή υποτύπων.....	17
2.3 Κατανομή υποτύπων στην Ελλάδα.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – Μετάδοση και παθογένεση του ιού HIV-1.....	19
3.1 Μετάδοση του HIV-1.....	19

3.2 Παθογένεση του ιού HIV-1	19
3.3 Κλινική πορεία της λοίμωξης με τον ιό HIV-1.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - Αντιρετροϊκή θεραπεία κατά του HIV-1 και η μετάλλαξη M184V/I.....	22
4.1 Αντιρετροϊκή θεραπεία	22
4.2 Αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία	23
4.3 Μεταλλάξεις στην Αντίστροφη Μεταγραφάση του HIV-1.....	25
4.4 Χαρακτηριστικά της μετάλλαξης M184V/I και αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία	27
4.5 Αλληλεπίδραση της μετάλλαξης M184V/I σε RT με άλλα φάρμακα και αντοχές που δίνουν μεταλλάξεις	28
4.6 Μέθοδοι για τον Εντοπισμό της Μετάλλαξης M184V/I στον HIV-1	29
4.7 Επιπολασμός της μετάλλαξης M184V	30
5. Συζήτηση	32
6. Επίλογος.....	33
7. Βιβλιογραφία.....	34

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Ιός Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome	Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (ΣΕΕΑ)
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
RNA	Ribonucleic acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
PR	Protease	Πρωτεάση
RT	Reverse transcriptase	Αντίστροφη μεταγραφάση
INT	Integrase	Ιντεγκράση
ART	Anti-retroviral therapy	Αντιρετροϊκή θεραπεία
DRMs	Drug Resistance Associated Mutations	Μεταλλάξεις που προσδίδουν αντοχή σε αντιρετροϊκή θεραπεία
PIs	Protease Inhibitors	Αναστολείς πρωτεάσης
NRTIs	Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors	Νουκλεοσιδικοί αναστολείς αντίστροφης μεταγραφάσης
NNRTIs	Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors	Μη νουκλεοσιδικοί αναστολείς αντίστροφης μεταγραφάσης
INSTIs	Integrase Strand Transfer Inhibitors	Αναστολείς ιντεγκράσης (μεταφοράς κλώνου)
PCR	Polymerase chain reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
Nested-PCR	Nested polymerase chain reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση ένθετης πολυμεράσης (φωλεακή)
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής
CRFs	Circulated recombinant forms	Κυκλοφορούσες ανασυνδυασμένες μορφές
URFs	Unique recombinant forms	Μοναδικές ανασυνδυασμένες μορφές

gag	Group specific antigens	Πολυπρωτεΐνη gag
pol	Polymerase	Πολυπρωτεΐνη Pol
env	Envelope	Πολυπρωτεΐνη env
CCR5	C-C chemokine receptor type 5	Υποδοχέας χημειοκινών C-C τύπου 5
CXCR4	C-X-C chemokine receptor type 4	Υποδοχέας χημειοκινών C-X-C τύπου 4
PrEP	Pre-exposure prophylaxis	Προφύλαξη πριν την έκθεση
cART	Combined antiretroviral therapy	Συνδυαστική αντιρετροϊκή θεραπεία
A	Adenine	Αδερίνη
T	Thymine	Θυμίνη
G	Guanosine	Γουανοσίνη
C	Cysteine	Κυτοσίνη
YMDD	Tyrosine, Methionine, Aspartic acid (x2)	Τυροσίνη, Μεθειονίνη, Ασπαρτικό οξύ (x2)
ADR	Acquired Drug Resistance	Επίκτητη ανοχή
TDR	Transmitted Drug Resistance	Μεταδιδόμενη ανοχή
ssRNA	Single-stranded RNA	Μονόκλωνο RNA
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses	Διεθνής Επιτροπή για την Ταξινόμηση των Ιών
SIV	Simian Immunodeficiency Virus	Ιό της Ανοσοανεπάρκειας των Πιθηκοειδών
HLAs	Human Leukocyte Antigens	Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα
MA	Matrix protein	Πρωτεΐνη μήτρας
CA	Capsid protein	Πρωτεΐνη καψιδίου
NC	Nucleocapsid	Νουκλεοκαψίδιο
NGS	Next Generation Sequencing	Αλληλούχηση επόμενης γενιάς
I	Isoleukine	Ισολευκίνη
V	Valine	Βαλίνη
MSM	Men who have sex with men	Άνδρες που κάνουν σεξ με άνδρες (ΑΣΑ)
IDUs	Injection drug users	Χρήστες ενδοφλεβίων ναρκωτικών ουσιών (ΧΕΝ)

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική βιβλιογραφική εργασία εκπονήθηκε κατά την ακαδημαϊκή περίοδο 2022-2023, στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος με τίτλο «Βιοϊατρικές Μέθοδοι και Τεχνολογία στην Διάγνωση» του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Η εργασία πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Μοριακής Μικροβιολογίας και Ιολογίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και του Πανεπιστημίου του Λίβερπουλ Απόστολου Μπελούκα.

Αντικείμενο της εργασίας αποτελεί η μετάλλαξη M184V/I που συναντάται στο γονίδιο της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (Human Immunodeficiency Virus type 1, HIV-1), ο οποίος προκαλεί το σύνδρομο της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS), και η αντοχή που επιφέρει η εν λόγω μετάλλαξη έναντι των αντιρετροϊκών φαρμάκων που στοχεύουν στο κωδικόνιο 184.

Αρχικά, θα γίνει μία εισαγωγή στους ιούς με επίκεντρο τον HIV παρουσιάζοντας βασικά χαρακτηριστικά του γονιδιώματος και του κύκλου ζωής του και των τρόπων μετάδοσης. Επιπρόσθετα, θα σχολιαστούν οι υπότυποι (CRFs) του HIV-1 που συναντώνται ανά τον κόσμο. Θα γίνουν ιδιαίτερες αναφορές στο μεταβολικό και γενετικό προφίλ των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV και φέρουν τη μετάλλαξη καθώς και στις κλινικές εκδηλώσεις των ατόμων αυτών. Επιστημονικές μελέτες σε φάρμακα και συνδυασμούς φαρμάκων θα αναφερθούν στην εργασία καθώς και οι μεταλλάξεις αντοχής που αναστέλλουν τη δράση αυτών των φαρμάκων, συνοδευόμενες από βιβλιογραφικές αναφορές που αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα ή μη της αγωγής κυρίως στον ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Επίσης, συμπεριλαμβάνονται μελέτες στις οποίες αναφέρονται εργαστηριακές τεχνικές για την εύρεση της μετάλλαξης M184V/I καθώς και μελέτες εκτίμησης του επιπολασμού της μετάλλαξης παγκοσμίως. Οι πηγές αντλούνται από το διαδίκτυο και στόχος της εργασίας είναι η ανάδειξη όλων των παραπάνω.

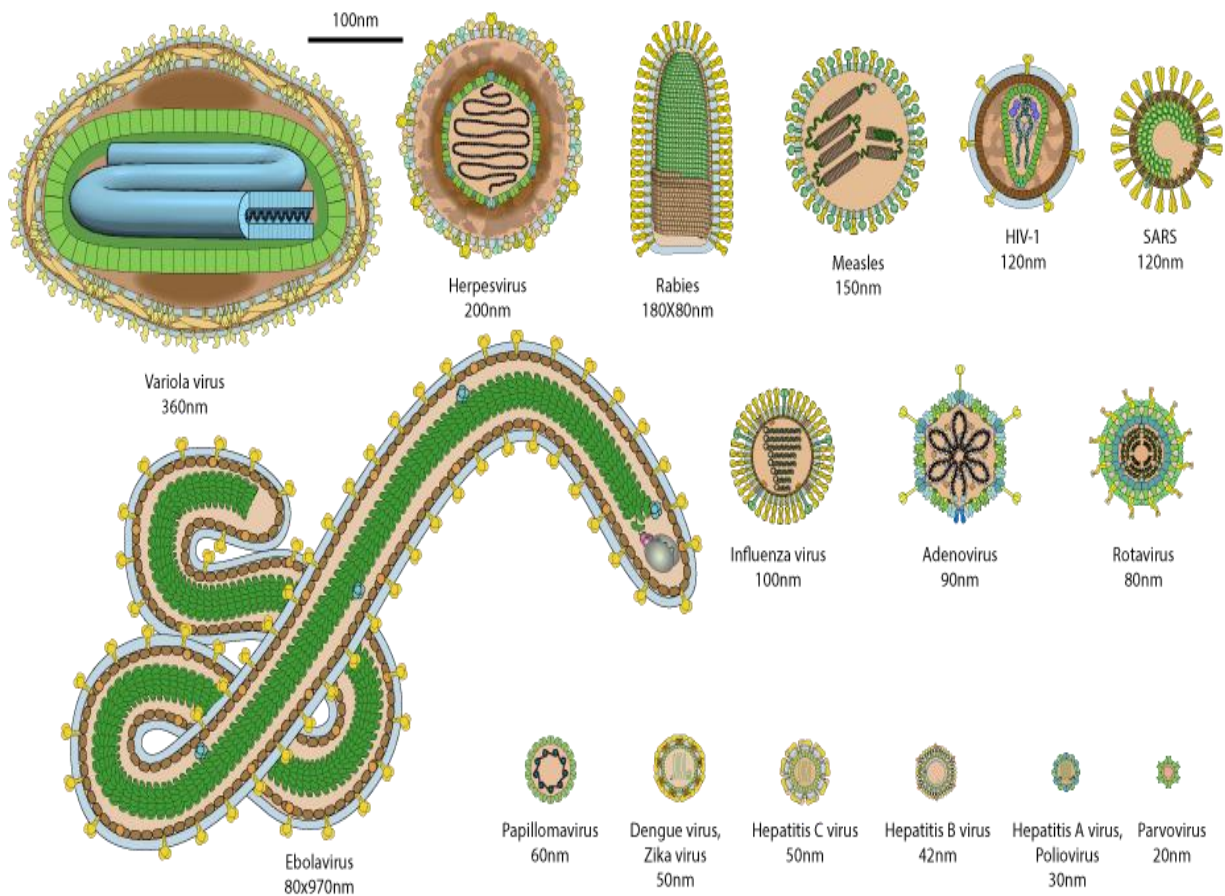
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η γενετική του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας

1.1.1 Η προέλευση των ιών

Υπάρχουν τρεις κύριες θεωρίες σχετικά με την προέλευση των ιών. Σύμφωνα με τη θεωρία της παλινδρόμησης ή σμίκρυνσης, αρχικά οι ιοί αναπτύσσονταν ως μικρά κύτταρα παρόμοια με βακτήρια, όπως τα *Chlamydia*. Μετά από μόλυνση μεγαλύτερων κυττάρων, τα προ-ϊικά κύτταρα έχασαν τη μεταβολική και αναπαραγωγική τους ικανότητα. Ως επακόλουθο, μεταβαίνουν σε αδράνεια έξω από το κυτταρικό περιβάλλον και εξαρτώνται αποκλειστικά από τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια των ξενιστών για την αναπαραγωγή τους. Η θεωρία της διαφυγής ή κυτταρική θεωρία υποστηρίζει ότι κινητά στοιχεία, όπως τα ρετρο-τρανσποζόνια, απέκτησαν γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα και πρωτεΐνες του καψιδίου. Έτσι, κατάφεραν να διαφύγουν από το αρχικό κυτταρικό περιβάλλον και να επάγουν τη μεταφορά και αναπαραγωγή τους εντός άλλων κύτταρα. Η τρίτη θεωρία, η θεωρία της συνεξέλιξης ή πρωταρχικού ιού, υποστηρίζει ότι ιοί και κύτταρα εξελίχθηκαν παράλληλα (Nasir et al., 2012).

Οι θεωρίες της παλινδρόμησης και της διαφυγής προϋποθέτει ομοιότητα μεταξύ γονιδίων που κωδικοποιούν ιικές δομικές πρωτεΐνες και κυτταρικών γονιδίων. Ωστόσο, αυτή η ομοιότητα απουσιάζει, εκτός από τα κυτταρικά γονίδια που έχουν ενσωματωθεί σε υπάρχοντες ιούς. Παρόλα αυτά, τα ιικά γονίδια αναπαραγωγής και τα σύγχρονα κύτταρα μοιράζονται ένα μακρινό πρόγονο. Σύμφωνα με τη θεωρία της συνεξέλιξης, οι ιοί των τριών βασικών επικρατειών της ζωής (Αρχαία, Βακτήρια, Ευκαρυώτες) θα έπρεπε να έχουν γενετική ομοιότητα με τους ξενιστές τους και να διαφέρουν από τους ιούς που μολύνουν τις άλλες επικράτειες. Αν και αυτή η θεωρία δεν συμβαδίζει απόλυτα με τα γενετικά δεδομένα, υπάρχουν στοιχεία ιικής μόλυνσης, καθώς οι ιοί έχουν εισβάλλει στο κυτταρικό γονιδίωμα από τις πιο πρώιμες μορφές κυτταρικής ζωής (Teri Shors, 2020).



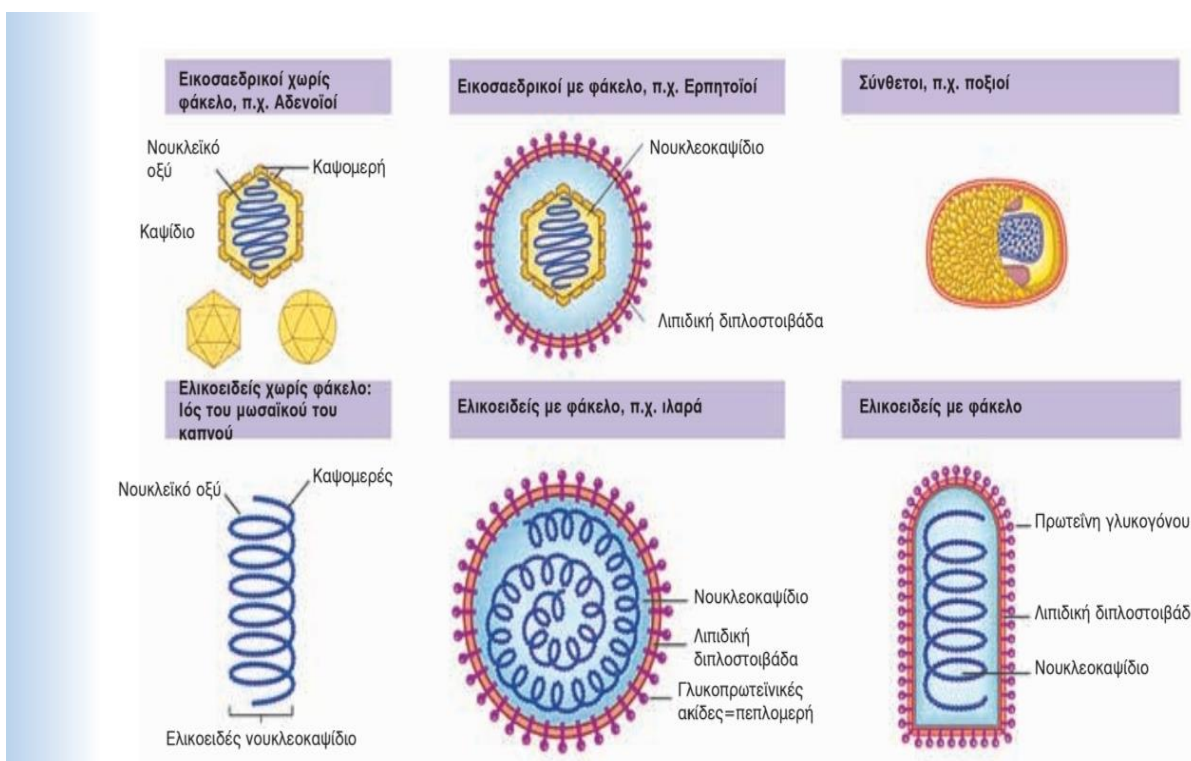
Εικόνα 1.1 Οι πιο συνηθεις ανθρωπινοι ιοί και το σχετικό τους μέγεθος (<https://viralzone.expasy.org/5216>)

1.1.2 Ιοί – Δομή και συστήματα ταξινόμησης των ιών

Οι ιοί χαρακτηρίζονται ως μικρά ενδοκυτταρικά παράσιτα με γενετικό υλικό RNA ή DNA, μονόκλωνο ή δίκλωνο, το οποίο περιβάλλεται από ένα προστατευτικό πρωτεϊνικό περίβλημα που κωδικοποιείται από τον ίδιο τον ιό. Μπορούν να χαρακτηριστούν και ως κινητά γενετικά στοιχεία, πιθανόν κυτταρικής προέλευσης, ως αποτέλεσμα μιας μακροχρόνιας σχέσης με τον οργανισμό που τους φιλοξενεί. Για τον πολλαπλασιασμό τους, εξαρτώνται από κύτταρα ξενιστές που παρέχουν τον πολύπλοκο μεταβολικό και βιοσυνθετικό μηχανισμό των κυττάρων του φιλοξενούντος οργανισμού (Gelderblom, 1996).

Ένα ολοκληρωμένο ιόσωμα περιέχει το DNA ή RNA γονιδίωμά του, το οποίο μεταφέρεται στο κύτταρο ξενιστή, με σκοπό την αντιγραφή, μεταγραφή και έκφρασή του. Το γονιδίωμα του ιού, που συνήθως συνοδεύεται από βασικές ιικές πρωτεΐνες, συναρμολογείται σε ένα συμμετρικό πρωτεϊνικό καψίδιο. Το νουκλεοκαψίδιο, που αποτελείται από το γονίδιο και τη

νουκλεοπρωτεΐνη, δημιουργεί τον πυρήνα του ιού. Στους ιούς με φάκελο, το νουκλεοκαψίδιο περιβάλλεται από λιπιδική διπλοστιβάδα που προέρχεται από τη μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή, ενώ εξωτερικά του φακέλου εκτείνονται ιικές γλυκοπρωτεΐνες. Κατηγοριοποιούνται βάσει ποικίλων παραγόντων, ανάλογα με το μέγεθος, το σχήμα, τη χημική σύνθεση, τη δομή του γονιδιώματος και τον τρόπο αντιγραφής. Η ελικοειδής μορφολογία παρατηρείται σε νουκλεοκαψίδια πολλών νηματωδών και πολυμορφικών ιών, ενώ η εικοσαεδρική μορφολογία είναι χαρακτηριστική πολλών σφαιρικών ιών (Gelderblom, 1996; Vogt, 1997).



Εικόνα 1.2 Βασικοί τύποι ιικής συμμετρίας. (Shors, Teri. Ιολογία - Εξερευνώντας τους ιούς. Broken Hill Publishers Ltd, 2020)

1.1.3 Ταξινόμηση του HIV-1

Η δομή του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) τον κατατάσσει στην κατηγορία των ιών με εικοσαεδρική συμμετρία, σύμφωνα με τη μορφολογική ταξινόμηση. Όσον αφορά τη γενετική του δομή, ανήκει στους ιούς με μονόκλωνο RNA, που έχουν γραμμικό γονιδίωμα και θετική πολικότητα [(+)ssRNA - positive-sense single-stranded RNA]. Η επίσημη κατάταξη του HIV γίνεται από τη Διεθνή Επιτροπή για την Ταξινόμηση των Ιών (ICTV) (Zerbini et al., 2023). Σύμφωνα με τα δεδομένα του 2020, η κατάταξη αυτή εφαρμόζεται ειδικότερα για τον HIV-1, ο

ο οποίος είναι ο κυρίαρχος τύπος που εξετάζεται στην παρούσα έρευνα, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.

Συγκεκριμένα, για την προέλευση του HIV, επιστημονικές έρευνες έχουν αποκαλύψει ότι και οι δύο τύποι, HIV-1 και HIV-2 προήλθαν από πολλαπλές μεταλλάξεις και εν συνεχεία μολύνσεις με τον Ιό της Ανοσοανεπάρκειας των Πιθηκοειδών (SIV) στην Αφρική, ειδικότερα στην Kinshasa, κατά τις αρχές της δεκαετίας του 1920. Αυτή η μετάδοση προήλθε από πρωτεύοντα θηλαστικά που φέρουν τον εν λόγω ιό (Faria et al., 2014; Sharp & Hahn, 2011). Στην παγκόσμια επιδημία του HIV, τον κύριο ρόλο παίζει ο HIV-1, ενώ ο HIV-2 παρατηρείται κυρίως στη Δυτική Αφρική (Karoor & Padival, 2022).

Πίνακας 1.1 Η κατάταξη του HIV-1 σύμφωνα με την ICTV για το 2020.

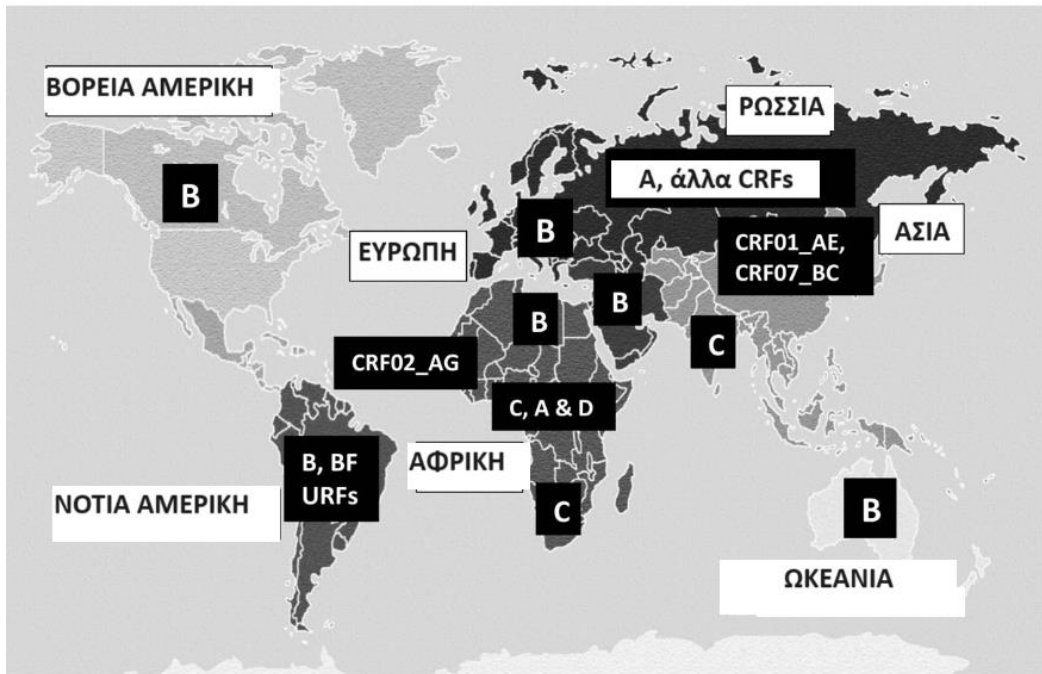
Τάξη	<i>Ortervirales</i>
Οικογένεια	<i>Retroviridae</i>
Υποοικογένεια	<i>Orthoretrovirinae</i>
Γένος	<i>Lentivirus</i>
Είδος	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
Τύπος	1

Προκαλεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον η γενετική ετερογένεια που παρουσιάζει ο ιός HIV-1, καθώς περιλαμβάνει τέσσερις τύπους και συναντάται σε διάφορες παραλλαγές υποτύπων, και εν συνεχεία υπο-υποτύπων. Αρχικά, οι τύποι του HIV-1 είναι τέσσερις και συγκεκριμένα οι N (non-major), O (outliers), P (pending) και M (major), που στον τύπο M οφείλεται και η επιδημία του AIDS παγκοσμίως. Το 90% των στελεχών που συναντώνται ανήκουν στον τύπο M, ο οποίος περιλαμβάνει τους υπότυπους A, B, C, D, F, G, H, J, και K. Οι παραπάνω υπότυποι έχουν τη δυνατότητα να ανασυνδυαστούν μεταξύ τους και να επιφέρουν νέους υπότυπους, ανασυνδυασμένους, ή αλλιώς κυκλοφορούσες ανασυνδυασμένες μορφές (Circulating Recombinant Forms -CRFs) και μοναδικές ανασυνδυασμένες μορφές (Unique Recombinant Forms-URFs). Ο ανασυνδυασμός μπορεί να προκύψει μεταξύ δύο ή παραπάνω στελεχών του ιού HIV-1 ύστερα από ταυτόχρονη λοίμωξη (συλλοίμωξη). Αυτή η ανταλλαγή γενετικής πληροφορίας συμβάλει στο μωσαϊκισμό που παρατηρείται στο γονιδίωμα του ιού και προωθεί τη γενετική ετερογένεια, καθώς οι λειτουργίες του νέου υπο-υπότυπου διαφέρουν από εκείνες

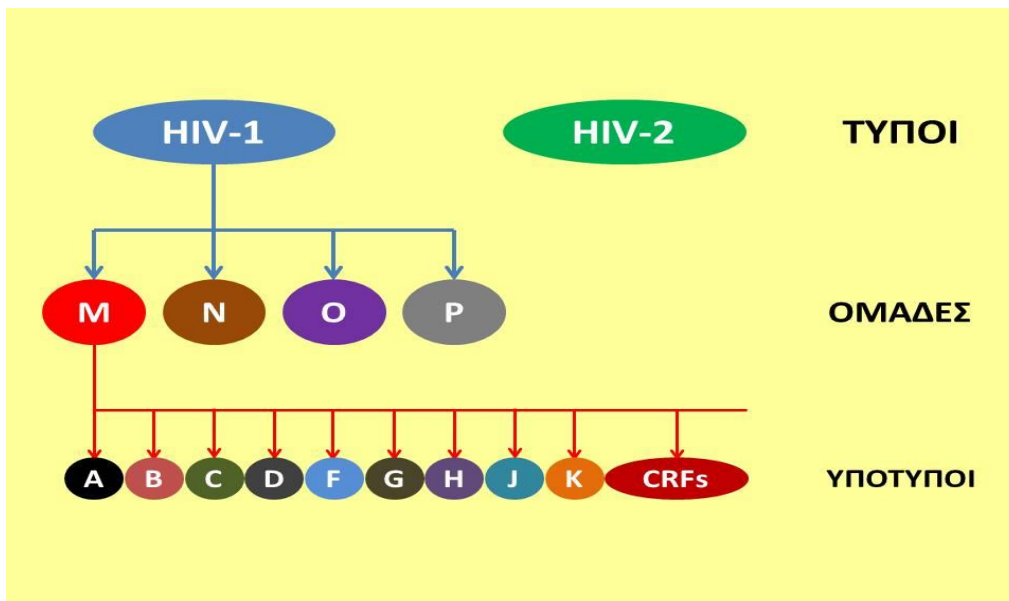
των αρχικών υπότυπων και οι νέες ιδιότητές του πιθανόν να ποικίλουν. Σημειώνεται βέβαια, πως αυτός ο ανασυνδυασμός των γενετικών περιοχών δεν ξεφεύγει σε μεγάλο βαθμό από τις βασικές αρχές λειτουργίας του HIV-1. Εάν το ανασυνδυασμένο γονιδίωμα που προκύπτει ευνοείται εξελικτικά, θα διατηρηθεί και θα μεταδοθεί στον πληθυσμό (Beloukas et al., 2016).

Κάθε χρόνο αλληλουχούνται και καταγράφονται νέοι ανασυνδυασμένοι υπότυποι από μελέτες που γίνονται ανά τον κόσμο (Cañada et al., 2021; He et al., 2022; Linchangco et al., 2022). Από το έτος 2016 που υπήρχαν καταγεγραμμένοι 70 CRFs, αναφέρονται άλλοι 32 το 2021 φτάνοντας τους 102, το 2022 υπήρχαν 118 CRFs, ενώ πλέον στη βάση δεδομένων του Εθνικού Εργαστηρίου του Los Alamos παρουσιάζονται 140 ανασυνδυασμένοι υπότυποι (<http://www.hiv.lanl.gov>). Για παράδειγμα, σε μελέτη των Lu, X. et al. περιγράφεται η ανακάλυψη ενός νέου CRF, ο οποίος είναι ανασυνδυασμός των υποτύπων CRF01_AE και B (Lu et al., 2023). Σε άλλη μελέτη από ομάδα επιστημόνων στη Βραζιλία, αναφέρονται νέες μοναδικές ανασυνδυασμένες μορφές (URFs) BF1 και CRF81_cpx και CRF99_BF1 (Reis et al., 2019).

Οι πιο κοινοί ανασυνδυασμένοι γονότυποι περιορίζονται γεωγραφικά, όπως για παράδειγμα ο CRF02_AG που συναντάται στη Δυτική Αφρική και ο CRF01_AE που είναι χαρακτηριστικό για τη Νότια και Ανατολική Ασία (Hemelaar et al., 2019; Paraskevis et al., 2019). Σε παγκόσμια κλίμακα, στους πιο διαδεδομένους υπότυπους συγκαταλέγεται ο C με ποσοστό εμφάνισης 47%, ο B σε ποσοστό 12% και ο υπότυπος A σε ποσοστό 10% (Bbosa et al., 2019a). Οι γονότυποι C, B και A υπερέχουν σε ποσοστό εμφάνισης σε ορισμένες γεωγραφικές περιοχές, όπως για παράδειγμα ο γονότυπος B χαρακτηρίζει την Ευρώπη, Αμερική και Βόρεια Αφρική, ο A είναι πιο διαδεδομένος στην Ασία και ο C συναντάται σε Νότια Αφρική και Ινδία (Hemelaar, 2012; Hemelaar et al., 2019).



Εικόνα 1.3 Παγκόσμια Κατανομή Υπότυπων HIV-1.(Bbosa et al., 2019b)



Εικόνα 1.4 Τύποι, ομάδες και υπότυποι του HIV.

Οι υποτύποι A και F χαρακτηρίζονται από περαιτέρω υπο-υπότυπους. Στην περίπτωση του υποτύπου A, περιλαμβάνονται οι A1, A2, A3, A4 και A6. Όσον αφορά τον υποτύπο F, αυτός διακρίνεται στους υπο-υπότυπους F1 και F2 (Los Alamos National Laboratory HIV

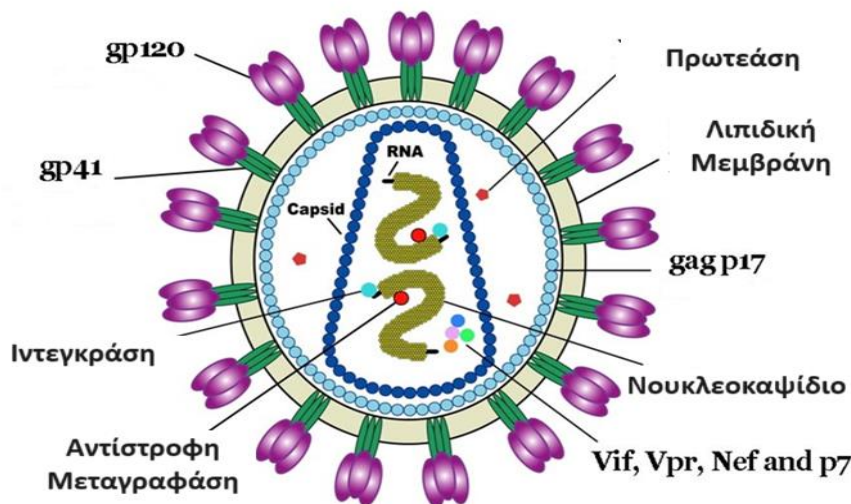
Database). Οι υποτύποι E και I περιγράφηκαν μετά από ανάλυση αλληλουχιών της γονιδιακής περιοχής του φακέλου του ιού, *env*. Ωστόσο, επιπρόσθετες αλληλουχήσεις ολόκληρου του γονιδιώματος αποκάλυψαν τον μωσαϊκισμό στη δομή τους. Ύστερα από περαιτέρω μελέτες, έγινε αντιληπτό πως ο υποτύπος E αντιστοιχεί σε έναν ανασυνδυασμό μεταξύ γονοτύπου A και E, επιφέροντας τον CRF01_AE, αλλά στοιχεία για την ύπαρξη ενός πατρικού γονότυπου E δεν έχουν βρεθεί (X. Li et al., 2017). Παρόμοια περίπτωση και αυτή του υπότυπου I, που πλέον ονομάζεται CRF04_cpx λόγω της περίπλοκης αλληλουχίας του (Paraskevic et al., 2001; Peeters et al., 2013).

Σε ό,τι αφορά την ονοματολογία, με λατινικά κεφαλαία γράμματα σημαίνονται οι υπότυποι, ενώ οι ανασυνδυασμένοι υπότυποι αναφέρονται με έναν αριθμό, αντιπροσωπεύοντας τη σειρά με την οποία αναλύθηκαν και περιεγράφηκαν. Στην ονομασία προστίθενται και άλλα δύο γράμματα του λατινικού αλφάβητου τα οποία αντιπροσωπεύουν τους αρχικούς υποτύπους οι οποίοι ανασυνδυάστηκαν ώστε να προκύψει αυτή η μωσαϊκή δομή. Για παράδειγμα, ο CRF02_AG δείχνει τον ανασυνδυασμό μεταξύ των υποτύπων A και G. Σε περίπτωση ανασυνδυασμού περισσότερων από δύο υποτύπων, χρησιμοποιείται η κατάληξη "cpx" (complex) με σκοπό να αναδείξει την περιπλοκότητα του γονοτύπου (π.χ. CRF04_cpx). Σε περίπτωση ανασυνδυασμού δύο CRFs, ο υπότυπος που προκύπτει ονομάζεται CRF δεύτερης γενιάς, με βάση τον αριθμό που αντιστοιχεί στον ανασυνδυασμένο υποτύπο και το γράμμα του δεύτερου υποτύπου ή τον αριθμό που τον περιγράφει, π.χ. ο υπότυπος CRF48_01B είναι αποτέλεσμα ανασυνδυασμού των CRF01_AE και υποτύπου B, ενώ ο CRF30_0206 έχει προέλθει από ανασυνδυασμό των CRF02_AG και CRF06_cpx (Peeters et al., 2013; Robertson et al., 1999).

1.1.4 Δομή και γονιδίωμα του HIV-1

Ένα πλήρες ιοσωμάτιο του ιού HIV-1 φέρει στο εσωτερικό του το γονιδίωμά του, το οποίο αποτελείται από δύο πανομοιότυπα γραμμικά μόρια RNA θετικής πολικότητας συνολικού μήκους 9.719 βάσεων. Τα δύο μόρια RNA περικλείονται εντός ενός πρωτεϊνικού καλύμματος, το νουκλεοκαψίδιο (nucleocapsid, NC), μέσα στο οποίο εμπεριέχονται το ένζυμο της αντίστροφης μεταγραφάσης, η ιντεγκράση, και ένα εναρκτήριο μεταφορικό RNA (tRNA) το οποίο έχει ως ρόλο τη μεταφορά του αμινοξέως λυσίνη και λειτουργεί ως εκκινητής για την έναρξη της αντίστροφης μεταγραφής (Εικόνα 1.5) (Sundquist & Kräusslich, 2012). Το νουκλεοκαψίδιο αποτελείται από 1000-1500 πρωτεϊνικά αντίγραφα τα οποία προέρχονται από τον πολυμερισμό της καψιδιακής πρωτεΐνης p24 (CA). Το νουκλεοκαψίδιο περιβάλλεται από πολυμερή της πρωτεΐνης μήτρας (matrix protein, MA), η οποία ονομάζεται έτσι διότι περιβάλλει τον ενδιάμε-

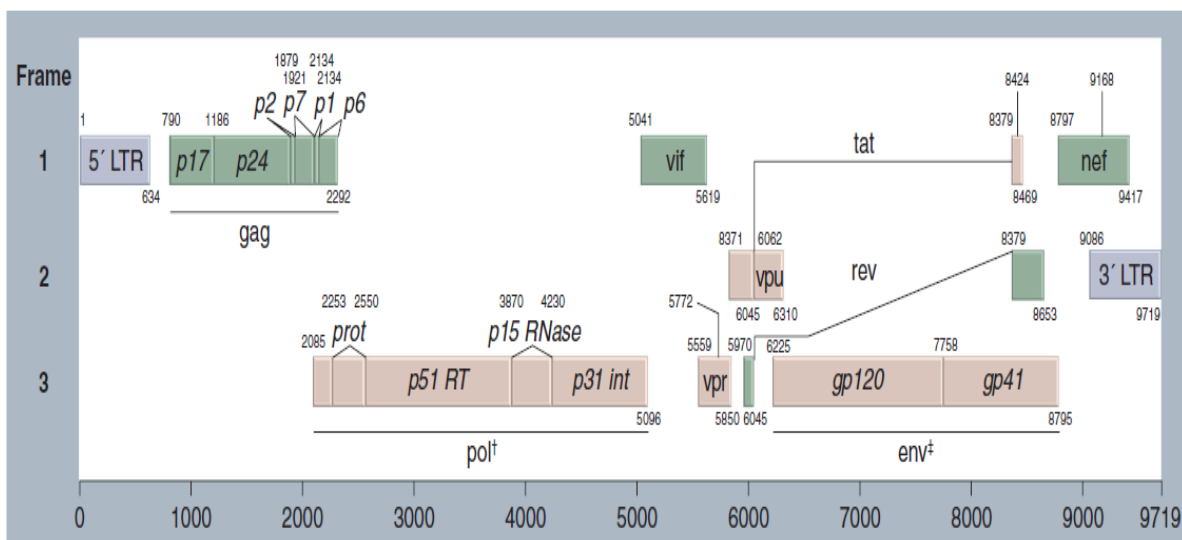
σο χώρο (μήτρα) που μεσολαβεί μεταξύ του νουκλεοκαψιδίου και αυτής, και εξωτερικά της, υπάρχει μία διπλοστιβάδα λιπιδίων που ονομάζεται φάκελος. Ο φάκελος αποτελείται από επιφανειακές και διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, τις gp120 και gp41 αντίστοιχα, με την εξωτερική επιφάνεια της gp120 να σχηματίζει ετεροδιμερές gp41 (Chen, 2016). Επιπλέον, ο φάκελος φέρει στην επιφάνειά του και πρωτεΐνες ανθρώπινης προέλευσης οι οποίες αποκτώνται κατά την εκβλάστησή του από τη μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή. Αυτές είναι πρωτεΐνες κυτταρικής προσκόλλησης (π.χ. ICAM-1) που όπως υποδηλώνει και το όνομά τους, διευκολύνουν την προσκόλληση του ιού σε άλλα κύτταρα στόχους και πρωτεΐνες του συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας των ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων (Human Leukocyte Antigens, HLAs). Συνολικά, το ιόσωμα του HIV είναι σφαιρικό και έχει διάμετρο περίπου 100nm. (Fanales-Belasio et al., 2010).



Εικόνα 1.5 Απλοποιημένη απεικόνιση του καψιδίου του HIV μετά των κυριότερων μορίων του. (<https://www.eenzyme.com/HIV-research-tools.aspx>)

Το γονιδίωμα του HIV χαρακτηρίζεται από τρεις γονιδιακές περιοχές οι οποίες οι οποίες περιέχουν επιμέρους γονίδια. Οι γονιδιακές περιοχές αρχικά μεταγράφονται και μεταφράζονται ως ένα γονίδιο και στη συνέχεια ύστερα από κατάλληλες υδρολύσεις το κάθε πρωτεϊνικό τμήμα αποκτά τη λειτουργική του μορφή. Πιο αναλυτικά, οι περιοχές κατά σειρά είναι οι Gag (Group Specific Antigen), Pol (Polymerase), και Env (Envelope). Στη γονιδιακή περιοχή Gag εδράζονται τα γονίδια που κωδικοποιούν για τις καψιδιακές πρωτεΐνες p24, p7, p6 και το γονίδιο υπεύθυνο για την πρωτεΐνη μήτρας, p17. Στη γονιδιακή περιοχή Pol εδράζονται τα

γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα του ιού, κατά σειρά την πρωτεάση, την αντίστροφη μεταγραφάση, και την ιντεγκράση. Στο γονίδιο *env*, εδράζονται οι γλυκοπρωτεΐνες του ιικού φακέλου, οι *gp120* και *gp41*. Εφόσον μεταγραφούν και μεταφραστούν αυτά τα γονίδια σε μία κοινή πολυπρωτεΐνη, η πρωτεάση *p10* του ιού η οποία βρίσκεται εντός του νουκλεοκαψιδίου θα αποκόψει τις πρωτεΐνες στα λειτουργικά τους ανάλογα (Fanales-Belasio et al., 2010; Swanson & Malim, 2008). Επιπρόσθετα των γονιδίων που αναφέρθηκαν, υπάρχουν και τα γονίδια *Vif*, *Vpr*, *Vpru*, *Nef* τα οποία έχουν βοηθητικό ρόλο και τα ρυθμιστικά γονίδια *Rev* και *Tat* (Εικόνα 1.6). Αυτά τα γονίδια συμβάλλουν και προωθούν διάφορες λειτουργικές διαδικασίες κατά τον κύκλο ζωής του HIV. Πιο συγκεκριμένα, τα γονίδια *Rev* και *Tat* τα οποία συγκαταλέγονται στις πρωτεΐνες που δεσμεύουν RNA, καθοδηγούν και ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση του γονιδιώματος του HIV εφόσον εισέλθει στο κύτταρο ξενιστή (Karn & Stoltzfus, 2012). Αξίζει να αναφερθεί η διαφορά μεταξύ HIV-1 και HIV-2, η οποία έγκειται στο γεγονός πως στον HIV-2 οι γλυκοπρωτεΐνες *gp120* και *gp41* αντικαθίστανται από τις *gp105* και *gp35*, αντίστοιχα.



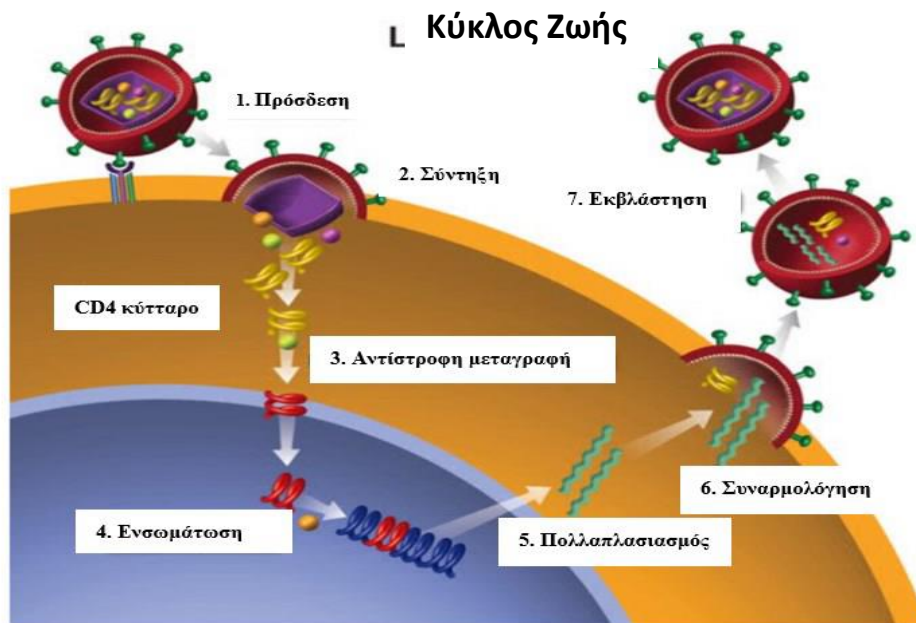
Εικόνα 1.6 Γραμμική αναπαράσταση του γονιδιώματος του HIV-1. Παρουσιάζονται οι τρεις γονιδιακές περιοχές και τα ρυθμιστικά και βοηθητικά γονίδια. (Castro-Nallar E., Crandall A. K. and Perez-Losada M. Diversity and Molecular Epi-demiology of HIV Transmission, Future Virology, 7, 239-52 2012)

1.1.5 Κύκλος ζωής του ιού HIV-1

Ο κατάλληλος ξενιστής για τον HIV είναι τα ανθρώπινα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα. Προκειμένου να εισέλθει ο ιός στο T-κύτταρο, η εξωτερική

ϊική γλυκοπρωτεΐνη του φακέλου αναγνωρίζει τον CD4 υποδοχέα και έναν συνυποδοχέα, τον CCR5, τον CXCR4, ή και τους δύο. Ο ιός, ανάλογα με τον συνυποδοχέα που αναγνωρίζει ονομάζεται HIV R5, HIV X4, ή HIV R5X4, αντίστοιχα. Αυτοί οι συνυποδοχείς είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική μόλυνση του ξενιστή, καθώς μεταλλάξεις στους υποδοχείς προσδίδουν μερική ή ακόμα και πλήρη ανοσία στον ξενιστή. Εφόσον γίνει η αναγνώριση, οι μεμβράνες ιού και ξενιστή συντήκονται και το νουκλεοκαψίδιο εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα (Chen, 2019). Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1.7, το πρώτο βήμα της μόλυνσης είναι η επαφή και η σύντηξη.

Εφόσον εισέλθει στο λεμφοκύτταρο, γίνεται απέκδυση του ιού από το νουκλεοκαψίδιο και το RNA απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα. Ύστερα, αναλαμβάνει δράση η αντίστροφη μεταγραφάση, η οποία χρησιμοποιώντας το tRNA που είναι προσδεμένο στη θέση αναγνώρισης από την πολυμεράση (PBS) πολυμερίζει αρχικά το συμπληρωματικό DNA (cDNA) χρησιμοποιώντας ως μήτρα το μονόκλωνο ιικό RNA και ύστερα ολοκληρώνει τη διαδικασία δημιουργίας του δίκλωνου ιικού DNA. Έπειτα, η ιντεγκράση καταλύει το στάδιο της ενσωμάτωσης του ιικού DNA στο DNA του κυττάρου ξενιστή, δημιουργώντας εγκοπές στα γονιδιώματα. Πλέον ο ιός είναι σε πλήρη θέση να εκμεταλλευτεί τις αναπαραγωγικές διαδικασίες του ξενιστή και να συναρμολογήσει και το νουκλεοκαψίδιό του. Για να εξέλθει από τον ξενιστή, εκβλαστώνει από τη μεμβράνη. Όταν ο ρυθμός των ισωμάτων που εκβλαστώνουν είναι αρκετά υψηλός, τότε επέρχεται η λύση του κυττάρου, για αυτό το λόγο και η ασθένεια που προκαλείται ονομάζεται σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (Aiken & Rousso, 2021; Berkhout et al., 1995).



Εικόνα 1.7 Κύκλος Ζωής του HIV-1. Εμφανίζονται τα βήματα πρόσδεσης, σύντηξης, αντίστροφης μεταγραφής, ενσωμάτωσης, πολλαπλασιασμού και συναρμολόγησης. (<https://clinicalinfo.hiv.gov/en/glossary/life-cycle>)

1.1.6 Γονιδιακή περιοχή *pol*

Σε προηγούμενη αναφορά έγινε γνωστό πως τα γονίδια του ιού HIV έχουν κοινή μεταγραφή και μετάφραση , μιας και είναι τοποθετημένα σε γονιδιακές περιοχές. Η γονιδιακή περιοχή *Pol* του ιού αποτελεί έδρα των ενζύμων πρωτεάση (PR), αντίστροφη μεταγραφάση (RT) και ιντεγκράση (INT) , οι οποίες εκτελούν όλες τις απαραίτητες λειτουργίες για την επίτευξη της παθογένειας του ιού. Ξεκινώντας με την σειρά ανεύρεσής τους, η πρωτεάση οφείλεται για τις ώριμες-λειτουργικές πρωτεΐνες του ιού, υδρολύοντας τα μη λειτουργικά πολυπρωτεϊνικά πρόδρομα που παράγονται από τις γονιδιακές περιοχές (Badaya & Sasidhar, 2020). ο μονόκλωνο RNA μετατρέπεται σε δίκλωνο DNA από τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης, με αποτέλεσμα να ενσωματώνεται στο DNA του κυττάρου ξενιστή. Η γονιδιακή περιοχή της *Pol* ολοκληρώνεται με την ιντεγκράση, η οποία φέρει καταλυτικό ρόλο για την ενσωμάτωση του δίκλωνου DNA στο γονίδιο του ξενιστή (Hill et al., 2005).

Η πρωτεάση αποτελεί το πιο σημαντικό ένζυμο-στόχο στην αντιρετροϊκή θεραπεία, υδρολύοντας τους πεπτιδικούς δεσμούς και κόβοντας τις πολυπρωτεΐνες Gag και GagPol ώστε να αποκτήσουν τη λειτουργική μορφή τους. Αξίζει να σημειωθεί πως ανήκει στην οικογένεια των ασπαρκτικών πρωτεασών με την ώριμη μορφή της να αποτελεί ομοδιμερές, που

κάθε υπομονάδα διαθέτει 99 αμινοξέα (Deshmukh et al., 2017; Weber et al., 2021). Λόγω της σημασίας της για τον ιό, το γονίδιο της πρωτεΐνης αποτελεί έναν σημαντικό στόχο στην αντι-ρετροϊκή θεραπεία (Voshavar, 2019).

Επόμενη στην σειρά είναι η αντίστροφη μεταγραφάση, με το ενεργό της κέντρο να δεσμεύει ιόντα μετάλλου και το καρβοξυτελικό άκρο της να συνδράμει στη δέσμευση του DNA. Αυτό που αξίζει να σημειωθεί είναι πως εκδηλώνει ενεργότητα RNA και DNA εξαρτώμενης πολυμεράσης, ριβονουκλεάσης (RNAase H), και DNAase. Έχοντας δημιουργήσει το δίκλωνο DNA είναι σειρά της ιντεγράσης. Είναι μία πολυμεράση χαμηλής πιστότητας, χαρακτηριστικό που εξηγεί και το λόγο εμφάνισης πολλών μεταλλάξεων στο γονιδίωμα του HIV. Ο ιός πολλαπλασιάζεται με εξαιρετικά γρήγορους ρυθμούς και η αντίστροφη μεταγραφάση προσθέτει λάθος νουκλεοτίδια χωρίς να επιδιορθώνει τα λάθη της. Ύστερα από τη δημιουργία του δίκλωνου ιικού DNA, η ιντεγκράση αναλαμβάνει να διεκπεραιώσει το στάδιο της ενσωμάτωσης (Eilers et al., 2020).

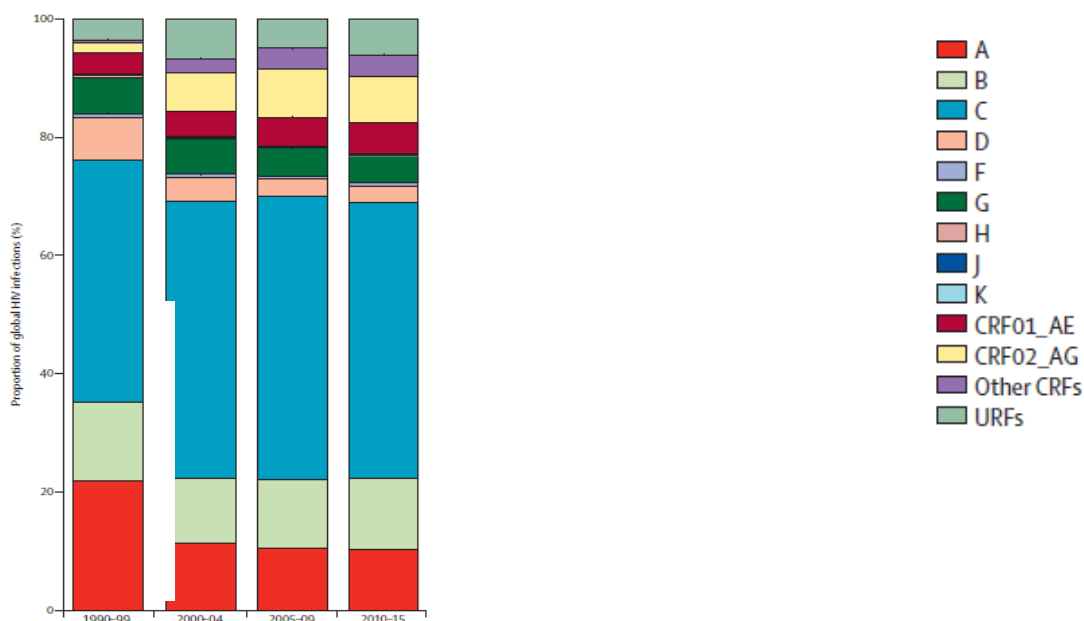
Η ιντεγκράση αποτελεί από τα πιο χαρακτηριστικά ένζυμα ενός ρετροϊού έχοντας τρεις λειτουργικές επικράτειες. Η μία επικράτεια βρίσκεται στην αμινοτελική περιοχή που περιλαμβάνει δάχτυλα ψευδαργύρου, η οποία χημική δομή είναι απαραίτητη για τη δράση του ενζύμου. Όπως με την αντίστροφη μεταγραφάση, έτσι στην ιντεγκράση το ενεργό κέντρο δεσμεύει ιόντα μετάλλου και το καρβοξυτελικό άκρο της συνδράμει στην πρόσδεση του DNA. Ως κύριος ρόλος της είναι να κόβει 2 νουκλεοτίδια από το 3' άκρο κάθε κλώνου του ιικού DNA, δημιουργώντας εγκοπές, και να δρα ως πολυμερές σύμπλεγμα. Αυτό το πολυμερές σύμπλεγμα φέρει δεκαέξι πρωτομερή σχηματίζοντας μια δομή του ιού HIV που ονομάζεται ιντάσωμα (intasome). Το ιικό DNA καταφέρνει να ενσωματωθεί στον ξενιστή αφότου δημιουργηθούν «κολλώδη» άκρα, με την ιντεγκράση να αναγνωρίζει 5 νουκλεοτίδια σε κάθε κλώνο του γονιδιώματος του ξενιστή, τα οποία ορίζουν τη θέση ενσωμάτωσης του ιικού γονιδίου. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την αρωγή των επιδιορθωτικών ενζύμων του κυττάρου ξενιστή, τα οποία καλύπτουν τα νουκλεοτιδικά κενά και ενώνουν τους κλώνους (Craigie, 2012; Eilers et al., 2020; Engelman & Singh, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - Μοριακή επιδημιολογία του HIV-1

2.1 Παγκόσμια κατανομή

Οι παρακάτω γραφικές παραστάσεις (Εικόνα 2.1) αναπαριστούν την κατανομή των υποτύπων του HIV-1 των κυκλοφορούντων ανασυνδυασμένων μορφών (CRFs) και των μοναδικών ανασυνδυασμένων μορφών (URFs) για τα έτη 1990-2015. Η Εικόνα 2.2 συμπληρώνει την πρώτη, παρουσιάζοντας αριθμητικά δεδομένα, που για λόγους σύγκρισης η χρονική περίο-

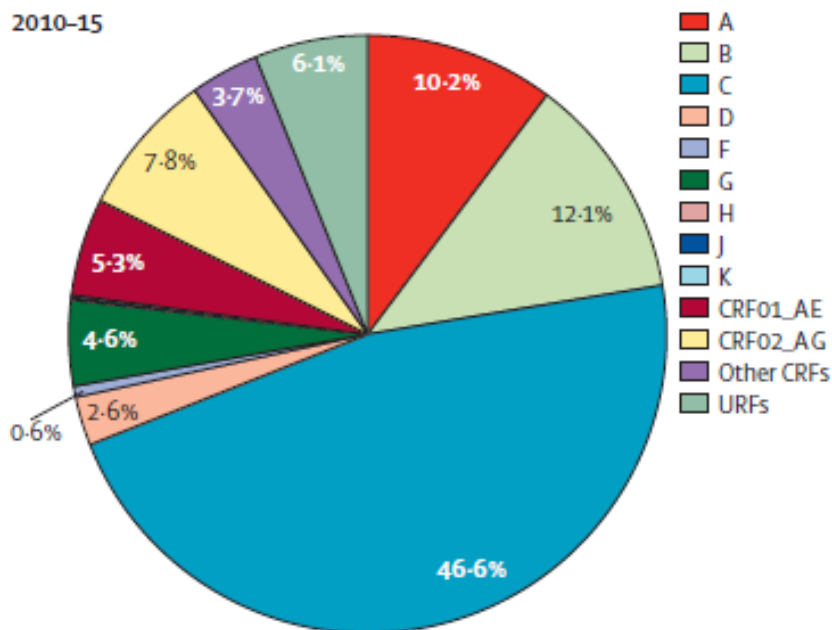
δος χωρίζεται σε τέσσερις υποπεριόδους (Hemelaar J. 2019). (Hemelaar J. 2019). Για τα έτη 2010-2015 ο υπότυπος A εμφανίζεται με το μικρότερο ποσοστό στο 10,3% (3.587.003 / 34.921.639 των PLWH), ακολουθεί ο υπότυπος B με ποσοστό 12,1% (4.235.299) ενώ ο υπότυπος C αποκτά την πρώτη θέση με ποσοστό 46,6% (16.280.897). Από την ύπαρξη των συνδυασμένων υποτύπων CRF02_AG και CRF01_AE , ο πρώτος καταλαμβάνει το υψηλότερο ποσοστό παγκοσμίως με 7,7% (2.705.110), ενώ ο δεύτερος με 5,3% (1.840.982). Ο υπότυπος G και ο υπότυπος D ανευρίσκονται στα 4,6% (1.591.276) και 2,7% (926.255) αντίστοιχα. Οι υπόλοιποι CRFs αποτελούν το 3,7% (1.309.082) και οι URFs το 6,1% (2.134.405) των λοιμώξεων. Τέλος, οι υπότυποι F, H, J, και K συνολικά ανέρχονται στο 0,9% (311.332) (Εικόνα 2.2) (Hemelaar J. 2019).



Εικόνα 2.1 Κατανομή των υποτύπων HIV-1, CRFs και URFs σε παγκόσμιο επίπεδο για τη χρονική περίοδο 1990-2015. Η κλίμακα αφορά σε ποσοστά. (<https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2818%2930647-9/fulltext>)

	HIV-1 subtypes									CRFs			URFs	Total CRFs*	Total recombinants†	
	A	B	C	D	F	G	H	J	K	CRF01_AE	CRF02_AG	Other				
Global																
1990-99	22.0%	13.2%	40.8%	7.3%	0.7%	6.1%	0.4%	0.2%	0.0%	3.5%	1.9%	0.4%	3.6%	5.7%	9.3%	
2000-04	11.4%	10.9%	47.0%	3.9%	0.5%	6.0%	0.2%	0.1%	0.0%	4.2%	6.6%	2.5%	6.7%	13.1%	19.7%	
2005-09	10.5%	11.6%	48.0%	2.8%	0.5%	4.8%	0.2%	0.1%	0.0%	4.8%	8.3%	3.4%	5.0%	15.9%	20.8%	
2010-15	10.3%	12.1%	46.6%	2.7%	0.6%	4.6%	0.1%	0.1%	0.1%	5.3%	7.7%	3.7%	6.1%	16.7%	22.8%	

Εικόνα 2.2 Εμφάνιση παγκόσμιας κατανομής υποτύπων, ανασυνδυασμένων και άλλων, από το 1990 έως το 2015. Τα ποσοστά περιγράφουν πενταετίες. (UNAIDS)



Εικόνα 2.3 Υπότυποι HIV-1 και CRFs σε παγκόσμιο επίπεδο. (<https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2818%2930647-9/fulltext>)

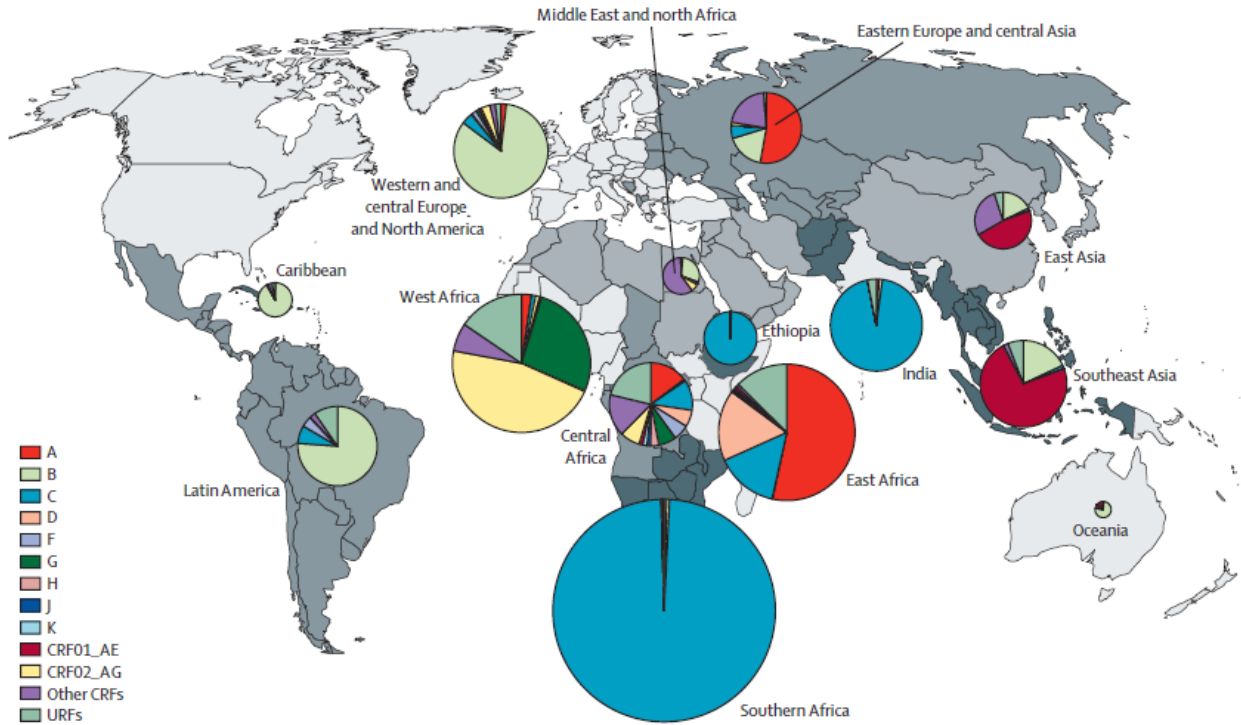
Ύστερα από μακροχρόνιες έρευνες έχει αποδειχθεί πως η μεγαλύτερη ποικιλομορφία του ιού HIV-1 εντοπίζεται στην Κεντρική και Δυτική Αφρική. Ο υπότυπος C είναι κυρίαρχος στην Νότια Αφρική, ενώ παράλληλα ο επιπολασμός του αυξάνεται ραγδαία στη Βραζιλία. Ο

υπότυπος A εντοπίζεται κατά κύριο λόγο στην Ανατολική Αφρική, ενώ στη Δυτική Αφρική εντοπίζεται ο υπότυπος CRF02_AG. Για τον υπότυπο B γίνεται αναφορά στην Λατινική Αμερική, με ενδιαφέρον κομμάτι να αποτελεί η ύπαρξη του ανασυνδυασμένου στελέχους των υποτύπων B και F σε ορισμένες υποομάδες όπως των ατόμων με συλλοίμωση HIV και ιικής ηπατίτιδας (Giovanetti et al., 2020; Gounder et al., 2017a, 2017b; McCutchan, 2006).

Πηγή των ανασυνδυασμένων στελεχών του ιού αποτελεί η Ασία, με τη Ρωσία και τις πρώην σοβιετικές χώρες να φέρουν τον A ως κυρίαρχο υπότυπο. Νέοι CRFs εμφανίζονται συνεχώς στην Κίνα με τους υποτύπους CRF01_AE και CRF07_BC να κατακτούν την πρωτιά εμφάνισης, με τον πρώτο να είναι ο επικρατέστερος στην Νοτιοανατολική Ασία. Οι Ινδίες έχουν τον υπότυπο C ως τον επικρατέστερο. Αναφορά γίνεται και στις περιοχές του αραβικού κόσμου, όπως η Μέση Ανατολή και η Βόρεια Αφρική, όπου ο B υπότυπος έχει την πιο συχνή εμφάνιση χωρίς ιδιαίτερα υψηλό επιπολασμό και με περιορισμένο αριθμό δειγμάτων για αναλύσεις (Aibekova et al., 2018; Bbosa et al., 2019c).

Ο υπότυπος B έχει κύρια εμφάνιση και στις χώρες της Ευρώπης, Βόρειας Αμερικής και Ωκεανίας. Στην Εικόνα 2.4 είναι εμφανή, για τα έτη 2010-2015, η παγκόσμια κατανομή των υποτύπων, των CRFs και των URFs ανά γεωγραφική περιφέρεια ενώ παράλληλα παρακάτω γίνεται εξονυχιστική ανάλυση των υποτύπων της ομάδας M του HIV-1 στην Ευρώπη (Alexiev et al., 2021; Hebberecht et al., 2018; Tumiotto et al., 2018).

Τέλος, είναι ύψιστης σημασίας η αναφορά αύξησης των μολύνσεων από ανασυνδυασμένους υποτύπους για τα έτη 1990-2015, με ειδικότερη έμφαση στα έτη 2010-2015 όπου βρέθηκε ένα ποσοστό των 22,8%. Από αυτό, το 16,7% αφορούσε μολύνσεις CRFs και το 6,1% μολύνσεις από URFs (Hemelaar et al., 2019, 2020).



Εικόνα 2.4 Κατανομή υποτύπων HIV-1, CRFs και URFs κατά τα έτη 2010-2015 ανά γεωγραφική περιφέρεια. Η κάθε γεωγραφική περιφέρεια χρωματίζεται με το ίδιο χρώμα στο χάρτη. (<https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2818%2930647-9/fulltext#gr3>)

2.2 Ευρωπαϊκή κατανομή υποτύπων

Από τα πρώτα κεφάλαια της εξέλιξης των υποτύπων του ιού HIV-1 στην Ευρώπη, προκύπτει ότι ο υπότυπος B επικρατεί στις περισσότερες χώρες της Κεντρικής και Δυτικής Ευρώπης, ενώ στην Ανατολική Ευρώπη η επιδημία κυριαρχείται από τον υπότυπο A. Καθοριστικής σημασίας είναι η μοριακή επιδημιολογική αλλαγή που παρατηρείται στην Κεντρική και Δυτική Ευρώπη τα τελευταία 15 χρόνια. Οι μη-B υπότυποι και οι ανασυνδυασμένοι κυκλοφορούντες μορφές CRFs εισήχθησαν κυρίως μέσω μετανάστευσης και διαδίδονται μέσω κινητικότητας πληθυσμών, αυξάνοντας την περιπλοκότητα της επιδημίας (Abecasis et al., 2013; Fabeni et al., 2017; Hoenigl et al., 2016; Tamalet et al., 2015).

Αν και ο υπότυπος B παραμένει κυρίαρχος σε Κεντρική και Δυτική Ευρώπη, κάθε χώρα έχει αναπτύξει το δικό της μωσαϊκό (Beloukas et al., 2016). Στην Ανατολική Ευρώπη, ο υπότυπος A επικρατεί από τα μέσα της δεκαετίας του '90, με αρχική μετάδοση μέσω σεξουαλικών επαφών και αργότερα εκρηκτική αύξηση κυρίως σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών. Στη Ρωσία, ο υπότυπος A διατηρεί την υπεροχή, ενώ σε άλλες περιοχές παραμένουν σταθε-

ροί ο υπότυπος B και διάφορα CRFs, κυκλοφορώντας κυρίως μεταξύ των MSM (Hemelaar et al., 2020; Kostaki, Karamitros, et al., 2018; Monno et al., 2005).

Η ανάλυση κοόρτης SPREAD δείχνει ότι ο υπότυπος B κυριαρχεί στις νέες περιπτώσεις HIV-1 στην Κεντρική και Δυτική Ευρώπη, με ποσοστό 70,2%, ενώ οι υπότυποι C, CRF02_AG, G και A ακολουθούν με 5,0%, 4,9%, 4,8% και 3,6% αντίστοιχα (Hemelaar et al., 2020). Παρόλα αυτά, υπάρχουν εξαιρέσεις, με ορισμένες χώρες να έχουν υψηλότερο ποσοστό μη-B υποτύπων. Η Ρουμανία, η Ιρλανδία και η Πορτογαλία ξεχωρίζουν με ποσοστά 85,4%, 68,2% και 63,0% αντίστοιχα, ενώ άλλες, όπως η Τσεχία, η Γερμανία και η Ισπανία, υπερβαίνουν το 80% υποτύπου B (Beloukas et al., 2016).

Γενικά, η μελέτη υπογραμμίζει τη σημασία της περιφερειακής διαφοροποίησης, με την Ρουμανία να ξεχωρίζει λόγω της κυριαρχίας του υποτύπου F, ενώ άλλες χώρες, όπως η Ελλάδα και η Πορτογαλία, να παρουσιάζουν τοπική διασπορά των υποτύπων A και G. Η συνεχής παρακολούθηση των μορφών του ιού HIV-1 αποκαλύπτει τις δυναμικές της επιδημίας, παρέχοντας στρατηγικές κατευθυντήριες γραμμές για την πρόληψη και τη θεραπεία (Carvalho et al., 2015; Paraskevis, 2013).

2.3 Κατανομή υποτύπων στην Ελλάδα

Η παρατηρούμενη εξέλιξη της επιδημίας HIV-1 στην Ελλάδα παρουσιάζει διάφορα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά. Η καταγραφή των πρώτων περιστατικών ξεκινά τη δεκαετία του '80 με τον υπότυπο B, ο οποίος εισήχθη από τις δυτικές χώρες από τυχαίες ποικίλες εισαγωγές στη χώρα. Αρχικά, η επιδημία επηρέασε κυρίως τους άνδρες που έρχονται σε σεξουαλικές επαφές με άλλους άνδρες (ΑΣΑ ή Men who have Sex with Men-MSM) και σε μικρό ποσοστό χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών (XEN ή Injection drug users-IDUs). Από το 1997 και εντεύθεν, παρατηρείται σημαντική αύξηση του υποτύπου A, καθώς ο επιπολασμός του αυξάνεται από 6% το 1984 σε 42% το 2004. Αυτή η εξέλιξη συνδέεται με μια μοναδική εισαγωγή από την Αφρική. Εκτιμήθηκε ότι ο κοινός πρόγονος του υποτύπου A εισήχθη περίπου το 1977. Τα ποσοστά επιπολασμού των μη-B υποτύπων στην Ελλάδα είναι υψηλά (54%), με τον υπότυπο A να είναι ο κυρίαρχος ανάμεσά τους. Επιπλέον, παρατηρείται τοπική διασπορά του υποτύπου A ανάμεσα στους γηγενείς πληθυσμούς. Ενώ οι μη-B υπότυποι και οι συνδυασμοί CRF συνδέονται κυρίως από τα μεταναστευτικά κύματα, υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν την ύπαρξη τοπικής διασποράς του υποτύπου A (Nikolopoulos et al., 2008; Stanojevic et al., n.d.).

Γενικά, η επιδημία του HIV-1 στην Ελλάδα παρουσιάζει τεράστια ετερογένεια, με τα υψηλά επίπεδα πληθυσμιακής κινητικότητας και μετανάστευσης να συμβάλλουν στην μεγάλη

ποικιλία των υποτύπων που συναντώνται. Η γεωγραφική θέση της Ελλάδας ως σταυροδρόμι τριών ηπείρων (Ευρώπη, Ασία, Αφρική) πιθανόν να επηρεάζει τον τρόπο διασποράς του ιού. Βάσει των αποτελεσμάτων που παρουσιάστηκαν στο Πανελλήνιο Συνέδριο του AIDS το 2022 από το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Νοτίου Ελλάδος, το 41% των δειγμάτων που γονοτυπήθηκαν το 2022 εκτιμήθηκαν ως γονότυπος A, το 16% άνηκε σε γονότυπο B, 14 % βρέθηκε γονότυπου G και το 29% μοιραζόταν σε διάφορα CRFs (Πρόκτερ et al., 2022).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – Μετάδοση και παθογένεση του ιού HIV-1

3.1 Μετάδοση του HIV-1

Η μετάδοση του ιού HIV-1 συμβαίνει κυρίως μέσω τριών κύριων τρόπων:

- I. Σεξουαλική επαφή: Ο σεξουαλικός τρόπος μετάδοσης είναι ο πιο συχνός. Αυτός ο τρόπος μετάδοσης μπορεί να συμβεί κατά την ετερόφυλη ή ομοφυλόφιλη σεξουαλική επαφή. Στην υποσαχάρια Αφρική, όπου ο αριθμός των νέων περιπτώσεων HIV λοίμωξης είναι υψηλός, περισσότερο από τα μισά των ατόμων που προσβάλλονται είναι γυναίκες.
- II. Μετάδοση από μητέρα σε παιδί: Η μετάδοση από τη μητέρα στο παιδί αφορά την πλειοψηφία των παιδιατρικών περιστατικών AIDS. Συνήθως συμβαίνει κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, του τοκετού ή μέσω του μητρικού θηλασμού.
- III. Μετάδοση μέσω μετάγγισης: Η μετάδοση μέσω μετάγγισης από μολυσμένο αίμα ή προϊόντα αίματος είναι ένας άλλος τρόπος. Με τον ενδεδειγμένο έλεγχο των μονάδων αίματος και των προϊόντων του, ο κίνδυνος αυτός έχει μειωθεί, αλλά παραμένει ως ένας πιθανός τρόπος μετάδοσης. Ιδιαίτερα, σε κοινότητες χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών που μοιράζονται σύριγγες και ενέσεις, η μετάδοση μέσω αυτού του τρόπου παραμένει η πιο συνήθης.

Ο έλεγχος των μολυσμένων παραγόντων αίματος και η ενημέρωση σχετικά με τους τρόπους μετάδοσης είναι σημαντικά μέτρα για τον περιορισμό της εξάπλωσης του ιού HIV-1 (Shaw & Hunter, 2012).

3.2 Παθογένεση του ιού HIV-1

Η έρευνα για την παθογένεση του ιού HIV-1 έχει εξελιχθεί τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, ωστόσο, παραμένει ένα συναρπαστικό και πολύπλοκο θέμα που απαιτεί συνεχείς έρευνες. Η κατανόηση του ακριβούς τρόπου με τον οποίο οι παράγοντες του ιού και του ξενιστή επηρεά-

ζουν τη μεταβλητότητα στην έκβαση της λοίμωξης είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών πρόληψης (Simon et al., 2006).

Όπως προαναφέρθηκε, η αναγνώριση του ρόλου των στελεχών HIV CCR5 (R5) και CXCR4 (X4) είναι σημαντική για την κατανόηση της εξέλιξης της νόσου. Τα στελέχη R5 θεωρούνται εξίσου κατάλληλα με τα X4 για την εξάλειψη των CD4+T κυττάρων και τη συμβολή στην έκβαση της νόσου. Αυτό έχει σημαντικές επιπτώσεις στην αντίληψη της εξέλιξης της νόσου, καθώς αντιτίθεται στην υπόθεση που υποστηρίζει πως η μετάβαση από R5 σε X4 είναι απαραίτητη για την εξέλιξη προς το στάδιο του AIDS. Η ικανότητα ορισμένων στελεχών του HIV να χρησιμοποιούν με ευκολία τον CXCR4 για μόλυνση τους προσδίδει την εξελικτική ικανότητα να μολύνουν και τις ομόζυγες καταστάσεις τροπισμού CCR5delta32, προσθέτοντας άλλη μια διάσταση στην πολυπλοκότητα της παθογένεσης του ιού. Η καλύτερη κατανόηση των γενετικών παραγόντων που επηρεάζουν την καταλληλότητα των στελεχών X4 και R5 μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη αναστολέων που θα είναι αποτελεσματικοί κατά των συγκεκριμένων ιικών πληθυσμών (Naif, 2013).

3.3 Κλινική πορεία της λοίμωξης με τον ιό HIV-1

Η εξέλιξη της νόσου από τον ιό HIV-1 παρακολουθείται με τη μέτρηση του ιικού φορτίου και των CD4+T κυττάρων στο περιφερικό αίμα του ασθενούς, σχετιζόμενων με την κλινική εικόνα. Η πρόοδος της HIV λοίμωξης μπορεί να χαρακτηριστεί από τρεις διακριτές φάσεις.

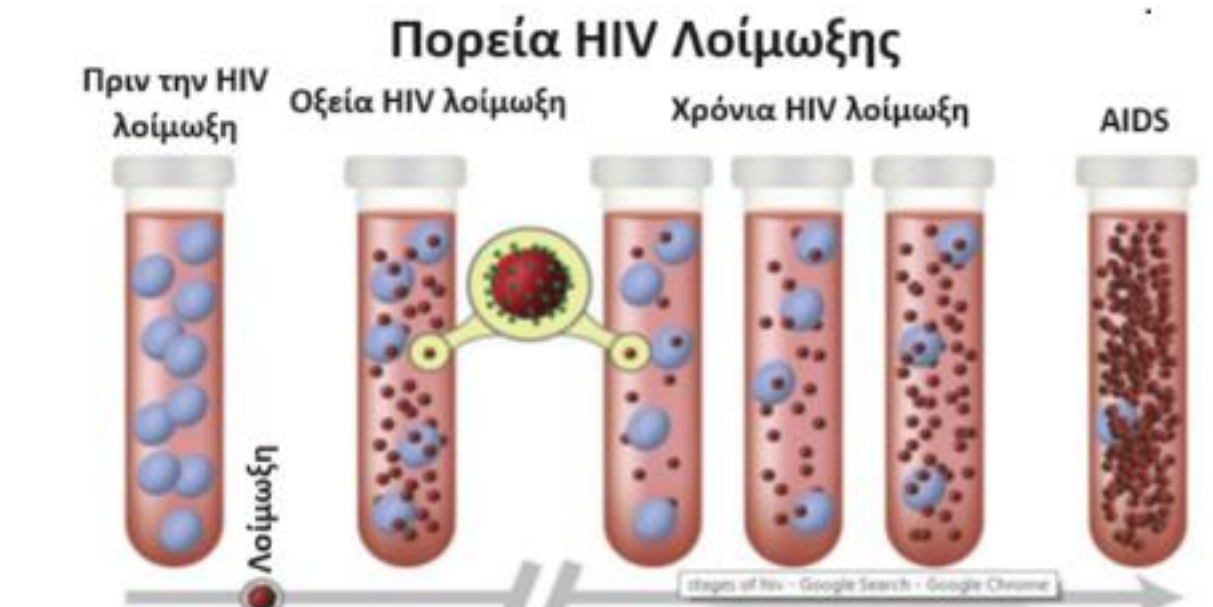
1. Οξεία Φάση (Οξύ Σύνδρομο HIV-1):
 - Περιοδική βραχεία αιμία χαρακτηρίζεται από ταχύ πολλαπλασιασμό του ιού.
 - Εμφανίζεται σε 50% έως 70% των ενηλίκων 3 έως 6 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη.
 - Δεν υπάρχουν ειδικά συμπτώματα, αλλά σε πολλούς ασθενείς δεν αναπτύσσονται συμπτώματα.
 - Υποχώρηση CD4+T κυττάρων, αλλά ο αριθμός τους επανέρχεται στα φυσιολογικά.
2. Χρόνια Φάση Κλινικά Λανθάνουσας Περιόδου:
 - Διαρκεί αρκετά χρόνια.
 - Ο ιός περιέχεται σε κάθε ιστό και παρουσιάζεται παροδική απώλεια CD4++T κυττάρων, αντικαθιστώντας τα από πρόδρομα κύτταρα.
 - Τα άτομα είναι ασυμπτωματικά ή παρουσιάζουν ήπια συμπτώματα.

- Η συγκέντρωση του ιού στο πλάσμα σταθεροποιείται, αλλά διαφέρει μεταξύ ατόμων.
- Καθώς εξελίσσεται η νόσος, αυξάνονται οι συγκυριακές λοιμώξεις, τα CD4++T κύτταρα εξαντλούνται, και η ανοσολογική αντίδραση επιφέρει περισσότερη φθορά.

3. Φάση AIDS:

- Ενδεχομένως θανατηφόρα φάση όταν τα CD4+T κύτταρα πέσουν κάτω από 200/mm³.
- Αυξημένη ιαιμία.
- Τα άτομα πάσχουν από λοιμώξεις, νεοπλάσματα, νεφρική ανεπάρκεια, εκφύλιση του εγκεφάλου.
- Η καχεξία υποδηλώνει τη χρόνια φλεγμονώδη απόκριση, και η ανοσοκαταστολή έχει έντονες επιπτώσεις.

Οι νέες αντιρετροϊκές θεραπείες έχουν τροποποιήσει την εξέλιξη της νόσου στη φάση του AIDS προλαμβάνοντας και περιορίζοντας την. Η παρακολούθηση του ιικού φορτίου και των CD4+T κυττάρων είναι σημαντική για τη διαχείριση της νόσου και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας (Weinberg & Kovarik, 2010; WHO, 2016).



Εικόνα 3.1 Τα επίπεδα των CD4+T και ιικού φορτίου φαίνεται ότι συσχετίζονται με την πρόοδο της μόλυνσης από τον HIV-1 και την εξάντληση των CD4+ T κυττάρων. Οι μπλε κουκκίδες αναπαριστούν τα CD4+T, ενώ οι κόκκινες το ιικό φορτίο στα στάδια εξέλιξης της νόσου. (<https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/stages-hiv-infection>)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - Αντιρετροϊκή θεραπεία κατά του HIV-1 και η μετάλλαξη M184V/I

4.1 Αντιρετροϊκή θεραπεία

Η αντιρετροϊκή θεραπεία (ART) αποτελεί ένα κρίσιμο κομμάτι της διαχείρισης της λοίμωξης από τον ιό HIV-1. Οι κατηγορίες φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία περιλαμβάνουν τους νουκλεοσιδικούς/νουκλεοτιδικούς αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NRTIs), τους μη νουκλεοσιδικούς αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs), τους αναστολείς της πρωτεάσης (PIs), τους αναστολείς μεταφοράς κλώνου (INSTIs) και άλλες κατηγορίες φαρμάκων.

1. Νουκλεοσιδικοί/Νουκλεοτιδικοί Αναστολείς της Αντίστροφης Μεταγραφάσης (NRTIs):

- Εμποδίζουν τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης δρώντας ως υπόστρωμα.
- Ανταγωνίζονται τα φυσιολογικά νουκλεοτίδια κατά τη μεταγραφή του ιού (Holec et al., 2017).

2. Μη Νουκλεοσιδικοί Αναστολείς της Αντίστροφης Μεταγραφάσης (NNRTIs):

- Παρεμποδίζουν το ίδιο ένζυμο, την αντίστροφη μεταγραφή, μέσω πρόσδεσης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου ή μέσω τροποποίησης της δομής του (Wang et al., 2019).

3. Αναστολείς της Πρωτεάσης (PIs):

- Αδρανοποιούν το ιικό ένζυμο μέσω άμεσης πρόσδεσης στο ενεργό καταλυτικό κέντρο (Flexner, 1998; Voshavar, 2019).

4. Αναστολείς Μεταφοράς Κλώνου (INSTIs):

- Αναστέλλουν τη μεταφορά του ιικού DNA κατά τη διάρκεια της ενσωμάτωσής του από την ιντεγκράση (Scarsi et al., 2020).

5. Αναστολείς Σύνηξης (Fusion Inhibitors):

- Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει τους μικρομοριακούς ανταγωνιστές CCR5, οι οποίοι αποτρέπουν τον ιό από το να εισέλθει στο κύτταρο ξενιστή. Αυτό γίνεται μέσω της αδρανοποίησης του υποδοχέα CCR5, εμποδίζοντας έτσι τη σύνδεση του ιού με το CD4+ κύτταρο (Qadir & Malik, 2010; Xiao et al., 2021).

Η συνήθης πρακτική είναι η χρήση συνδυασμών φαρμάκων από διάφορες κατηγορίες για επιτυχή και διαρκή αναστολή του ιού, αποφεύγοντας την εμφάνιση μεταλλαγμένων ανθε-

κτικών στελεχών. Η έγκαιρη έναρξη της θεραπείας είναι κρίσιμη για την επίτευξη καλύτερων αποτελεσμάτων (Johnson, 1994; Thomas Ginat & Whitney Schaefer, 2023).

Πίνακας 2. Αντιρετροϊκά Φάρμακα (Πηγή: <https://www.webmd.com/hiv-aids/aids-hiv-medication>)

Φάρμακα - Αναστολείς			
NRTIs	NNRTIs	PIs	INSTIs
<i>Abacavir (ABC)</i>	<i>Delavirdine (DLV)</i>	<i>Atazanavir (ATV)</i>	<i>Bictegravir (BIC)</i>
<i>Didanosine (ddl)</i>	<i>Doravirine (DOR)</i>	<i>Darunavir (DRV)</i>	<i>Cabotegravir (CAB)</i>
<i>Emtricitabine (FTC)</i>	<i>Efavirenz (EFV)</i>	<i>Fosamprenavir (FPV)</i>	<i>Dolutegravir (DTG)</i>
<i>Lamivudine (3TC)</i>	<i>Etravirine (ETR)</i>	<i>Indinavir (IDV)</i>	<i>Elvitegravir (EVG)</i>
<i>Tenofovir (TFV)</i> <i>Azidothymidine (AZT)</i>	<i>Nevirapine (NVP)</i> <i>Rilpivirine (RPV)</i>	<i>Lopinavir + ritonavir (LPV/r)</i> <i>Nelfinavir (NFV)</i> <i>Ritonavir (RTV)</i> <i>Saquinavir (SQV)</i> <i>Tipranavir (TPV)</i> <i>Amprenavir (APV)</i>	<i>Raltegravir (RAL)</i>
Συνδυαστική Αντιρετροϊκή Θεραπεία (cART)			
NRTI-based	NNRTI-based	PI-based	INSTI-based
<i>ABC/3TC</i>	<i>DOR/TDF/3TC</i>	<i>ATV/c</i>	<i>BIC/TAF/FTC</i>
<i>TAF/FTC</i>	<i>EFV/TDF/FTC</i>	<i>DRV/c</i>	<i>DTG/ABC/3TC</i>
<i>ABC/3TC/ZDV</i>	<i>RPV/TAF/FTC</i>	<i>DRV/c/TAF/FTC</i>	<i>DTG/RPV</i>
<i>TDF/FTC</i>	<i>RPV/TDF/FTC</i>		<i>DTG/3TC</i>
<i>TDF/3TC</i>			<i>EVG/c/TAF/FTC</i>
<i>ZDV/3TC</i>			<i>EVG/c/TDF/FTC</i>

4.2 Αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία

Η HIV λοίμωξη πλέον χαρακτηρίζεται ως χρόνια μολυσματική νόσος, αντί για τη θανατηφόρα κατάσταση που παρουσίαζε στα πρώτα στάδια. Ακόμη και με την ύπαρξη αποτελεσματικών αντιρετροϊκών φαρμάκων, οι μεταλλάξεις στο ιικό γονιδίωμα επιτρέπουν στον ιό να αναπτύσσει αντοχή σε αυτά (Bokharaei-Salim et al., 2020). Κυρίως, αυτές οι μεταλλάξεις επηρεάζουν τα φάρμακα που στοχεύουν την πρωτεάση και την αντίστροφη μεταγραφή του ιού, ενώ παγκοσμίως, είναι σπάνιες οι περιπτώσεις αντοχής έναντι αναστολέων της ιντεγκράσης (Anstett et al., 2017).

Η αντοχή στη θεραπεία μπορεί να προκύψει πριν ξεκινήσει η θεραπεία (μεταδιδόμενη αντοχή-transmitted drug resistance, TDR) ή να εμφανιστεί κατά τη διάρκεια της θεραπείας λόγω της εξελικτικής πίεσης που ασκείται στον ιό (επίκτητη αντοχή ή acquired drug resistance-ADR) (Biswas et al., 2019; Clutter et al., 2016; Machnowska et al., 2019). Η ανίχνευση των μεταλλάξεων γίνεται μέσω της αλληλούχησης του ιικού γονιδιώματος, και μπο-

ρούν να επηρεάσουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της θεραπείας εκτός αν οι μεταλλάξεις βρίσκονται σε περιοχές που δεν επηρεάζουν τη λειτουργία των ιικών πρωτεϊνών ή δε μεταβάλουν θέσεις που λειτουργούν ως φαρμακευτικοί στόχοι. Ο χάρτης μεταλλάξεων του ιικού γονιδίου HIV-1, ανανεωμένος το 2022 από τον Wensing και συνεργάτες του, παρέχει επιπρόσθετη κατανόηση των μεταλλάξεων που σχετίζονται με αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία (Wensing et al., 2022). Παρακάτω παρουσιάζονται ορισμένες από τις πιο σημαντικές μεταλλάξεις που έχουν αναφερθεί, υποδεικνύοντας τις περιοχές λειτουργίας τους σύμφωνα με τις υπολογιστικές βάσεις (Εικόνα 4.1). Η ποικιλομορφία μπορεί να εκδηλωθεί σε ένα μόνο κώδικα ή συνδυαστικά, δημιουργώντας αντοχή σε διάφορα φάρμακα, ανάλογα με τον τρόπο που επηρεάζουν τα αμινοξέα (Bokharaei-Salim et al., 2020).

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες και τη συγκεντρωτική βάση δεδομένων του προγράμματος HIVdb του Πανεπιστημίου του Στάνφορντ, το ποσοστό αντοχής στην Ευρώπη τα τελευταία χρόνια κυμαίνεται περίπου στο 7%, με τη Γερμανία να καταγράφει το υψηλότερο ποσοστό (16,5% το 2012-2015) και τη Σλοβενία το χαμηλότερο (0,9% το 2012-2017) (Hanke et al., 2019; Lunar et al., 2018). Σε αντίστοιχες μελέτες στη Βόρεια Αμερική, το ποσοστό αντοχής για την περίοδο 2012-2013 ήταν περίπου 17%, σύμφωνα με έρευνες του 2016 και 2019 (Panichsillarakit et al., 2016; Rhee et al., 2020). Οι έρευνες καλύπτουν κυρίως τις μεταλλάξεις αντοχής σε φάρμακα αναστολείς πρωτεάσης και αντίστροφης μεταγραφάσης, αφού η αντοχή σε αναστολείς ιντεγκράσης δεν έχει ερευνηθεί συστηματικά. Σύμφωνα με μικρότερες έρευνες, η αντοχή στους αναστολείς του γονιδίου ιντεγκράσης ανέρχεται παγκοσμίως σε ποσοστό 0,5% σε άτομα που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία. Ωστόσο, μια έρευνα στη Βρετανική Κολούμπια αναφέρει ότι η αντοχή αυξήθηκε από 0,1% το 2009 σε 0,7% τα τελευταία χρόνια (Kamelian et al., 2019). Στην Ελλάδα, σύμφωνα με μελέτη του 2018, το ποσοστό αντοχής σε αντιρετροϊκή θεραπεία ανερχόταν σε ποσοστό 5,3% για τη χρονική περίοδο 2012-2015, με 4,4% αντοχή σε NNRTIs, 0,9% αντοχή σε NRTIs, και 0,9% αντοχή σε PIs (Kostaki, Nikolopoulos, et al., 2018).

Όσον αφορά την αντοχή σε αντιρετροϊκά φάρμακα που αναστέλλουν την ιντεγκράση, δεν υπάρχουν επαρκείς ελληνικές μελέτες. Ωστόσο, σύμφωνα με τα δεδομένα του Εθνικού Κέντρου Αναφοράς Νοτίου Ελλάδος, το ποσοστό μεταλλάξεων αντοχής για το έτος 2022 εκτιμάται ότι ανέρχεται σε 12% εξολοκλήρου σε NNRTIs (Procter et al., 2022).

Γονίδιο	Αναστολέας	Κωδικόνα Μεταλλάξεων Μειζονας Σημασίας												
RT	NRTIs	M	K	D	T	K	L	Y	Q	M	L	T	K	
		41	65	67	69	70	74	115	151	184	210	215	219	
		L	R	N	D/N/G	E	V/I	F	M	V/I	W	F/Y	Q/E	
	NNRTIs	L	K	K	V	E	Y	Y	G	M				
		100	101	103	106	138	181	188	190	230				
	I	E/P	N/S	A/M	A/G/K/Q	C/T/V	L/C/H	A/S/E	L					
PR	PIs	D	V	L	M	I	G	I	I	L	V	I	N	L
		30	32	33	46	47	48	50	54	76	82	84	88	90
		N	I	F	I/L	V/A	V/M	L/V	V/T/A/L/M	V	A/F/T/S	V	D/S	M
INT	INSTIs	T	E	G	E	G	Y	S	Q	N	R			
		66	92	118	138	140	143	147	148	155	263			
		A/I/K	Q	R	K/A/T	S/A/C	R/C/H	G	H/R/K	H	K			

Εικόνα 4.1 Σημαντικές Θέσεις Μεταλλάξεων Αντοχής σε Αντιρετροϊκή Θεραπεία. (<https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/>)

4.3 Μεταλλάξεις στην Αντίστροφη Μεταγραφάση του HIV-1

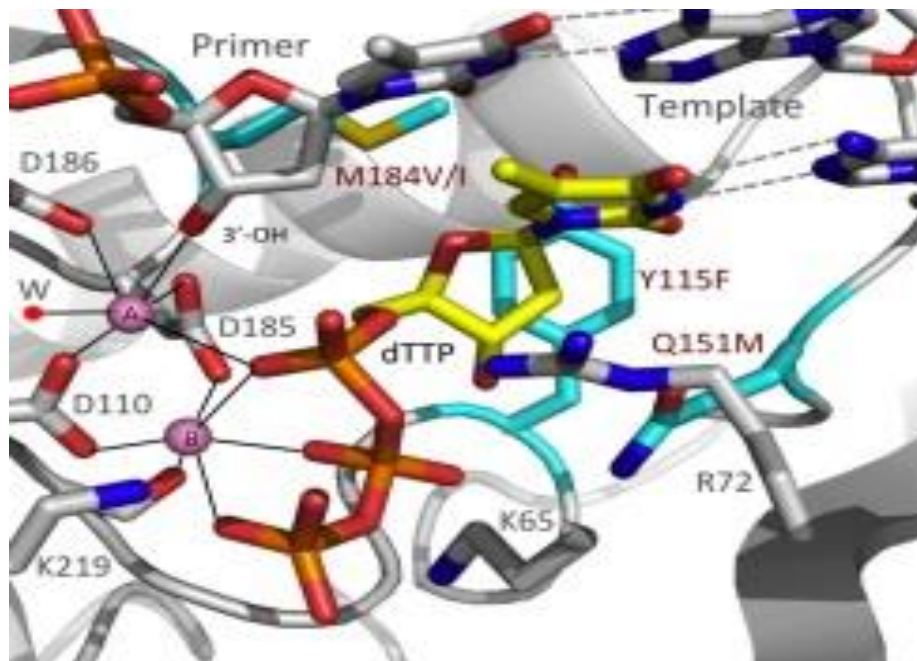
Η γενετική ποικιλομορφία του HIV-1 στους PLWH οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, κυρίως λόγω του υψηλού ρυθμού ιικής αντιγραφής σε συνδυασμό με τη χαμηλή πιστότητα της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού. Συγκεκριμένα, μεταλλάξεις στην ανάστροφη μεταγραφάση (RT) επηρεάζουν τη θέση δέσμησης τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοσιδίων (dNTPs), συμπεριλαμβανομένων των θέσεων που προσδίδουν αντοχή σε αντιρετροϊκά φάρμακα. Η RT μετατρέπει το γονιδίωμα RNA του HIV-1 σε DNA, και τα σφάλματα κατά την αναπαραγωγή επιτρέπουν τη διαφυγή του ιού από το ανοσοποιητικό σύστημα και την ανάπτυξη αντοχής σε αντιρετροϊκά φάρμακα. Ενώ οι περισσότερες λοιμώξεις ξεκινούν από ένα κοινό ιόσωμα, παρατηρούνται μεταλλάξεις σε σχετικά λίγα χρόνια δημιουργώντας ένα σμήνος ιών (υποπληθυσμών) με διαφορετικές γενετικές αλληλουχίες (Abram et al., 2014a).

Οι πολυμεράσες που συμβάλλουν στις μεταλλάξεις του HIV-1 περιλαμβάνουν την DNA πολυμεράση του ξενιστή, την RNA πολυμεράση II του ξενιστή (Pol II), και την ιική ανάστροφη μεταγραφάση. Ο HIV-1 πολλαπλασιάζεται γρήγορα στα άτομα που δε λαμβάνουν θεραπεία, με τα περισσότερα μολυσμένα κύτταρα να πεθαίνουν πριν προλάβουν να διαιρεθούν. Σε αυτήν τη διαδικασία, οι πολυμεράσες Pol II και RT συμβάλλουν σημαντικά στα

σφάλματα που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της ιικής αντιγραφής. Αν και οι μεταλλάξεις συνήθως αποδίδονται στην RT, οι σχετικές συνεισφορές της RT και της Pol II στο συνολικό ποσοστό σφάλματος δεν είναι ακόμη καλά καθορισμένες. Στον ιικό κύκλο ζωής, η ροή της γενετικής πληροφορίας ξεκινά από το προϊόν της Pol II (RNA) προς το προϊόν της RT (DNA). Ενώ η RT πιθανώς κάνει τουλάχιστον τα μισά από τα σφάλματα που προκύπτουν κατά την αντιγραφή του ιού, η συνολική πιστότητα της δεν μπορεί να είναι χαμηλότερη από τη συνολική πιστότητα της αντιγραφής του ιού (Sebastián-Martín et al., 2018; Xavier RUIZ & Arnold, 2020).

Παρότι υπάρχουν προσπάθειες να κατανοηθεί πώς προκύπτουν μεταλλάξεις κατά την αντιγραφή του HIV-1, η χρήση απομονωμένης RT (in vitro) παρουσιάζει προκλήσεις. Πρώτον, παραλείπονται οι συνεισφορές της Pol II. Δεύτερον, τα ποσοστά μετάλλαξης και τα συγκεκριμένα σφάλματα που αναφέρονται για τις άγριου τύπου (WT) και τις μεταλλαγμένες μορφές RT που βασίζονται σε προσδιορισμούς πιστότητας in vitro ποικίλλουν σημαντικά σε πειραματικά περιβάλλοντα. Επιπλέον, η πιστότητα της RT που υπολογίσθηκε in vitro είναι περίπου 20 φορές χαμηλότερη από την πιστότητα της αντιγραφής του HIV-1 που εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας έναν ιικό φορέα που φέρει ένα γονίδιο αναφοράς (Figiel et al., 2017; Shaw-Reid et al., 2005).

Τέλος, έχουν εισαχθεί μεταλλάξεις στο ενεργό κέντρο της ιικής πολυμεράσης που επηρεάζουν την ευαισθησία της RT σε αντιρετροϊκά φάρμακα. Αυτές οι μεταλλάξεις συμπεριλαμβάνουν αλλαγές στην ικανότητα της RT να διακρίνει μεταξύ νουκλεοσιδικών αναστολέων και φυσιολογικών dNTPs και επηρεάζουν την πιστότητα. Αν και δεν μπορούμε να είμαστε βέβαιοι για την προέλευση της κάθε μετάλλαξης, οι αλλαγές στην RT μπορούν να επηρεάσουν τη δημιουργία μεταλλάξεων που προκαλούν αντοχή στη θεραπεία (Abram et al., 2014b).



Εικόνα 4.2 Ένα μοντέλο που αντιπροσωπεύει τη σύνδεση του dTTP στη δραστική θέση πολυμεράσης της RT πριν από την ενσωμάτωση νουκλεοτιδίου. Το μοντέλο κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας δομικές πληροφορίες από τις δομές 1RTD (20), 2IAJ (77) και 3V4I (78). Τα υπολείμματα τριών αμινοξέων που μεταλλάχθηκαν στην ανάλυση, Y115, Q151 και M184, παρουσιάζονται με κυανό. Αυτά τα υπολείμματα αποτελούν μέρος της ενεργού θέσης πολυμεράσης που περιβάλλει το δεσμευμένο dTTP (κίτρινο). Τα περιβάλλοντα συντονισμού των δύο καταλυτικών ιόντων Mg²⁺ (ροζ) αντιπροσωπεύονται με διακεκομμένες γραμμές, ένα συντονιστικό μόριο νερού φέρει την ένδειξη "W". (<https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00302-14>)

4.4 Χαρακτηριστικά της μετάλλαξης M184V/I και αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία

Η μετάλλαξη M184V/I στην RT του HIV-1 αποτελεί σημαντικό θέμα έρευνας και κλινικής πρακτικής λόγω της συνοδευόμενης αντοχής στο φάρμακο 3TC και άλλους NRTIs. Η μετάλλαξη αυτή παρουσιάζει ορισμένα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τη βιολογία του ιού και τη δράση των αντιρετροϊκών φαρμάκων. Συνήθως, η πρώτη αντικατάσταση νουκλεοτιδίου προσδίδει το αμινοξύ ισολευκίνη (isoleucine, I), αλλά μετά από λίγες εβδομάδες επόμενη μετάλλαξη προσδίδει το αμινοξύ βαλίνη (valine, V), καθώς προκύπτει μία πιο σταθερή και εξελικτικά επιλέξιμη δομή για το ένζυμο της RT (Hu & Kuritzkes, 2011).

Σε πρώτη φάση, η M184V αναφερόταν στην επιλογή για αντοχή στη διδανασίνη (ddI), αλλά αργότερα ανακαλύφθηκε ότι είναι υπεύθυνη και για αντοχή υψηλού επιπέδου στο 3TC,

παρουσιάζοντας πολύ γρήγορη εμφάνιση τόσο σε κυτταροκαλλιέργεια όσο και σε άτομα υπό θεραπεία με 3TC. Η γρήγορη εμφάνιση της μετάλλαξης μπορεί να συνδέεται με το υψηλό ποσοστό μεταλλαξιογένεσης του HIV, το οποίο υποδηλώνει την προϋπαρξη μεταλλαγμένων υποπηθυσμών πριν από τη θεραπεία με αντιρετροϊκά φάρμακα οι οποίοι ευνοούνται εξελικτικά. Το γεγονός ότι η M184V προκαλεί αντοχή σε φάρμακα όπως το 3TC εξαιτίας αλλαγών στην καταλυτική περιοχή της RT, και ειδικότερα στο μοτίβο YMDD το οποίο είναι συνήθως διατηρημένο σε όλες της RTs, δείχνει τη σημαντική επίδραση της μετάλλαξης στη λειτουργία του ενζύμου. Η αλλαγή στη γεωμετρία αυτού του μοτίβου μπορεί να επηρεάσει την αλληλεπίδραση με το DNA και να οδηγήσει σε μειωμένη ευαισθησία στο 3TC (Diallo et al., 2003; Yahi et al., 1999).

Επιπλέον, η M184V φαίνεται να έχει επιπτώσεις στον τρόπο που επεξεργάζεται η RT το RNA, καθώς παρουσιάζει μειωμένη αναστροφή και αργή έναρξη της αντίστροφης μεταγραφής, πιθανόν λόγω αλλοιώσεων στη δομή της. Ο μειωμένος ρυθμός επεξεργασίας μπορεί να συνεισφέρει στην εξασθενημένη ικανότητα αναπαραγωγής των ιών που φέρουν τη M184V, ιδίως υπό συνθήκες στρες. Συνολικά, η M184V αναδεικνύεται ως σημαντική μετάλλαξη λόγω του ρόλου της στην αντοχή σε αντιρετροϊκά φάρμακα και των ποικίλων επιπτώσεών της στη βιολογία του ιού HIV-1 (Deval et al., 2004; Götte et al., 2000).

4.5 Αλληλεπίδραση της μετάλλαξης M184V/I σε RT με άλλα φάρμακα και αντοχές που δίνουν μεταλλάξεις

Οι μεταλλάξεις αντοχής M184V/I συνοδεύονται συνήθως από χορήγηση λαμιβουδίνης (3TC) και εμτρισιταβίνης (FTC), προκαλώντας υψηλό επίπεδο αντοχής σε αυτά τα δύο φάρμακα. Η M184V εμφανίζεται γρήγορα κατά τη διάρκεια μη αποτελεσματικής αντιρετροϊκής θεραπείας και αρχιεθετείται στη δεξαμενή των ισωμάτων του HIV-1. Καθώς η λαμιβουδίνη συνεχίζει να χρησιμοποιείται εκτενώς ως μέρος όλων των συνιστομένων αντιρετροϊκών σχημάτων, τα ισώματα που φέρουν την M184V αυξάνονται σε πληθυσμό με αποτέλεσμα η μετάλλαξη αυτή να συναντάται συχνά στα άτομα με ιολογική αποτυχία (Turner et al., 2003; Wainberg, 2011).

Οι κατευθυντήριες οδηγίες για την ART δεν συνιστούν τη χρήση φαρμάκων που επηρεάζονται από DRMs (drug resistance associated mutations), καθώς αποδεδειγμένα αυξάνουν τον κίνδυνο ιολογικής αποτυχίας. Παρόλα αυτά, κάποιες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο συνδυασμός 3TC / FTC ενδέχεται να διατηρεί τη δράση του ακόμη και με την παρουσία της M184V (Palich et al., 2022a; Santoro et al., 2022).

Η αβακαβίρη, αναπτύχθηκε για χρήση μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, όπως η λαμιβουδίνη, η ζιδοβουδίνη και η λαμιβουδίνη / ντολουτεγκραβίρη. Σε *in vitro* πειρά-

ματα, η αβακαβίρη εμφανίζει μεταλλάξεις αντοχής στην περιοχή YMDD της ανάστροφης μεταγραφάσης HIV-1, οδηγώντας σε αντοχή κυρίως στη λαμβουδίνη και την εμπρισιταβίνη, καθώς και σε ενδιάμεση αντοχή στην αβακαβίρη (Jary et al., 2020).

Η επιλογή φαρμάκων σε άτομα με M184V/I εμφανίζει προκλήσεις. Υπάρχουν διαφωνίες ως προς το αν συγκεκριμένος συνδυασμός φαρμάκων, όπως το ABC / 3TC / DTG, είναι αποτελεσματικός σε άτομα με πλήρως κατεσταλμένο ιικό φορτίο και την M184V/I. Παρόλα αυτά, έρευνες υποστηρίζουν ότι σχήματα που περιλαμβάνουν αναστολείς ιντεγκράσης δεύτερης γενιάς, όπως το ABC / 3TC / DTG και το tenofovir alafenamide / emtricitabine / bictegravir, αποτελούν επιλογές θεραπείας για άτομα με M184V/I. Τα αποτελέσματα των μελετών υποστηρίζουν επίσης ότι η M184V/I ως μοναδική μετάλλαξη αντοχής στα NRTI δεν επηρεάζει αρνητικά την αποτελεσματικότητα σχημάτων που περιέχουν ντολουτεγκραβίρη (DTG). Ωστόσο, περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για την επιβεβαίωση αυτών των ευρημάτων και την πλήρη κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν τη θεραπευτική απόκριση (De Miguel et al., 2020; Gagliardini et al., 2018).

4.6 Μέθοδοι για τον Εντοπισμό της Μετάλλαξης M184V/I στον HIV-1

Ο εντοπισμός της μετάλλαξης M184V στον HIV-1 είναι σημαντικός για τη διαχείριση των λοιμώξεων και τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων. Διάφορες μοριακές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό, αποτυπώνοντας την ποικιλία των προσεγγίσεων στην έρευνα. Η PCR πραγματικού χρόνου (Real-time PCR), όπως η Allele-Specific PCR (AS-PCR), έχει αποδειχθεί αποτελεσματική σε μελέτες των ομάδων Wainberg et al. και Metzner et al. που υπογραμμίζουν τη χρησιμότητά της (Metzner, 2022; Wainberg, 2011). Η PCR αντίστροφης μεταγραφής (Reverse transcription PCR), ειδικά η Reverse Transcription Allele-Specific PCR (RT-ASPCR), έδειξε ενισχυμένη ευαισθησία σε σύγκριση με την τυπική γονοτύπηση στη μελέτη των Buckton et al (Buckton et al., 2011). Η φωλεακή (nested) PCR έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, με τις μελέτες των Metzner et al. να εντοπίζουν τη μετάλλαξη σε μια ομάδα 25 δειγμάτων και των Harrigan et al. να παρατηρούν την εξέλιξή της κατά τη θεραπεία με αντιρετροϊκά φάρμακα (Harrigan et al., 2000; Metzner et al., 2003). Η αλληλούχηση κατά Sanger, χρησιμοποιούμενη στις μελέτες των Palich et al. και Procter et al., αποκαλύπτει την επικρατούσα μορφή της μετάλλαξης σε άτομα υπό θεραπεία (Palich et al., 2022b; Procter et al., 2022). Οι τεχνικές Ultra Deep Sequencing και η αλληλούχηση επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS) παρέχουν λεπτομερείς πληροφορίες, με μελέτες των Delaugerre et al., Li et al. και Yu et al. που υπογραμμίζουν τα πλεονεκτήματα του NGS (Delaugerre et al., 2021; M.

Li et al., 2021; Yu et al., 2021). Η πυροαλληλούχηση (pyrosequencing), όπως φαίνεται στις μελέτες των Hedskog et al. και McCormick et al., προσφέρει εξειδικευμένες μεθόδους ανίχνευσης (Hedskog et al., 2010; McCormick et al., 2010). Η HRMA (High Resolution Melting Analysis), όπως ερευνάται από τους Sacks et al., αντιμετωπίζει προκλήσεις με μη ειδικούς πολυμορφισμούς, αλλά επιδεικνύει το δυναμικό της για τον εντοπισμό της μετάλλαξης M184V (Sacks et al., 2016). Αυτές οι ποικίλες μεθοδολογίες συμβάλλουν στην κατανόηση της επικρατούσας μετάλλαξης και καθοδηγούν αποφάσεις για την αποτελεσματική διαχείριση της HIV-1 λοίμωξης.

4.7 Επιπολασμός της μετάλλαξης M184V

Στη συστηματική μελέτη των Vani Vannappagari et al. συμπεριλήφθηκαν 127 μελέτες με >100.000 άτομα με σκοπό την ανίχνευση μεταλλάξεων μεταδιδόμενης αντοχής (transmitted drug resistance, ADR) καθώς και μεταλλάξεις επίκτητης αντοχής (acquired drug resistance, ADR) σε άτομα που βρισκόντουσαν ήδη υπό αντιρετροϊκή αγωγή. Σχετικά με τις μεταλλάξεις μεταδιδόμενης αντοχής στη Λατινική Αμερική οι DRMs στους NRTIs ανέρχονταν σε ποσοστό 5% (n=95/1,961) και στους NNRTIs το ποσοστό ήταν 7% (n=142/1,961). Η μετάλλαξη M184V ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 1% (n=18/3,295) ενώ στα υπό φαρμακευτική αγωγή άτομα το ποσοστό της M184V ήταν 55% (n=2,162/3,921).

Στη Νοτιοανατολική Ασία ανιχνεύθηκε TDR σε NNRTIs σε ποσοστό 5% (n=90/1,756) χωρίς ανίχνευση μετάλλαξης στη θέση M184, ενώ η ADR σε NRTIs ανερχόταν σε 57% (n=13,976/24,602), σε NNRTI σε 69% (n=18,287/26,409) και η M184V ανιχνεύθηκε σε 50% (n=13,397/26,772). Στη Μέση Ανατολή και Βόρεια Αφρική ανιχνεύθηκε TDR σε NRTIs 4% (n=75/1,669), σε NNRTIs 6% (n=100/1,669) και η M184V σε ποσοστό 1% (n=18/1,669). Η ADR σε NRTIs ισούταν με 47% (n=70/149), σε NNRTIs 30% (n=45/149), και η M184V ανιχνεύθηκε σε 41% (n=82/200).

Στη Βόρεια Αμερική έγινε εκτίμηση της TDR σε NRTIs σε ποσοστό 6% (n=1,062/17,951), σε NNRTIs 8% (n=1,413/17,951) και το ποσοστό της M184V ισούταν με 1% (n=216/15,401). Η ADR σε NRTIs ήταν 23% (n=86/378), σε NNRTIs 19% (n=70/378), και η μετάλλαξη M184V ανιχνεύθηκε σε 49% (n=2,668/5,464).

Σε Ευρώπη και Ασία η TDR σε NRTIs ήταν 4% (n=1,371/33,957) και 2% (n=55/2,947) αντίστοιχα, σε NNRTIs 5% (n=1,553/33,957) και 3% (n=83/2,950) αντίστοιχα, και η M184V ανιχνεύθηκε σε 1% (n=67/11,700) και 2% (n=65/4,179), αντίστοιχα. Η ADR για την Ευρώπη υπολογίσθηκε σε 70% (n=1,846/2,633) για NRTIs, 52% (n=1,382/2,633) για NNRTIs και ανι-

χνεύθηκε η M184V σε 51% (n=1,344/2,633). Στην Ασία τα ποσοστά ήταν 55% (n=49/89) για NRTIs, 66% (n=59/89) για NNRTIs, και σε 20% (n=363/1,772) ανιχνεύθηκε η μετάλλαξη.

Αξίζει να αναφερθεί πως στην Αφρική η ανοχή στα άτομα που βρίσκονται ήδη υπό αντιρετροϊκή αγωγή ανέρχεται σε 77% (n=702/917) για τους NRTIs, σε 80% (n=730/908) για τους NNRTIs, και το ποσοστό της μετάλλαξης ανέρχεται σε 70% (n=2,255/3,240).

Από τα παραπάνω δεδομένα εκτιμάται ένα ποσοστό παγκόσμιας TDR 4% (n=2,719/60,567) για NRTIs, 6% (n=3,605/61,402) για NNRTIs, και η μετάλλαξη M184V ανιχνεύεται σε ποσοστό 1% (n=54/3,968). Παγκοσμίως, η ADR στους NRTIs είναι 58% (n=17,073/29,218), στους NNRTIs 67% (n=20,834/31,016), ενώ η μετάλλαξη M184V ανιχνεύεται σε ποσοστό 58% (n=17,073/29,218) (Vannappagari et al., 2019).

Σε άλλη μελέτη των Emmanuel Ndashimye και Eric Arts έγινε εκτίμηση του επιπολασμού της μετάλλαξης M184V/I σε άτομα χωρών χαμηλού-μέσου και υψηλού εισοδήματος (Low-Middle Income Countries - LMICs και Upper Income Countries - UICs, αντίστοιχα). Ως γενικό συμπέρασμα, ο παγκόσμιος επιπολασμός της μετάλλαξης M184V/I είναι υψηλός σε όλες τις χώρες ασχέτου εισοδήματος ειδικά στα άτομα που βρίσκονται ήδη υπό αντιρετροϊκή αγωγή. Συγκεκριμένα, σε νεοδιαγνωσθέντα άτομα LMICs η M184V/I ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 1,2%. Σε άτομα που ξεκινούν ART αλλά έχουν ήδη TDR σε NRTIs η μετάλλαξη M184V/I ανιχνεύθηκε σε 54% σε LMICs και σε 31% σε UICs. Παγκοσμίως, σε άτομα που λαμβάνουν θεραπεία η M184V/I είναι η πιο επικρατής μετάλλαξη που προσδίδει ανοχή σε NRTIs και κυμαίνεται σε ποσοστό 53,5% έως 91,5% σε άτομα LMICs και σε ποσοστό 25% έως 87,4% σε άτομα χωρών ανώτερου και υψηλού εισοδήματος. Ασχέτως εισοδήματος, όσα άτομα εμφανίζουν ανοχή στο φάρμακο Tenofovir, φέρουν τη μετάλλαξη M184V/I σε ποσοστό 83% (Ndashimye & Arts, 2021).

Σε έρευνα των The TenoRes Study Group εκτιμήθηκε ο επιπολασμός της μετάλλαξης M184V/I σε άτομα που έχουν αποτύχει στην αντιρετροϊκή τους αγωγή. Στην Ασία η μετάλλαξη ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 49% (n=356), στην ανατολική Αφρική σε ποσοστό 61% (n=143), στην Λατινική Αμερική σε ποσοστό 60% (n=68), στη Βόρεια Αμερική σε ποσοστό 42% (n=94), στη Νότια Αφρική σε ποσοστό 59% (n=404), στη δυτική και κεντρική Αφρική σε ποσοστό 71% (n=107) και στη δυτική Ευρώπη σε ποσοστό 34% (n=754) (Gregson et al., 2016).

Σε επόμενη μελέτη που έλαβε χώρα στο Βέλγιο για το χρονικό διάστημα 2013 έως και το 2019 αναλύθηκαν 3.708 αλληλουχίες νεοδιαγνωσθέντων ατόμων για την εύρεση μεταλλάξεων ανοχής. Συγκεκριμένα, η μετάλλαξη M184V ανιχνεύθηκε σε 32 άτομα (0,86%), και η μετάλλαξη M184I βρέθηκε σε 7 άτομα (0,19%) (Mortier et al., 2022).

Σε μελέτη πραγματοποιήθηκε στην επαρχία Hunan της Κίνας έγινε προσπάθεια να αξιολογηθεί ο επιπολασμός της επίκτητης ανοχής σε φάρμακα (ADR) σε άτομα που είχαν αποτύχει στην ART από το 2012 έως το 2017. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια σταδιακή αύξηση της επικρατούσας ADR, η οποία κυμαίνονταν από 2,17% έως 2,98% κατά τη διάρκεια της μελέτης. Από τα 2.295 δείγματα ατόμων που αναλύθηκαν με αποτυχία στην ART, 914 εμφάνισαν μεταλλάξεις ανοχής. Η μετάλλαξη M184V αποτελούσε το 62,04% των μεταλλάξεων, δικαιολογώντας την υψηλή ανοχή στα NRTIs. Η μελέτη υπογράμμισε τη σημασία της συνεχούς παρακολούθησης της ADR σε άτομα με HIV που λαμβάνουν αντιρετροϊκά φάρμακα, παρά το σχετικά χαμηλό επίπεδο ανοχής στην επαρχία Hunan (Zou et al., 2020).

Η μελέτη των Santos-Pereira A. et al πραγματοποιήθηκε στη Βραζιλία και περιείχε δεδομένα 20.226 ατόμων που ζουν με τον HIV από το 2008 έως το 2017. Στόχος ήταν η εκτίμηση του επιπολασμού των επίκτητων μεταλλάξεων ανοχής στα άτομα που έχουν αποτύχει στην ART. Η μελέτη απέδειξε ότι το 84,1% των PLWH εμφάνισε τουλάχιστον μία μετάλλαξη ανοχής σε κάποιο φάρμακο. Ιδιαίτερα, σημαντικό ήταν το γεγονός ότι η μετάλλαξη M184V είχε συχνότητα 65,53%, καθιστώντας την ως την πλέον πιο κοινή μετάλλαξη ανοχής στην ART. Τα ευρήματα υποδηλώνουν την ανάγκη διαρκούς παρακολούθησης και εξατομίκευσης της αντιρετροϊκής αγωγής στη Βραζιλία, προκειμένου να αντιμετωπίζονται τα εξελισσόμενα μοτίβα ανοχής στη φαρμακευτική αγωγή (Santos-Pereira et al., 2021).

5. Συζήτηση

Η καταπολέμηση του HIV-1 στον αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά με τη χρήση αντιρετροϊκών φαρμάκων, αλλά η ανάπτυξη μεταλλάξεων ανοχής και συγκεκριμένα της μετάλλαξης M184V συμβάλλουν άμεσα σε μειωμένη δραστηριότητα. Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση εξετάζει τον επιπολασμό της μετάλλαξης M184V/I σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές και κατηγορίες ατόμων με HIV-1, προσφέροντας μια ολοκληρωμένη εικόνα της σημασίας της για τη διαχείριση της νόσου.

Στη Λατινική Αμερική, όπου ο επιπολασμός της μετάλλαξης M184V σε μεταδιδόμενη ανοχή είναι 1%, το ποσοστό αυξάνεται σημαντικά σε άτομα υπό αντιρετροϊκή αγωγή, φτάνοντας το 55%. Αντίστοιχα, στη Νοτιοανατολική Ασία, παρατηρείται ποσοστό 1% σε μεταδιδόμενη ανοχή, ενώ σε άτομα υπό αγωγή ανέρχεται στο 50%.

Σε περιοχές με υψηλότερο εισόδημα, όπως η Βόρεια Αμερική και η Ευρώπη, το ποσοστό της μετάλλαξης M184V είναι χαμηλότερο στα νέα περιστατικά HIV λοίμωξης (1%-2%), αλλά σε άτομα υπό αγωγή, αυξάνεται σε εντυπωσιακά επίπεδα (49%-87%). Αντίστοιχα, στη

Μέση Ανατολή και τη Βόρεια Αφρική, το ποσοστό της M184V σε μεταδιδόμενη αντοχή είναι 1%, αλλά σε άτομα υπό αγωγή φτάνει το 41%.

Παγκοσμίως, ο επιπολασμός της M184V σε μεταδιδόμενη αντοχή ανέρχεται στο 1%, ενώ σε άτομα υπό αγωγή κυμαίνεται από 42% έως 71%, με τη Βραζιλία να ξεχωρίζει με ποσοστό 65,53%.

Η μετάλλαξη M184V αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αντοχή στα αντιρετροϊκά φάρμακα, υπογραμμίζοντας τη σημασία της παρακολούθησης και προσαρμογής της θεραπείας. Η σταδιακή αύξηση του επιπολασμού της μετάλλαξης σε περιοχές όπως η Κίνα επισημαίνει τη σημασία της συνεχούς παρακολούθησης. Συνολικά, η κατανόηση του επιπολασμού της μετάλλαξης M184V σε παγκόσμια κλίμακα παρέχει στους επαγγελματίες υγείας και τους ερευνητές σημαντικές πληροφορίες για τη βέλτιστη διαχείριση της θεραπείας του HIV-1 και την αντιμετώπιση της αντοχής στα φάρμακα. Η διαχείριση αυτή απαιτεί στρατηγικές που λαμβάνουν υπόψη τη γεωγραφική κατανομή, το οικονομικό υπόβαθρο των χωρών που εκδηλώνουν ανησυχητικά ποσοστά και τις εξελίξεις στον επιπολασμό της μετάλλαξης για μια αποτελεσματική πρόληψη και έλεγχο του HIV-1.

6. Επίλογος

Η εξέλιξη του επιπολασμού της μετάλλαξης M184V στο γονιδίωμα του HIV-1 αντικατοπτρίζει τη δυναμική του ιού και τις προκλήσεις που αντιμετωπίζει η παγκόσμια κοινότητα της υγείας στον τομέα της αντιρετροϊκής θεραπείας. Η ποικιλία των ποσοστών εμφάνισης μεταλλάξεων αντοχής σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές και οι διαφορές μεταξύ των νεοδιαγνωσθέντων και των υπό θεραπεία ατόμων αναδεικνύουν τη σημασία της προσαρμογής των κλινικών προσεγγίσεων.

Η εξέλιξη της μετάλλαξης M184V σε ποσοστά που ξεπερνούν το 50% σε ορισμένες περιοχές υπογραμμίζει την ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση και έρευνα. Η πρόοδος της επιστήμης και η κατανόηση των μηχανισμών εντοχής είναι απαραίτητες για τη διαμόρφωση πιο αποτελεσματικών και εξατομικευμένων θεραπευτικών στρατηγικών. Η παγκόσμια κοινότητα έχει μπροστά της την πρόκληση να προωθήσει έρευνες που θα κατανοούν τη δυναμική της μετάλλαξης M184V/I και θα προτείνουν νέες προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση της αντοχής. Η εξατομικευση της θεραπείας, λαμβάνοντας υπόψη τις χωρικές και κοινωνικές διαφορές, είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων και την επίτευξη βιώσιμης αντιμετώπισης του HIV-1.

Σε κλίμα ραγδαίων εξελίξεων, η συνεχής παρακολούθηση της επιδημιολογίας της μετάλλαξης M184V/I αποτελεί κλειδί για την αντίληψη των προκλήσεων που επικρατούν σε παγκόσμιο επίπεδο. Με ενισχυμένη συνεργασία μεταξύ κλινικών ερευνητικών ομάδων, εθνικών υγειονομικών αρχών και διεθνών οργανισμών, μπορούμε να διαμορφώσουμε πολιτικές και θεραπευτικές στρατηγικές που θα αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά την πρόκληση της αντοχής στη θεραπεία του HIV-1. Με αυτόν τον τρόπο, μπορεί να επιτευχθεί πρόοδος προς την κατεύθυνση μιας πιο αποτελεσματικής, προσιτής και εξειδικευμένης αντιμετώπισης του HIV-1, προσφέροντας έτσι ελπίδα για ένα υγιές μέλλον.

7. Βιβλιογραφία

- Abecasis, A. B., Wensing, A. M. J., Paraskevis, D., Vercauteren, J., Theys, K., Van de Vijver, D. A. M. C., Albert, J., Asjö, B., Balotta, C., Beshkov, D., Camacho, R. J., Clotet, B., De Gascun, C., Griskevicius, A., Grossman, Z., Hamouda, O., Horban, A., Kolupajeva, T., Korn, K., ... Vandamme, A. M. (2013). HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology*, *10*(1), 7–7. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-7>
- Abram, M. E., Ferris, A. L., Das, K., Quinoñes, O., Shao, W., Tuske, S., Alvord, W. G., Arnold, E., & Hughes, S. H. (2014a). Mutations in HIV-1 Reverse Transcriptase Affect the Errors Made in a Single Cycle of Viral Replication. *Journal of Virology*, *88*(13), 7589–7601. <https://doi.org/10.1128/JVI.00302-14>
- Abram, M. E., Ferris, A. L., Das, K., Quinoñes, O., Shao, W., Tuske, S., Alvord, W. G., Arnold, E., & Hughes, S. H. (2014b). Mutations in HIV-1 Reverse Transcriptase Affect the Errors Made in a Single Cycle of Viral Replication. *Journal of Virology*, *88*(13), 7589. <https://doi.org/10.1128/JVI.00302-14>
- Aibekova, L., Foley, B., Hortelano, G., Raees, M., Abdraimov, S., Toichuev, R., & Ali, S. (2018). Molecular epidemiology of HIV-1 subtype A in former Soviet Union countries. *PLOS ONE*, *13*(2), e0191891. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0191891>
- Aiken, C., & Rousso, I. (2021). The HIV-1 capsid and reverse transcription. *Retrovirology*, *18*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S12977-021-00566-0/FIGURES/2>
- Alexiev, I., Campbell, E. M., Knyazev, S., Pan, Y., Grigorova, L., Dimitrova, R., Partsuneva, A., Gancheva, A., Kostadinova, A., Seguin-Devaux, C., Elenkov, I., Yancheva, N., & Switzer, W. M. (2021). Molecular Epidemiological Analysis of the Origin and Transmission Dynamics of the HIV-1 CRF01_AE Sub-Epidemic in Bulgaria. *Viruses*, *13*(1). <https://doi.org/10.3390/V13010116>
- Anstett, K., Brenner, B., Mesplede, T., & Wainberg, M. A. (2017). HIV drug resistance against strand transfer integrase inhibitors. *Retrovirology*, *14*(1). <https://doi.org/10.1186/S12977-017-0360-7>

- Badaya, A., & Sasidhar, Y. U. (2020). Inhibition of the activity of HIV-1 protease through antibody binding and mutations probed by molecular dynamics simulations. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62423-y>
- Bbosa, N., Kaleebu, P., & Ssemwanga, D. (2019a). HIV subtype diversity worldwide. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 14(3), 153–160. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
- Bbosa, N., Kaleebu, P., & Ssemwanga, D. (2019b). HIV subtype diversity worldwide. In *Current Opinion in HIV and AIDS* (Vol. 14, Issue 3, pp. 153–160). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
- Bbosa, N., Kaleebu, P., & Ssemwanga, D. (2019c). HIV subtype diversity worldwide. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 14(3), 153–160. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
- Beloukas, A., Psarris, A., Giannelou, P., Kostaki, E., Hatzakis, A., & Paraskevis, D. (2016). Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 46, 180–189. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2016.06.033>
- Berkhout, B., van Wamel, J., & Klaver, B. (1995). Requirements for DNA strand transfer during reverse transcription in mutant HIV-1 virions. *Journal of Molecular Biology*, 252(1), 59–69. <https://doi.org/10.1006/JMBI.1994.0475>
- Biswas, A., Haldane, A., Arnold, E., & Levy, R. M. (2019). Epistasis and entrenchment of drug resistance in HIV-1 subtype B. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.50524>
- Bokharaei-Salim, F., Esghaei, M., Khanaliha, K., Kalantari, S., Marjani, A., Fakhim, A., & Keyvani, H. (2020). HIV-1 reverse transcriptase and protease mutations for drug-resistance detection among treatment-experienced and naïve HIV-infected individuals. *PLoS ONE*, 15(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0229275>
- Buckton, A. J., Prabhu, D., Motamed, C., Harris, R. J., Hill, C., Murphy, G., Parry, J. V., Johnson, J. A., Lowndes, C. M., Gill, N., Pillay, D., & Cane, P. A. (2011). Increased detection of the HIV-1 reverse transcriptase M184V mutation using mutation-specific minority assays in a UK surveillance study suggests evidence of unrecognized transmitted drug resistance. *HIV Medicine*, 12(4), 250–254. <https://doi.org/10.1111/J.1468-1293.2010.00882.X>
- Cañada, J. E., Delgado, E., Gil, H., Sánchez, M., Benito, S., García-Bodas, E., Gómez-González, C., Canut-Blasco, A., Portu-Zapirain, J., de Adana, E. S., De la Peña, M., Ibarra, S., Cilla, G., Iribarren, J. A., Martínez-Sapiña, A., & Thomson, M. M. (2021). Identification of a New HIV-1 BC Intersubtype Circulating Recombinant Form (CRF108_BC) in Spain. *Viruses*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/V13010093>
- Carvalho, A., Costa, P., Triunfante, V., Branca, F., Rodrigues, F., Santos, C. L., Correia-Neves, M., Saraiva, M., Lecour, H., Castro, A. G., Pedrosa, J., & Osório, N. S. (2015). Analysis of a local HIV-1 epidemic in Portugal highlights established transmission of non-B and non-G subtypes. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(5), 1506–1514. <https://doi.org/10.1128/JCM.03611-14>
- Chen, B. (2016). HIV Capsid Assembly, Mechanism, and Structure. *Biochemistry*, 55(18), 2539–2552. <https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCHEM.6B00159>
- Chen, B. (2019). Molecular Mechanism of HIV-1 Entry. *Trends in Microbiology*, 27(10), 878–891. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2019.06.002>

- Clutter, D. S., Jordan, M. R., Bertagnolio, S., & Shafer, R. W. (2016). HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, *46*, 292–307. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2016.08.031>
- Craigie, R. (2012). The molecular biology of HIV integrase. *Future Virology*, *7*(7), 679. <https://doi.org/10.2217/FVL.12.56>
- De Miguel, R., Rial-Crestelo, D., Dominguez-Dominguez, L., Montejano, R., Esteban-Cantos, A., Aranguren-Rivas, P., Stella-Ascariz, N., Bisbal, O., Bermejo-Plaza, L., Garcia-Alvarez, M., Alejos, B., Hernando, A., Santacreu-Guerrero, M., Cadiñanos, J., Mayoral, M., Castro, J. M., Moreno, V., Martin-Carbonero, L., Delgado, R., ... Arribas, J. R. (2020). Dolutegravir plus lamivudine for maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to lamivudine: 48-week results of a non-randomized, pilot clinical trial (ART-PRO). *EBioMedicine*, *55*, 102779. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2020.102779>
- Delaugerre, C., Nere, M. L., Eymard-Duvernay, S., Armero, A., Ciaffi, L., Koulla-Shiro, S., Sawadogo, A., Ngom Gueye, N. F., Ndour, C. T., Mpoudi Ngolle, M., Amara, A., Chaix, M. L., & Reynes, J. (2021). Deep sequencing analysis of M184V/I mutation at the switch and at the time of virological failure of boosted protease inhibitor plus lamivudine or boosted protease inhibitor maintenance strategy (substudy of the ANRS-MOBIDIP trial). *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *76*(5), 1286–1293. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAB002>
- Deshmukh, L., Tugarinov, V., Louis, J. M., & Clore, G. M. (2017). Binding kinetics and substrate selectivity in HIV-1 protease-Gag interactions probed at atomic resolution by chemical exchange NMR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(46), E9855–E9862. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1716098114>
- Deval, J., White, K. L., Miller, M. D., Parkin, N. T., Courcambeck, J., Halfon, P., Selmi, B., Boretto, J., & Canard, B. (2004). Mechanistic Basis for Reduced Viral and Enzymatic Fitness of HIV-1 Reverse Transcriptase Containing Both K65R and M184V Mutations. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(1), 509–516. <https://doi.org/10.1074/JBC.M308806200>
- Diallo, K., Götte, M., & Wainberg, M. A. (2003). Molecular Impact of the M184V Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *47*(11), 3377. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.11.3377-3383.2003>
- Eilers, G., Gupta, K., Allen, A., Zhou, J., Hwang, Y., Cory, M. B., Bushman, F. D., & Van Dyne, G. (2020). Influence of the amino-terminal sequence on the structure and function of HIV integrase. *Retrovirology*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/S12977-020-00537-X>
- Engelman, A. N., & Singh, P. K. (2018). Cellular and molecular mechanisms of HIV-1 integration targeting. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *75*(14), 2491–2507. <https://doi.org/10.1007/S00018-018-2772-5>
- Fabeni, L., Alteri, C., Di Carlo, D., Orchi, N., Carioti, L., Bertoli, A., Gori, C., Forbici, F., Continenza, F., Maffongelli, G., Pinnetti, C., Vergori, A., Mondì, A., Ammassari, A., Borghi, V., Giuliani, M., De Carli, G., Pittalis, S., Grisetti, S., ... Aviani Barbacci, S. (2017). Dynamics and phylogenetic relationships of HIV-1 transmitted drug resistance according to subtype in Italy over the years 2000-14. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(10), 2837–2845. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKX231>

- Fanales-Belasio, E., Raimondo, M., Suligoi, B., & Buttò, S. (2010). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, *46*(1), 5–14. https://doi.org/10.4415/ANN_10_01_02
- Faria, N. R., Rambaut, A., Suchard, M. A., Baele, G., Bedford, T., Ward, M. J., Tatem, A. J., Sousa, J. D., Arinaminpathy, N., Pépin, J., Posada, D., Peeters, M., Pybus, O. G., & Lemey, P. (2014). HIV epidemiology. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science (New York, N.Y.)*, *346*(6205), 56–61. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1256739>
- Figiel, M. L., Krepl, M., Poznański, J. L., Go-Láb, A., Šponer, J., & Nowotny, M. (2017). Coordination between the polymerase and RNase H activity of HIV-1 reverse transcriptase. *Nucleic Acids Research*, *45*(6), 3341–3352. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKX004>
- Flexner, C. (1998). HIV-protease inhibitors. *The New England Journal of Medicine*, *338*(18), 1281–1293. <https://doi.org/10.1056/NEJM199804303381808>
- Gagliardini, R., Ciccullo, A., Borghetti, A., Maggiolo, F., Bartolozzi, D., Borghi, V., Pecorari, M., Di Biagio, A., Callegaro, A. P., Bruzzone, B., Saladini, F., Paolucci, S., Maserati, R., Zazzi, M., Di Giambenedetto, S., & De Luca, A. (2018). Impact of the M184V resistance mutation on virological efficacy and durability of lamivudine-based dual antiretroviral regimens as maintenance therapy in individuals with suppressed HIV-1 RNA: A cohort study. *Open Forum Infectious Diseases*, *5*(6), 1–8. <https://doi.org/10.1093/OFID/OFY113>
- Gelderblom, H. R. (1996). Structure and Classification of Viruses. *Medical Microbiology*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8174/>
- Giovanetti, M., Ciccozzi, M., Parolin, C., & Borsetti, A. (2020). Molecular Epidemiology of HIV-1 in African Countries: A Comprehensive Overview. *Pathogens*, *9*(12), 1–10. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9121072>
- Götte, M., Arion, D., Parniak, M. A., & Wainberg, M. A. (2000). The M184V Mutation in the Reverse Transcriptase of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Impairs Rescue of Chain-Terminated DNA Synthesis. *Journal of Virology*, *74*(8), 3579. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.8.3579-3585.2000>
- Gounder, K., Oyaro, M., Padayachi, N., Zulu, T. M., De Oliveira, T., Wylie, J., & Ndung'u, T. (2017a). Complex Subtype Diversity of HIV-1 Among Drug Users in Major Kenyan Cities. *AIDS Research and Human Retroviruses*, *33*(5), 500–510. <https://doi.org/10.1089/AID.2016.0321>
- Gounder, K., Oyaro, M., Padayachi, N., Zulu, T. M., De Oliveira, T., Wylie, J., & Ndung'u, T. (2017b). Complex Subtype Diversity of HIV-1 Among Drug Users in Major Kenyan Cities. *AIDS Research and Human Retroviruses*, *33*(5), 500–510. <https://doi.org/10.1089/AID.2016.0321>
- Gregson, J., Tang, M., Ndembu, N., Hamers, R. L., Marconi, V. C., Brooks, K., Theys, K., Arruda, M., Garcia, F., Monge, S., Kanki, P. J., Kumarasamy, N., Kerschberger, B., Mor, O., Charpentier, C., Todesco, E., Rokx, C., Gras, L., Halvas, E. K., ... Murakami-Ogasawara, A. (2016). Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, *16*(5), 565–575. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00536-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00536-8)

- Hanke, K., Faria, N. R., Kühnert, D., Yousef, K. P., Hauser, A., Meixenberger, K., Hofmann, A., Bremer, V., Bartmeyer, B., Pybus, O., Kücherer, C., von Kleist, M., & Bannert, N. (2019). Reconstruction of the Genetic History and the Current Spread of HIV-1 Subtype A in Germany. *Journal of Virology*, *93*(12). <https://doi.org/10.1128/jvi.02238-18>
- Harrigan, P. R., Stone, C., Griffin, P., Nájera, I., Bloor, S., Kemp, S., Tisdale, M., & Larder, B. (2000). Resistance profile of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitor abacavir (1592U89) after monotherapy and combination therapy. CNA2001 Investigative Group. *The Journal of Infectious Diseases*, *181*(3), 912–920. <https://doi.org/10.1086/315317>
- He, S., Song, W., Guo, G., Li, Q., An, M., Zhao, B., Gao, Y., Tian, W., Wang, L., Shang, H., & Han, X. (2022). Multiple CRF01_AE/CRF07_BC Recombinants Enhanced the HIV-1 Epidemic Complexity Among MSM in Shenyang City, Northeast China. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.855049/FULL>
- Hebberecht, L., Vancoillie, L., Schauvliege, M., Staelens, D., Dauwe, K., Mortier, V., & Verhofstede, C. (2018). Frequency of occurrence of HIV-1 dual infection in a Belgian MSM population. *PLoS ONE*, *13*(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0195679>
- Hedskog, C., Mild, M., Jernberg, J., Sherwood, E., Bratt, G., Leitner, T., Lundeberg, J., Andersson, B., & Albert, J. (2010). Dynamics of HIV-1 Quasispecies during Antiviral Treatment Dissected Using Ultra-Deep Pyrosequencing. *PLOS ONE*, *5*(7), e11345. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0011345>
- Hemelaar, J. (2012). The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends in Molecular Medicine*, *18*(3), 182–192. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2011.12.001>
- Hemelaar, J., Elangovan, R., Yun, J., Dickson-Tetteh, L., Fleminger, I., Kirtley, S., Williams, B., Gouws-Williams, E., Ghys, P. D., Abimiku, A. G., Agwale, S., Archibald, C., Avidor, B., Barbás, M. G., Barre-Sinoussi, F., Barugahare, B., Belabbes, E. H., Bertagnolio, S., Birx, D., ... Zhang, R. (2019). Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *The Lancet. Infectious Diseases*, *19*(2), 143–155. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30647-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30647-9)
- Hemelaar, J., Elangovan, R., Yun, J., Dickson-Tetteh, L., Kirtley, S., Gouws-Williams, E., Ghys, P. D., Abimiku, A. G., Agwale, S., Archibald, C., Avidor, B., Barbás, M. G., Barre-Sinoussi, F., Barugahare, B., Belabbes, E. H., Bertagnolio, S., Birx, D., Bobkov, A. F., Brandful, J., ... Zhang, R. (2020). Global and regional epidemiology of HIV-1 recombinants in 1990-2015: a systematic review and global survey. *The Lancet. HIV*, *7*(11), e772–e781. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30252-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30252-6)
- Hill, M., Tachedjian, G., & Mak, J. (2005). The packaging and maturation of the HIV-1 Pol proteins. *Current HIV Research*, *3*(1), 73–85. <https://doi.org/10.2174/1570162052772942>
- Hoenigl, M., Chaillon, A., Kessler, H. H., Haas, B., Stelzl, E., Weninger, K., Little, S. J., & Mehta, S. R. (2016). Characterization of HIV Transmission in South-East Austria. *PLOS ONE*, *11*(3), e0151478. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0151478>
- Holec, A. D., Mandal, S., Prathipati, P. K., & Destache, C. J. (2017). Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors: A Thorough Review, Present Status and Future Perspective as HIV Therapeutics. *Current HIV Research*, *15*(6), 411. <https://doi.org/10.2174/1570162X15666171120110145>

- Hu, Z., & Kuritzkes, D. R. (2011). Interaction of Reverse Transcriptase (RT) Mutations Conferred Resistance to Lamivudine and Etravirine: Effects on Fitness and RT Activity of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Journal of Virology*, 85(21), 11309. <https://doi.org/10.1128/JVI.05578-11>
- Jary, A., Marcelin, A. G., Charpentier, C., Wirden, M., Lê, M. P., Peytavin, G., Descamps, D., & Calvez, V. (2020). M184V/I does not impact the efficacy of abacavir/lamivudine/dolutegravir use as switch therapy in virologically suppressed patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(5), 1290–1293. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAA019>
- Johnson, V. A. (1994). Combination therapy: more effective control of HIV type 1? *AIDS Research and Human Retroviruses*, 10(8), 907–912. <https://doi.org/10.1089/AID.1994.10.907>
- Kamelian, K., Lepik, K. J., Chau, W., Yip, B., Zhang, W. W., Lima, V. D., Robbins, M. A., Woods, C., Olmstead, A., Joy, J. B., Barrios, R., & Richard Harrigan, P. (2019). Prevalence of human immunodeficiency virus-1 integrase strand transfer inhibitor resistance in British Columbia, Canada between 2009 and 2016: A longitudinal analysis. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(3). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz060>
- Kapoor, A. K., & Padival, S. (2022). *HIV-2 Infection*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572083/>
- Karn, J., & Stoltzfus, C. M. (2012). Transcriptional and Posttranscriptional Regulation of HIV-1 Gene Expression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(2). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006916>
- Kostaki, E. G., Karamitros, T., Bobkova, M., Oikonomopoulou, M., Magiorkinis, G., Garcia, F., Hatzakis, A., & Paraskevis, D. (2018). Spatiotemporal Characteristics of the HIV-1 CRF02-AG/CRF63-02A1 Epidemic in Russia and Central Asia. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 34(5), 415–420. <https://doi.org/10.1089/aid.2017.0233>
- Kostaki, E. G., Nikolopoulos, G. K., Pavlitina, E., Williams, L., Magiorkinis, G., Schneider, J., Skaathun, B., Morgan, E., Psychogiou, M., Daikos, G. L., Sypsa, V., Smyrnov, P., Korobchuk, A., Malliori, M., Hatzakis, A., Friedman, S. R., & Paraskevis, D. (2018). Molecular analysis of human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1)-infected individuals in a network-based intervention (Transmission Reduction Intervention Project): Phylogenetics identify HIV-1-infected individuals with social links. *Journal of Infectious Diseases*, 218(5), 707–715. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy239>
- Li, M., Liang, S., Zhou, C., Chen, M., Liang, S., Liu, C., Zuo, Z., Liu, L., Feng, Y., Song, C., Xing, H., Ruan, Y., Shao, Y., & Liao, L. (2021). HIV Drug Resistance Mutations Detection by Next-Generation Sequencing during Antiretroviral Therapy Interruption in China. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10030264>
- Li, X., Liu, H., Liu, L., Feng, Y., Kalish, M. L., Ho, S. Y. W., & Shao, Y. (n.d.). *Tracing the epidemic history of HIV-1 CRF01_AE clusters using near-complete genome sequences*. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03820-8>
- Linchangco, G. V., Foley, B., & Leitner, T. (2022). Updated HIV-1 Consensus Sequences Change but Stay Within Similar Distance From Worldwide Samples. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.828765>
- Lu, X., Gao, W., Wang, Y., Liu, M., An, N., Li, Y., Zhang, Y., & Li, Q. (2023). Genome mosaic structure of two novel HIV-1 recombinant forms (CRF01_AE/B) in men who have

- sex with men in Hebei, China. *AIDS Research and Therapy*, 20(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S12981-023-00527-X/FIGURES/5>
- Lunar, M. M., Lepej, S. Ž., Tomažič, J., Vovko, T. D., Pečavar, B., Turel, G., Maver, M., & Poljak, M. (2018). HIV-1 transmitted drug resistance in Slovenia and its impact on predicted treatment effectiveness: 2011–2016 update. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196670>
- Machnowska, P., Meixenberger, K., Schmidt, D., Jessen, H., Hillenbrand, H., Gunsenheimer-Bartmeyer, B., Hamouda, O., Kücherer, C., & Bannert, N. (2019). Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort. *PLoS ONE*, 14(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0209605>
- McCormick, A. L., Goodall, R. L., Joyce, A., Ndambi, N., Chirara, M., Katundu, P., Walker, S., Yirell, D., Gilks, C. F., & Pillay, D. (2010). Lack of minority K65R-resistant viral populations detected after repeated treatment interruptions of tenofovir/zidovudine and lamivudine in a resource-limited setting. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)*, 54(2), 215–217. <https://doi.org/10.1097/QAI.0B013E3181CC1058>
- McCutchan, F. E. (2006). Global epidemiology of HIV. *Journal of Medical Virology*, 78 Suppl 1(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1002/JMV.20599>
- Metzner, K. J. (2022). Technologies for HIV-1 drug resistance testing: inventory and needs. Metzner, Karin J (2022). *Technologies for HIV-1 Drug Resistance Testing: Inventory and Needs. Current Opinion in HIV and AIDS*, 17(4):222-228., 17(4), 222–228. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000737>
- Metzner, K. J., Bonhoeffer, S., Fischer, M., Karanicolas, R., Allers, K., Joos, B., Weber, R., Hirschel, B., Kostrikis, L. G., & Günthard, H. F. (2003). Emergence of minor populations of human immunodeficiency virus type 1 carrying the M184V and L90M mutations in subjects undergoing structured treatment interruptions. *The Journal of Infectious Diseases*, 188(10), 1433–1443. <https://doi.org/10.1086/379215>
- Monno, L., Brindicci, G., Lo Caputo, S., Punzi, G., Scarabaggio, T., Riva, C., Di Bari, C., Pierotti, P., Saracino, A., Lagioia, A., Mazzotta, F., Balotta, C., & Angarano, G. (2005). HIV-1 subtypes and circulating recombinant forms (CRFs) from HIV-infected patients residing in two regions of central and southern Italy. *Journal of Medical Virology*, 75(4), 483–490. <https://doi.org/10.1002/JMV.20300>
- Mortier, V., Debaisieux, L., Dessilly, G., Stoffels, K., Vaira, D., Vancutsem, E., Van Laethem, K., Vanroye, F., & Verhofstede, C. (2022). Prevalence and Evolution of Transmitted Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance in Belgium Between 2013 and 2019. *Open Forum Infectious Diseases*, 9(7). <https://doi.org/10.1093/OFID/OFAC195>
- Naif, H. M. (2013). Pathogenesis of HIV Infection. *Infectious Disease Reports*, 5(Suppl 1), 26–30. <https://doi.org/10.4081/IDR.2013.S1.E6>
- Nasir, A., Kim, K. M., & Caetano-Anollés, G. (2012). Viral evolution: Primordial cellular origins and late adaptation to parasitism. *Mobile Genetic Elements*, 2(5), 247. <https://doi.org/10.4161/MGE.22797>
- Ndashimye, E., & Arts, E. J. (2021). Dolutegravir response in antiretroviral therapy naïve and experienced patients with M184V/I: Impact in low-and middle-income settings. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*

Journal of the Society for Infectious Diseases, 105, 298–303.
<https://doi.org/10.1016/J.IJID.2021.03.018>

Nikolopoulos, G., Paraskevis, D., & Hatzakis, A. (2008). HIV epidemiology in Greece. *Future Microbiology*, 3(5), 507–516. <https://doi.org/10.2217/17460913.3.5.507>

Palich, R., Teyssou, E., Sayon, S., Abdi, B., Soulie, C., Cuzin, L., Tubiana, R., Valantin, M. A., Schneider, L., Seang, S., Wirden, M., Pourcher, V. C. D. S., Katlama, C., Calvez, V., & Marcelin, A. G. (2022a). Kinetics of Archived M184V Mutation in Treatment-Experienced Virally Suppressed HIV-Infected Patients. *The Journal of Infectious Diseases*, 225(3), 502–509. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAB413>

Palich, R., Teyssou, E., Sayon, S., Abdi, B., Soulie, C., Cuzin, L., Tubiana, R., Valantin, M. A., Schneider, L., Seang, S., Wirden, M., Pourcher, V. C. D. S., Katlama, C., Calvez, V., & Marcelin, A. G. (2022b). Kinetics of Archived M184V Mutation in Treatment-Experienced Virally Suppressed HIV-Infected Patients. *The Journal of Infectious Diseases*, 225(3), 502–509. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAB413>

Panichsillapakit, T., Smith, D. M., Wertheim, J. O., Richman, D. D., Little, S. J., & Mehta, S. R. (2016). Prevalence of Transmitted HIV Drug Resistance among Recently Infected Persons in San Diego, CA 1996-2013. In *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (Vol. 71, Issue 2, pp. 228–236). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000831>

Paraskevic, D., Magiorkinis, M., Vandamme, A. M., Kostrikis, L. G., & Hatzakis, A. (2001). Re-analysis of human immunodeficiency virus type 1 isolates from Cyprus and Greece, initially designated “subtype I”, reveals a unique complex A/G/H/K/? mosaic pattern. *The Journal of General Virology*, 82(Pt 3), 575–580. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-3-575>

Paraskevis, D. (2013). HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology*. https://www.academia.edu/23488725/HIV_1_subtype_distribution_and_its_demographic_determinants_in_newly_diagnosed_patients_in_Europe_suggest_highly_compartmentalized_epidemics

Paraskevis, D., Beloukas, A., Stasinou, K., Pantazis, N., De Mendoza, C., Bannert, N., Meyer, L., Zangerle, R., Gill, J., Prins, M., D’Arminio Montforte, A., Kran, A. M. B., Porter, K., & Touloumi, G. (2019). HIV-1 molecular transmission clusters in nine European countries and Canada: association with demographic and clinical factors. *BMC Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/S12916-018-1241-1>

Peeters, M., Jung, M., & Ayouba, A. (2013). The origin and molecular epidemiology of HIV. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(9), 885–896. <https://doi.org/10.1586/14787210.2013.825443>

- Procter, K., Resta, P., Kotsianopoulou, M., Tzanakaki, G., & Beloukas, A. (2022, September). *Laboratory Surveillance of Drug Resistance Mutations in Antiretroviral Therapy among Individuals Living with HIV: Data from the National AIDS Reference Center of Southern Greece (NARCSG)*.
https://www.researchgate.net/publication/367347249_ERGASTERIAKE_EPITERESE_TOU_EPIPO-LASMOU_TON_METALLAXEON_ANTOCHES_STEN_ANTIRETROIKE_THERAPEIA_SE_A TO-MA_POU_ZOUN_ME_TON_IO_HIV_DEDOMENA_TOU_ETHNIKOU_KENTROU_ANAPHORAS_AIDS_NOTIOU_ELLADOS_EKAANE
- Qadir, M. I., & Malik, S. A. (2010). HIV fusion inhibitors. *Reviews in Medical Virology*, 20(1), 23–33.
<https://doi.org/10.1002/RMV.631>
- Reis, M. N. G., Guimarães, M. L., Bello, G., & Stefani, M. M. A. (2019). Identification of new HIV-1 circulating recombinant forms CRF81-cpx and CRF99-BF1 in central Western Brazil and of unique BF1 recombinant forms. *Frontiers in Microbiology*, 10(FEB), 430521.
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00097/BIBTEX>
- Rhee, S.-Y., Kassaye, S. G., Barrow, G., Sundaramurthi, J. C., Jordan, M. R., & Shafer, R. W. (2020). *HIV-1 transmitted drug resistance surveillance: shifting trends in study design and prevalence estimates*. <https://doi.org/10.1002/jia2.25611/full>
- Robertson, D. L., Anderson, J. P., Bradac, J. A., Carr, J. K., Foley, B., Funkhouser, R. K., Gao, F., Hahn, B. H., Kuiken, C., Learn, G. H., Leitner, T., Mccutchan, F., Osmanov, S., Peeters, M., Pieniazek, D., Kalish, M. L., Salminen, M., Sharp, P., Wolinsky, S., & Korber, B. (n.d.). *HIV-1 Nomenclature Proposal A Reference Guide to HIV-1 Classification*.
- Sacks, D., Ledwaba, J., Morris, L., & Hunt, G. M. (2016). Rapid Detection of Common HIV-1 Drug Resistance Mutations by Use of High-Resolution Melting Analysis and Unlabeled Probes. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(1), 122–133. <https://doi.org/10.1128/JCM.01291-16>
- Santoro, M. M., Armenia, D., Teyssou, E., Santos, J. R., Charpentier, C., Lambert-Niclot, S., Antinori, A., Katlama, C., Descamps, D., Perno, C. F., Calvez, V., Paredes, R., Ceccherini-Silberstein, F., & Marcelin, A. G. (2022). Virological efficacy of switch to DTG plus 3TC in a retrospective observational cohort of suppressed HIV-1 patients with or without past M184V: the LAMRES study. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 31, 52–62.
<https://doi.org/10.1016/J.JGAR.2022.07.022>

- Santos-Pereira, A., Triunfante, V., Araújo, P. M. M., Martins, J., Soares, H., Poveda, E., Souto, B., & Osório, N. S. (2021). Nationwide study of drug resistance mutations in hiv-1 infected individuals under antiretroviral therapy in Brazil. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5304. <https://doi.org/10.3390/IJMS22105304/S1>
- Scarsi, K. K., Havens, J. P., Podany, A. T., Avedissian, S. N., & Fletcher, C. V. (2020). HIV-1 Integrase Inhibitors: A Comparative Review of Efficacy and Safety. *Drugs*, 80(16), 1649–1676. <https://doi.org/10.1007/S40265-020-01379-9>
- Sebastián-Martín, A., Barrioluengo, V., & Menéndez-Arias, L. (n.d.). *Transcriptional inaccuracy threshold attenuates differences in RNA-dependent DNA synthesis fidelity between retroviral reverse transcriptases OPEN*. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18974-8>
- Sharp, P. M., & Hahn, B. H. (2011). Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*: 1(1). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006841>
- Shaw, G. M., & Hunter, E. (2012). HIV Transmission. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006965>
- Shaw-Reid, C. A., Feuston, B., Munshi, V., Getty, K., Krueger, J., Hazuda, D. J., Parniak, M. A., Miller, M. D., & Lewis, D. (2005). Dissecting the effects of DNA polymerase and ribonuclease H inhibitor combinations on HIV-1 reverse-transcriptase activities. *Biochemistry*, 44(5), 1595–1606. https://doi.org/10.1021/BI0486740/SUPPL_FILE/BI0486740SI20041024_093717.PDF
- Simon, V., Ho, D. D., & Abdool Karim, Q. (2006). HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet*, 368(9534), 489. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69157-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69157-5)
- Stanojevic, M., Alexiev, I., Beshkov, D., Gökengin, D., Mezei, M., Minarovits, J., Otelea, D., Paraschiv, S., Poljak, M., Zidovec-Lepej, S., & Paraskevis, D. (n.d.). HIV-1 Molecular Epidemiology in the Balkans – A Melting Pot for High Genetic Diversity. *Aids Reviews*.
- Sundquist, W. I., & Kräusslich, H. G. (2012). HIV-1 assembly, budding, and maturation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(7). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006924>
- Swanson, C. M., & Malim, M. H. (2008). SnapShot: HIV-1 proteins. *Cell*, 133(4). <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2008.05.005>
- Tamalet, C., Ravaux, I., Moreau, J., Bréigigeon, S., Tourres, C., Richet, H., Abat, C., & Colson, P. (2015). Emergence of clusters of CRF02_AG and B human immunodeficiency viral strains

- among men having sex with men exhibiting HIV primary infection in southeastern France. *Journal of Medical Virology*, 87(8), 1327–1333. <https://doi.org/10.1002/JMV.24184>
- Teri Shors. (2020). Ιολογία-Εξερευνώντας τους Ιούς. In *Broken Hills*. <https://metabook.gr/books/iologhia-ekserefnwntas-toys-ious-teri-shors-229555>
- Thomas Ginat, D., & Whitney Schaefer, P. (2023). Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART). *Neuroimaging Pharmacopoeia, Second Edition*, 229–238. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08774-5_31
- Tumiotto, C., Bellecave, P., Recordon-Pinson, P., Groppi, A., Nikolski, M., & Fleury, H. (2018). Diversity of HIV-1 in Aquitaine, Southwestern France, 2012-2016. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 34(5), 471–473. <https://doi.org/10.1089/AID.2017.0298>
- Turner, D., Brenner, B., & Wainberg, M. A. (2003). Multiple Effects of the M184V Resistance Mutation in the Reverse Transcriptase of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10(6), 979. <https://doi.org/10.1128/CDLI.10.6.979-981.2003>
- Vannappagari, V., Ragone, L., Henegar, C., Wyk, J. Van, Brown, D., Demarest, J., Quercia, R., Clair, M. S., Underwood, M., Gatell, J. M., Ruitter, A. De, & Aboud, M. (2019). Prevalence of pretreatment and acquired HIV-1 mutations associated with resistance to lamivudine or rilpivirine: A systematic review. *Antiviral Therapy*, 24(6), 393–404. https://doi.org/10.3851/IMP3331/ASSET/IMAGES/LARGE/10.3851_IMP3331-FIG4.JPEG
- Vogt, V. (1997). Retroviral Virions and Genomes. *Retroviruses*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19454/>
- Voshavar, C. (2019). Protease Inhibitors for the Treatment of HIV/AIDS: Recent Advances and Future Challenges. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(18), 1571–1598. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190619115243>
- Wainberg, M. A. (2011). Interactions of different drug resistance mutations in HIV Reverse Transcriptase in defining patterns of drug resistance. *Retrovirology* 2011 8:2, 8(2), 1–2. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-S2-O14>
- Wang, Y., De Clercq, E., & Li, G. (2019). Current and emerging non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) for HIV-1 treatment. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 15(10), 813–829. <https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1673367>

- Weber, I. T., Wang, Y. F., & Harrison, R. W. (2021). HIV Protease: Historical Perspective and Current Research. *Viruses*, 13(5). <https://doi.org/10.3390/V13050839>
- Weinberg, J. L., & Kovarik, C. L. (2010). The WHO clinical staging system for HIV/AIDS. *Virtual Mentor*, 12(3), 202–206. <https://doi.org/10.1001/VIRTUALMENTOR.2010.12.3.CPRL1-1003>
- Wensing, A. M., Calvez, V., Ceccherini-Silberstein, F., Charpentier, C., Günthard, H. F., Paredes, R., Shafer, R. W., & Richman, D. D. (2022). 2022 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Topics in Antiviral Medicine*, 30(4), 559. [/pmc/articles/PMC9681141/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39681141/)
- WHO clinical staging of HIV disease in adults, adolescents and children. (2016). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK374293/>
- Xavier RUIZ, F., & Arnold, E. (2020). Evolving understanding of HIV-1 reverse transcriptase structure, function, inhibition, and resistance. In *Current Opinion in Structural Biology* (Vol. 61, pp. 113–123). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.11.011>
- Xiao, T., Cai, Y., & Chen, B. (2021). HIV-1 Entry and Membrane Fusion Inhibitors. *Viruses*, 13(5). <https://doi.org/10.3390/V13050735>
- Yahi, N., Tamalet, C., Tourrès, C., Tivoli, N., Ariasi, F., Volot, F., Gastaut, J. A., Gallais, H., Moreau, J., & Fantini, J. (1999). Mutation Patterns of the Reverse Transcriptase and Protease Genes in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Patients Undergoing Combination Therapy: Survey of 787 Sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 4099. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.12.4099-4106.1999>
- Yu, B., Jin, C., Ma, Z., Cai, Z., Li, T., Wang, D., Xiao, W., Zheng, Y., Yin, W., Wu, N., & Jiang, M. (2021). A new sensitive and robust next-generation sequencing platform for HIV-1 drug resistance mutations testing. *MedRxiv*, 2021.07.13.21260248. <https://doi.org/10.1101/2021.07.13.21260248>
- Zerbini, F. M., Siddell, S. G., Lefkowitz, E. J., Mushegian, A. R., Adriaenssens, E. M., Alfenas-Zerbini, P., Dempsey, D. M., Dutilh, B. E., García, M. L., Hendrickson, R. C., Junglen, S., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Lambert, A. J., Łobocka, M., Oksanen, H. M., Robertson, D. L., Rubino, L., Sabanadzovic, S., ... Varsani, A. (2023). Changes to virus taxonomy and the ICTV Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2023). *Archives of Virology*, 168(7). <https://doi.org/10.1007/S00705-023-05797-4>

Zou, X., He, J., Zheng, J., Malmgren, R., Li, W., Wei, X., Zhang, G., & Chen, X. (2020). Prevalence of acquired drug resistance mutations in antiretroviral-experiencing subjects from 2012 to 2017 in Hunan Province of central South China. *Virology Journal*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S12985-020-01311-3/TABLES/4>

Πρόκτερ Κασσάνδρα, Ρέστα Παναγιώτα, Κοτσιανοπούλου Μαρία, Τζανακάκη Τζωρτζίνα, & Μπελούκας Απόστολος. (2022). ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΕΩΝ ΔΙΑΓΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ ΚΕΝΤΡΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ AIDS ΝΟΤΙΟΥ ΕΛΛΑΔΟΣ (ΕΚΑΑΝΕ) ΓΙΑ ΤΟ 2022. Κ. Λαζανάς (Ed.), *34ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS* (p. 34).