

На правах рукописи

Антонова Анастасия Александровна

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ ФОРМЫ ВИЧ-1 НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ
ЭПИДЕМИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

1.5.10. Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Научный руководитель:

Бобкова Марина Ридовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (до 10 февраля 2023 г.); главный специалист лаборатории биологии лентивирусов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Официальные оппоненты:

Останкова Юлия Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Сайдакова Евгения Владимировна – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «23» октября 2023 г. в 12 часов на заседании Диссертационного совета 21.1.018.02 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и на сайте Центра www.gamaleya.org

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Бурцева Е.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. На сегодняшний день ВИЧ-инфекция остается одной из ключевых проблем глобального общественного здравоохранения. Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), по состоянию на конец 2021 года общемировое число людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВС), составило около 38,4 миллионов человек [Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ). Информационный бюллетень ВИЧ, 2022]. В Российской Федерации данный показатель составил 1 137 596 человек [ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2021 г.», 2022].

От момента регистрации первого случая ВИЧ-инфекции в 1981 году (США) и до настоящего времени данное заболевание перешло из разряда смертельных в хронические и контролируемые благодаря разработке и применению целого ряда антиретровирусных препаратов (АРВП), действие которых направлено на подавление размножения вируса и, как следствие, снижение вирусной нагрузки в организме инфицированного.

В 2014 году Объединенной программой Организации Объединенных Наций (ООН) по ВИЧ/СПИДу (ЮНЭЙДС, UNAIDS) была принята стратегия «90-90-90» (ныне «95-95-95»), согласно которой 90% людей, живущих с ВИЧ, должны знать о своем статусе; 90% из них – получать антиретровирусную терапию (АРТ), и 90% из пациентов, находящихся на терапии, – достигнуть неопределяемых показателей вирусной нагрузки. Цель данной стратегии направлена на существенное сокращение возникновения и распространения новых случаев ВИЧ-инфекции в мире и в перспективе – на искоренение (то есть отсутствие новых случаев) СПИДа к 2030 году [ЮНЭЙДС. Документы – Парижская декларация, 2022].

Одним из серьезных препятствий на пути достижения успеха лечения при применении антиретровирусной терапии является феномен лекарственной устойчивости ВИЧ-1, который характеризуется наличием в геноме вируса мутаций, оказывающих влияние на его чувствительность к лекарственным препаратам. Общность методологии позволяет считать слежение за лекарственной устойчивостью ВИЧ-1 частью работы по молекулярно-генетическому мониторингу, предназначенному для определения генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на определенной территории или в пределах групп риска. Все это позволяет прогнозировать эпидемическую ситуацию и осуществлять своевременное вмешательство в ход эпидемического процесса. Таким образом, молекулярно-генетический мониторинг эпидемии ВИЧ-инфекции является приоритетной задачей мирового научного сообщества.

Степень разработанности темы исследования. Работы по молекулярно-генетическому мониторингу на территории Российской Федерации были начаты с

момента регистрации первого случая ВИЧ-инфекции у гражданина Советского Союза (проживавшего на территории г. Москвы) в 1987 году. Уже в первые годы масштабной эпидемии ВИЧ-1 в России (1995–1998 гг.) был отмечен ее уникальный характер: она была вызвана единичными случаями заражения вирусом подтипа IDU-A (injecting drug use-A, в настоящее время – А6), распространившимся в короткие сроки по всем регионам страны и не испытывавшим при этом почти никаких генетических преобразований [Aibekova L. et al., 2018]. В связи с этим эпидемия ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации долгое время характеризовалась низким генетическим разнообразием вирусных вариантов с преобладанием вирусов суб-субтипа А6. В настоящее время на территории России циркулирует более 10 генетических вариантов ВИЧ-1, в том числе рекомбинантных форм CRF02_AG, CRF03_AB, CRF63_02A6 и других, что создает благоприятные условия для формирования вирусов, новых уникальных рекомбинантных форм [Лаповок И. А. и др., 2017].

Вирусы рекомбинантных форм играют важную роль в пандемии ВИЧ-инфекции по целому ряду причин. Перестройка вирусного генома путем рекомбинации может оказывать влияние на биологические свойства вируса, способствовать формированию множественной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 за счет объединения целого ряда мутаций в пределах одного генома, а также выступать катализатором передачи и распространения устойчивых вариантов вируса среди пациентов, ранее не получающих АРТ. Такое сочетанное действие рекомбинационных и мутационных процессов является основой для эволюции вируса иммунодефицита в целом и может значительно усложнить процессы диагностики, профилактики и лечения ВИЧ-инфекции, значительно снижая эффективность применяемой антиретровирусной терапии.

В связи со всем вышеизложенным, молекулярно-генетический мониторинг ВИЧ-1 является важной задачей мирового научного сообщества, позволяя определить основные генетические варианты вируса (включая его рекомбинантные формы), циркулирующие в пределах определенной территории, а также оценить их устойчивость к применяемой на данной территории антиретровирусной терапии.

Цель исследования – выявление и детальный анализ рекомбинантных форм ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2011 по 2020 год.

Задачи исследования:

1. Выполнить анализ нуклеотидных последовательностей области гена *pol*, кодирующей ферменты вируса – протеазу и обратную транскриптазу, образцов ВИЧ-1, полученных на территории Российской Федерации в период 2011–2020 гг.
2. Охарактеризовать генетическое разнообразие рекомбинантных форм ВИЧ-1, выявленных на территории Российской Федерации.
3. Изучить структуру генома уникальных рекомбинантов, выявленных на территории Российской Федерации.

4. Провести оценку распространенности рекомбинантных форм ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2011 по 2020 год.

5. Провести сравнительный анализ первичной лекарственной устойчивости к основным классам антиретровирусных препаратов для ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов, циркулирующих на территории России.

6. Оценить генетическое разнообразие и факторы риска передачи первично устойчивых вариантов ВИЧ-1 рекомбинантных форм.

Научная новизна. При выполнении данного исследования были проанализированы более 3000 нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1, полученных в рамках молекулярно-генетического мониторинга эпидемии ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации за десятилетний период (2011–2020 гг.); впервые показан вклад вирусов рекомбинантных форм в генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии.

Впервые проведен детальный анализ структуры генома с определением точек рекомбинации для выявленных на территории России уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1.

Впервые осуществлен анализ первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов, и выявлены статистически значимые различия при сравнении их профилей резистентности, а также выявлены мутации лекарственной устойчивости (МЛУ), обладающие субтипической спецификой.

Впервые охарактеризована когорта пациентов, инфицированных первично устойчивыми вариантами ВИЧ-1 рекомбинантных форм.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты дополнили существующие на сегодняшний день представления об эпидемии ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации, показав ее переход от генетически однородной – к эпидемии с высоким генетическим разнообразием вируса. Выявлена достоверная тенденция к увеличению частоты встречаемости ВИЧ-1 рекомбинантных форм на территории Российской Федерации с течением времени.

Выявленные статистически значимые различия распространенности лекарственной устойчивости среди ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов позволяют оценить и спрогнозировать эффективность применяемых в настоящее время схем антиретровирусной терапии.

Анализ когорты пациентов, инфицированных первично устойчивыми вариантами ВИЧ-1 рекомбинантных форм, позволяет определить наиболее значимые в эпидемическом отношении категории лиц, способных оказывать значительное влияние на распространение данных вариантов вируса.

Результаты оценки распространенности и анализа первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов являются

основополагающими данными при выборе наиболее эффективных схем антиретровирусной терапии на популяционном уровне.

Все полученные в ходе настоящего исследования нуклеотидные последовательности были депонированы в международную базу данных генотипов GenBank [HIV Databases, 2022].

Внедрение полученных результатов в практику. Полученные результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России), а также в научно-практическую деятельность государственного казенного учреждения здравоохранения Московской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями» при работе с когортой потребителей инъекционных наркотиков (ГКУЗ МО ЦПБ СПИД ИЗ).

В ходе выполнения данной диссертационной работы также была разработана и внедрена в лабораторную практику стандартная операционная процедура (СОП): «Метод экстракции геномной ДНК человека с интегрированной ДНК ВИЧ-1 из биологического материала (замороженной цельной крови)».

Методология и методы исследования. Методологическая основа диссертационной работы спланирована согласно поставленной цели исследования. Для решения поставленных задач на всех этапах исследования применялись современные молекулярные и статистические методы: экстракции провирусной ДНК ВИЧ-1 из лимфоцитов и цельной замороженной крови, РНК вируса – из плазмы крови; ПЦР-амплификация (Nested PCR) целевых фрагментов генома; очистка ПЦР-продуктов на магнитных частицах или колоночным методом; автоматическое секвенирование по Сэнгеру; а также современные биоинформатические методы: множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей, определение их субтиповой принадлежности, филогенетический и рекомбинационный анализ и анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Для оценки полученных результатов использовали классические методы прикладной статистики; визуализацию полученных данных осуществляли с применением программного обеспечения RStudio.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эпидемия ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации на современном этапе характеризуется высоким генетическим разнообразием ВИЧ-1.
2. Вирусы рекомбинантных форм распространяются как в результате единичных заносов на территорию Российской Федерации, так и множественных случаев передачи внутри страны.

3. Совместная циркуляция ВИЧ-1 разных генетических вариантов на территории Российской Федерации способствует формированию уникальных рекомбинантных форм, образованных, в первую очередь, между вирусами наиболее распространенных субтипов – А6 и В.

4. Наблюдается тенденция к росту частоты встречаемости рекомбинантных форм ВИЧ-1 на территории Российской Федерации с течением времени.

5. Распространенность первичной резистентности и профиль мутаций лекарственной устойчивости у ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов имеют статистически значимые различия: распространенность первичной лекарственной устойчивости среди ВИЧ-1 рекомбинантных форм выше, чем у вирусов «чистых» субтипов; среди вирусов рекомбинантных форм преобладает мутация K103N, среди вирусов «чистых» субтипов – M184V.

6. В когорте пациентов, инфицированных первично устойчивыми вариантами ВИЧ-1 рекомбинантных форм, преобладают потребители инъекционных наркотиков.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов обусловлена репрезентативным объемом выборки (N=3178 нуклеотидных последовательностей) и применением адекватных поставленным задачам методов исследования. Модель замещения нуклеотидов при выполнении филогенетического анализа выбирали на основании информационного критерия Акаике. Оценка достоверности выведенных филогений проводилась с использованием статистических методов численного ресэмплинга (bootstrap) и критерия приблизительного отношения правдоподобия Шимодайры-Хасегавы (SH-aLRT) с 1000 послестартовых итераций. Кластеры с поддержкой SH-aLRT более 0,9 считались достоверно установленными.

Проверка статистических гипотез осуществлялась при допустимом в медико-биологических исследованиях 5%-ом уровне значимости ($p < 0,05$).

Апробация результатов. Основные результаты работы были представлены на следующих научных мероприятиях: 17-ая Европейская конференция по СПИДу (6–9 ноября 2019 г.; Базель, Швейцария) – постерный доклад; 18-ая Европейская встреча по ВИЧ и гепатиту (28–30 октября 2020 г.; Париж, Франция) – тезис и постерный доклад; IX Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (08–11 ноября 2022 г.; Сочи, Россия) – тезис и постерный доклад.

Декларация личного участия автора. Разработка методологии данного исследования проводилась автором самостоятельно. Сбор материалов для анализа с подробными клинико-эпидемиологическими данными осуществляли сотрудники федеральных и региональных Центров по профилактике и борьбе со СПИДом.

Выделение РНК ВИЧ-1 или провирусной ДНК, реакция обратной транскрипции, полимеразная цепная реакция (ПЦР), очистка продуктов амплификации, секвенирование

и очистка продуктов секвенирования проводились автором лично и совместно с сотрудниками лаборатории вирусов лейкозов подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России – к.б.н. Лебедевым А.В., к.б.н. Лагой В.Ю., Громовым К.Б., Ожмеговой Е.Н., Тумановым А.С., Ким К.В., д.б.н. Казенновой Е.В.

Все последующие этапы работы, включая филогенетический и рекомбинационный анализ, а также анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1, проведены автором лично.

Анализ и обсуждение полученных результатов также выполнены лично автором, самостоятельно или при непосредственном участии автора подготовлены публикации по материалам исследования. Суммарное личное участие автора в работе составляет не менее девяноста процентов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности 1.5.10. «Вирусология». Основные научные положения диссертации соответствуют п. 4, п. 8 и п. 10 паспорта научной специальности 1.5.10. «Вирусология».

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 9 научных трудов, из них – 4 статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК, 3 статьи в зарубежных изданиях и 2 тезиса в сборниках материалов всероссийских и международных конференций, симпозиумов и съездов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, а также заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и двух приложений. Работа иллюстрирована 17 рисунками и содержит 11 таблиц. Список литературы состоит из 200 источников, из них 14 отечественных и 186 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили образцы ВИЧ-1, полученные от ВИЧ-инфицированных лиц из 7 федеральных округов РФ в ходе выполнения систематической работы по молекулярно-генетическому мониторингу эпидемии ВИЧ-инфекции в России в период с 2011 по 2020 год. Материалом исследования служили лимфоциты 613 ВИЧ-инфицированных лиц, плазма крови 2502 пациентов и замороженная цельная кровь 63 пациентов федеральных и региональных Центров СПИД. Выявление факторов риска и вероятных мест инфицирования, а также эпидемиологических связей с другими ВИЧ-инфицированными лицами проводили путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза.

Остальные клинико-эпидемиологические данные, необходимые для исследования, были получены на основании записей в амбулаторных картах.

Процедуры забора крови, получения лимфоцитов и плазмы крови осуществляли сотрудники федеральных и региональных Центров СПИД.

Экстракция РНК ВИЧ-1 из плазмы цельной крови в системе генотипирования ViroSeq HIV-1. Пробу плазмы крови в объеме 0,5 мл вначале центрифугировали при 4 °С для концентрирования вирусных частиц на дне пробирки, затем удаляли супернатант и к полученному осадку добавляли буфер лизиса вируса (viral lysis buffer). Вирусную РНК осаждали изопропанолом и очищали 70%-ным этанолом. Очищенную вирусную РНК высушивали и ресуспендировали в растворителе РНК (RNA Diluent).

Экстракцию провирусной ДНК из лимфоцитов и замороженной цельной крови выполняли с использованием автоматической системы экстракции DNA/RNA Extractor QIAcube (“QIAGEN”, Германия) и коммерческого набора реактивов для выделения ДНК QIAamp DNA Blood Mini Kit (“QIAGEN”, Германия), согласно протоколу фирмы-производителя.

Аmplификацию фрагментов гена *pol* ВИЧ-1 проводили в автоматическом режиме по двум схемам «гнездовой (Nested)» двухраундовой ПЦР:

1. Схема А – с использованием праймеров RP1S, RP1A для первого раунда и PROS2, RTOA для второго раунда с получением единого фрагмента, кодирующего протеазу (PR; позиция 2253–2549 относительно генома референсного штамма HXB2 ВИЧ-1, GenBank Accession №: K03455) и часть (2/3) обратной транскриптазы (RT; HXB2-позиция: 2250–3206).

2. Схема Б (использовалась в случае неудачи со схемой А) – с использованием праймеров POM, R2726 и F2111, polR1 для первого и второго раундов, соответственно, для получения фрагмента, кодирующего протеазу; и F2491, RT2A – первый раунд, и RT1A, R3271 – второй раунд, – для получения фрагмента, кодирующего часть обратной транскриптазы.

В случае работы с РНК ВИЧ-1 на первой стадии проводили реакцию обратной транскрипции (схема В).

Очистку амплифицированных ДНК-фрагментов проводили с использованием коммерческого набора для очистки ДНК из реакционных смесей при помощи суспензии магнитных частиц («Силекс», Россия) или набора для очистки ПЦР-фрагментов – Cleanup S-Cap («Евроген», Россия) в соответствии с протоколами фирм-производителей.

Секвенирование ДНК осуществляли дидезокси-методом по Сэнгеру, основанном на включении терминирующих дидезокинуклеотидов с флуоресцентными метками при синтезе цепи ДНК, с использованием коммерческого набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (“Applied Biosystems”, США) согласно протоколу фирмы-производителя [Sanger F. et al., 1977]. Обработка полученных нуклеотидных

последовательностей осуществлялась с помощью программ Sequencing Analyzer v. 5.2 (“Applied Biosystems”, США). Для проведения реакции секвенирования в системе ViroSeq использовали готовые смеси (HIV SEQ Mix A-H, включающие в себя соответствующие праймеры). Обработка последовательностей осуществлялась автоматически с помощью программного обеспечения ViroSeq HIV-1 Genotyping Software v. 3.0.

Редактирование и конструирование консенсусных нуклеотидных последовательностей выполняли с применением приложения SeqMan II (DNASTAR Inc, США). Попарное и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей было выполнено с помощью модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет AliView [Larsson A., 2014]. При выявлении проблемных участков в полученных алайнментах проводили дополнительное выравнивание последовательностей «вручную».

Предварительное **определение генетических вариантов ВИЧ-1** осуществляли с применением программ: COMET HIV-1 [Struck D. et al., 2014], HIVdbProgram Sequence Analysis, представленной на сайте Стэнфордского университета [Shafer R. W., 2006] и REGA HIV-1 Subtyping Tool (V3) [Pineda-Peña A. C. et al., 2013].

Для выявления и детального анализа (определения точек рекомбинации) рекомбинантных форм ВИЧ-1 применяли программы jpHMM [Schultz A. K. et al., 2012], RIP [Recombinant Identification Program 3.0., 2022] и Recombination Detection Program [Martin D. P. et al., 2015]. Полный алгоритм определения генетических вариантов ВИЧ-1 представлен на Рисунке 1.

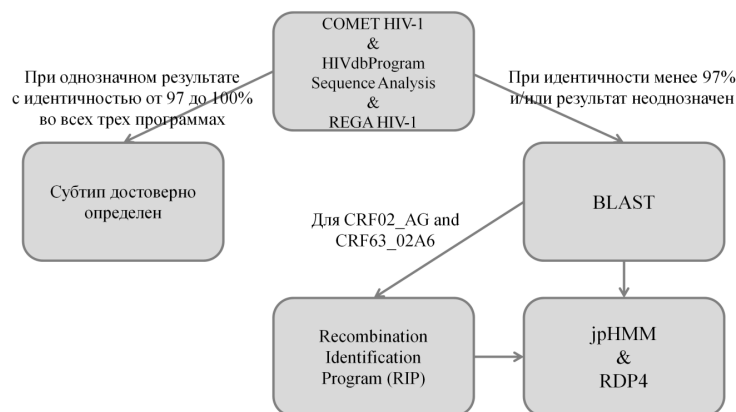


Рисунок 1 – Алгоритм определения генетических вариантов ВИЧ-1

Филогенетический анализ осуществляли методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [Nguyen L. T. et al., 2015]. Источником эталонных последовательностей служила база данных Лос-Аламосской лаборатории, США [HIV Databases, 2022]. Модель замещения

нуклеотидов определяли в программе jModelTest v.2.1.7 на основании информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) [Darriba D. et al., 2012]. Достоверность выведенных филогений оценивали с помощью бутстрэп-теста (bootstrap) и критерия приблизительного отношения правдоподобия Шимодайры-Хасегавы (SH-aLRT) с 1000 послестартовых итераций. Кластеры с поддержкой SH-aLRT > 0,9 считались достоверно установленными. Визуализацию и графическую обработку результатов филогенетического анализа осуществляли в программе iTOL [Letunic I. et al., 2021].

Определение мутаций лекарственной устойчивости проводили с использованием инструмента базы данных (HIVdb) Стэнфордского университета – Calibrated Population Resistance Tool (CPR), включающего список надзорных МЛТУ (surveillance drug resistance mutations, SDRMs) [CPR: Calibrated Population Resistance Tool, 2022].

Статистический анализ данных был проведен с помощью языка программирования R (RStudio, Inc. Software, США), а также программы STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Оцениваемые в работе категориальные данные представляли в виде долей и частот, их сравнение проводили с использованием критерия «хи-квадрат» (χ^2); в случае его неустойчивости применяли χ^2 с поправкой Йетса или двусторонний точный тест Фишера. Оценку силы связи между исследуемыми признаками проводили с применением критерия ϕ и V Крамера. Принятая в работе величина уровня значимости (p , probability) составляла 0,05 (или 5,0 %); различия признавали значимыми $p < 0,05$. Визуализация данных была выполнена с применением языка программирования R.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные характеристики пациентов, включенных в исследование, отражают основные тенденции, характерные для ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации в целом [Покровский В. В., 2004]. Так, соотношение женщин/мужчин составило 1:1,3, при этом отмечается увеличение вовлеченности женщин в эпидемический процесс по сравнению с предыдущим десятилетием. Это также сказывается на росте гетеросексуального пути передачи ВИЧ, доля которого, по данным проведенных исследований, составила порядка 52%, что подтверждает выход ВИЧ-инфекции за пределы уязвимых групп населения и ее широкое распространение в общей популяции. Около 38% случаев заражения ВИЧ-1 были выявлены в среде потребителей инъекционных наркотиков (ПИН). Также среди факторов риска инфицирования выделяли гомосексуальные контакты (~5%) и передачу ВИЧ-1 от матери к ребенку (~4%). Средний возраст исследуемой популяции составил 35,0; при этом отмечалось «старение» популяции ВИЧ-инфицированных с преобладанием лиц активного трудоспособного возраста (от 23,0 до 48,6 лет).

Характеристика ВИЧ-инфицированных пациентов, включенных в исследование, представлена в Таблице 1.

Таблица 1 – Эпидемиологическая характеристика пациентов, включенных в исследование

Год	Пол		Медиана [МКИ] возраста пациентов	Фактор риска инфицирования ВИЧ-1						Всего пациентов
	Мужчины, N (%)	Женщины, N (%)		ГТСК, N (%)	ПИН, N (%)	МСМ, N (%)	Вертикальный, N (%)	Не установлен, N (%)	Другие, N (%)	
2011	107 (53,50)	93 (46,50)	32,0 [23,6-40,4]	88 (44,00)	99 (49,50)	5 (2,50)	3 (1,50)	4 (2,00)	1 (0,50)	200
2012	309 (48,66)	326 (51,34)	33,0 [23,3-42,7]	271 (42,68)	306 (48,19)	9 (1,42)	34 (5,35)	14 (2,20)	1 (0,16)	635
2013	183 (50,83)	177 (49,17)	34,0 [23,7-44,3]	189 (52,50)	134 (37,22)	10 (2,78)	10 (2,78)	15 (4,17)	2 (0,56)	360
2014	177 (55,14)	144 (44,86)	35,0 [24,3-45,7]	156 (48,60)	122 (38,01)	15 (4,67)	16 (4,98)	9 (2,80)	3 (0,93)	321
2015	237 (60,15)	157 (39,85)	35,0 [24,2-45,8]	200 (50,76)	147 (37,31)	18 (4,57)	22 (5,58)	6 (1,52)	1 (0,25)	394
2016	206 (59,37)	141 (40,63)	36,0 [25,3-46,7]	198 (57,06)	112 (32,28)	10 (2,88)	20 (5,76)	4 (1,15)	3 (0,86)	347
2017	235 (58,75)	165 (41,25)	36,0 [26,2-45,8]	223 (55,75)	147 (36,75)	18 (4,50)	6 (1,50)	5 (1,25)	1 (0,25)	400
2018	60 (56,07)	47 (43,93)	34,0 [23,0-45,0]	60 (56,07)	29 (27,10)	13 (12,15)	1 (0,93)	3 (2,80)	1 (0,93)	107
2019	164 (62,36)	99 (37,64)	37,0 [26,2-47,8]	168 (63,88)	64 (24,33)	28 (10,65)	1 (0,38)	1 (0,38)	1 (0,38)	263
2020	97 (64,24)	54 (35,76)	39,0 [29,4-48,6]	89 (58,94)	36 (23,84)	22 (14,57)	-	4 (2,65)	-	151
Итого	1775 (55,89)	1403 (44,11)	35,0 [24,6-45,4]	1642 (51,67)	1196 (37,63)	148 (4,66)	113 (3,56)	65 (2,05)	14 (0,44)	3178

Субтипсовая принадлежность расшифрованных участков генома ВИЧ-1. На первом этапе исследования была определена субтипсовая принадлежность всех исследуемых нуклеотидных последовательностей (н. п.) для выявления и дальнейшего детального анализа рекомбинантных форм ВИЧ-1. Результаты первичного анализа последовательностей представлены на Рисунке 2.

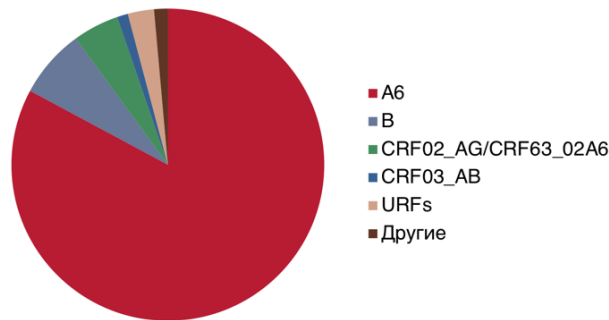


Рисунок 2 – Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на территории Российской Федерации (2011–2020 гг.)

Результаты исследования показали, что суб-субтип А6, доля которого составила 82,85%, остается доминирующим в генетической структуре ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации. Такое широкое и повсеместное распространение данного генетического варианта может быть связано с «эффектом основателя», обусловленного проникновением в 90-х годах XX века вируса суб-субтипа А6 в среду ПИН города Одессы, ставшего локальным центром эпидемии вируса подтипа IDU-A на территории всего бывшего Советского Союза [Bobkov A. et al., 1997]. Вторым по распространенности стал субтип В, доля которого составила 7,14%, что также отражает общие закономерности эпидемии ВИЧ-инфекции на территории РФ, описанные в предыдущих исследованиях [Лаповок И. А. и др., 2017].

Очевидно, что совместная циркуляция ВИЧ-1, принадлежащих разным субтипам, наряду с высокой мобильностью населения в пределах единой территории может способствовать их дальнейшей рекомбинации и формированию новых генетических вариантов, о чем свидетельствуют исследования рекомбинантных форм ВИЧ-1, выявленных на территории России – CRF03_AB, и соседних государств (Узбекистан) – CRF02_AG [Liitsola K. et al., 1998; Carr J. K. et al., 2005]. Совместная циркуляция вирусов суб-субтипа А6 и CRF02_AG ВИЧ-1 на территории РФ привела к формированию вторичного рекомбинанта CRF63_02A6, выявленного в 2009–2010 году на территории Сибири [Baryshev P. B. и др., 2014]. По результатам настоящего исследования, доля каждой из рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF03_AB составила 1,13%, CRF63_02A6 – 3,59%. Такие результаты свидетельствуют о нарастании генетического разнообразия ВИЧ-1 на территории нашей страны. Данная

тенденция уже не раз отмечалась при проведении молекулярно-генетического анализа ВИЧ-1 на территории РФ [Bobkova M. R., 2013]. Помимо циркулирующих рекомбинантных форм ВИЧ, в настоящей работе было обнаружено 87 уникальных рекомбинантов (URFs), что составило 2,74% от общего числа всех исследованных нуклеотидных последовательностей. Кроме основных генетических вариантов ВИЧ-1, на территории РФ также были выявлены вирусы субтипов A1 (1/3181), C (22/3181), D (1/3181), F1 (1/3181) и G (18/3181) и рекомбинантных форм CRF01_AE (1/3181) и CRF11_crx (1/3181), доля каждого составила менее 1% от общего числа всех проанализированных нуклеотидных последовательностей. Все это еще раз подтверждает широкое высокое генетическое разнообразие ВИЧ-1 на территории России и требует систематического мониторинга.

Филогенетический анализ рекомбинантных форм ВИЧ-1, выявленных на территории Российской Федерации, проводили на следующем этапе исследования для уточнения их происхождения.

Рекомбинантные формы CRF01_AE и CRF11_crx ВИЧ-1 являются редкими и нехарактерными для территории России. Результаты их филогенетического анализа представлены на Рисунке 3.

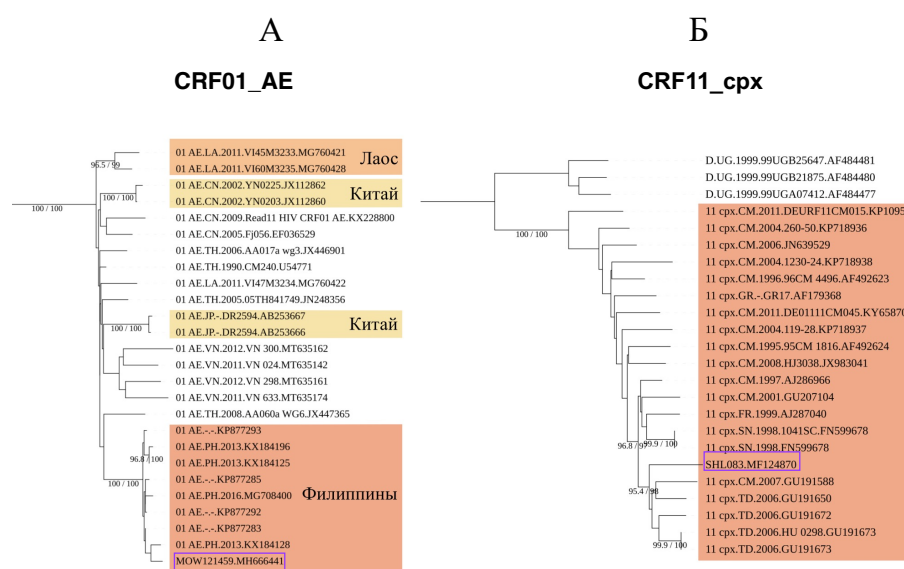


Рисунок 3 – Результаты филогенетического анализа CRF01_AE ВИЧ-1 (А) и CRF11_crx ВИЧ-1 (Б), выявленных на территории Российской Федерации

Примечание – Фиолетовым цветом отмечены исследуемые нуклеотидные последовательности.

Было установлено, что CRF01_AE ВИЧ-1 попала на территорию Российской Федерации в результате единичного заноса из Республики Филиппины, а CRF11_crx – из стран Африки.

Результаты филогенетического анализа для рекомбинантных форм, наиболее характерных для территории Российской Федерации – CRF02_AG, CRF03_AB и CRF63_02A6, – представлены на Рисунке 4.

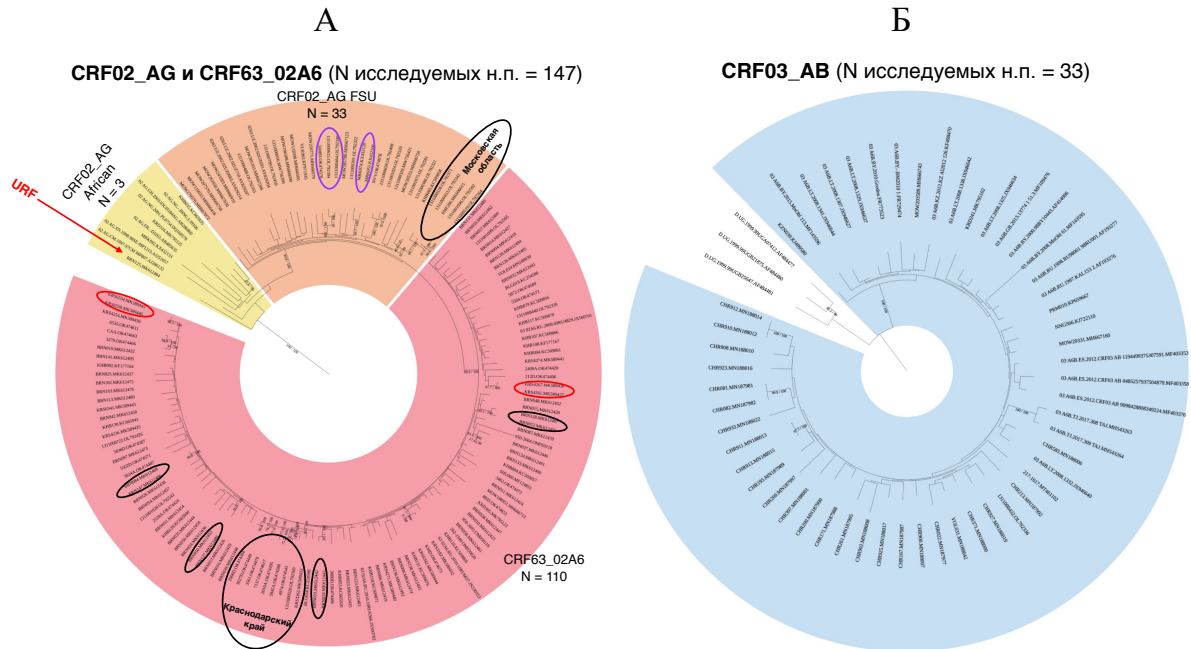


Рисунок 4 – Результаты филогенетического анализа CRF02_AG и 63_02A6 ВИЧ-1 (А) и CRF03_AB ВИЧ-1 (Б), выявленных на территории Российской Федерации

По результатам филогенетического анализа CRF02_AG и 63_02A6 ВИЧ-1 было установлено, что 3 исследуемых образца были включены в кластер (желтого цвета), образованный нуклеотидными последовательностями CRF02_AG из Нигерии, Ганы, Сенегала и Камеруна, что свидетельствует об их африканском происхождении. Остальные исследуемые последовательности были разделены на два достоверных кластера: 33 их них вошли в кластер (оранжевого цвета) CRF02_AG ВИЧ-1, выявленной на территории стран бывшего Советского Союза, в Узбекистане, 110 последовательностей – в кластер CRF63_02A6 ВИЧ-1 (розового цвета). Также были идентифицированы множественные достоверные кластеры непосредственно между исследуемыми образцами, что указывает на множественные случаи передачи вируса внутри страны. Черным цветом отмечены такие кластеры с передачей вируса среди ПИН. Особого внимания заслуживают самые крупные кластеры – для них характерна кластеризация как по пути передачи, так и по географическому признаку – ПИН Московской области и Краснодарского края. Фиолетовым цветом выделены достоверные кластеры с передачей вируса при гомосексуальных контактах. С помощью филогенетического анализа совместно с анализом эпидемиологических данных также были выявлены случаи нозокомиального заражения и инфицирования при выполнении профессиональной медицинской деятельности – на филогенетическом дереве отмечены

красным цветом. Одна последовательность по результатам филогенетического анализа была отнесена к URFs, так как кластеризовалась опосредованно.

Нуклеотидные последовательности вирусов рекомбинантной формы CRF03_AB образуют достоверный кластер с референсной последовательностью, впервые выявленной на территории Калининграда, что также указывает на множественные случаи передачи вирусов данного субтипа внутри страны [Liitsola K. et al., 1998].

Таким образом, для вирусов рекомбинантных форм CRF03_AB и CRF63_02A6 была отмечена множественная передача внутри страны, что объясняется их первичным выявлением на территории Российской Федерации [Baryshev P. V. et al., 2014; Liitsola K. et al., 1998].

Выявленные рекомбинантные формы ВИЧ-1 на территории Российской Федерации. На основании анализа нуклеотидных последовательностей исследованных образцов было выявлено 275 рекомбинантных форм ВИЧ-1 (Таблица 2).

Таблица 2 – Рекомбинантные формы ВИЧ-1, выявленные на территории Российской Федерации

Рекомбинантная форма	Количество, N (%)
CRF01_AE	1 (0,36%)
CRF02_AG	36 (13,09%)
CRF03_AB	36 (13,09%)
CRF11_cpx	1 (0,36%)
CRF63_02A6	114 (41,46%)
URFs	87 (31,64%)
Итого	275 (100,0%)

Немного меньше половины случаев инфицирования (114/275) вирусами рекомбинантных форм приходилось на CRF63_02A6 – 41,46%; по 36 случаев (13,09%) заражения были вызваны CRF02_AG и CRF03_AB ВИЧ-1, 1 случай (0,36%) – CRF01_AE и 1 случай (0,36%) – CRF11_cpx. Также было выявлено 87 случаев (31,64%) инфицирования вирусами с уникальной структурой генома. Далее был проведен их детальный анализ.

Анализ уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1, выявленных на территории Российской Федерации. Структура генома, а также расположение точек рекомбинации для типовых выявленных уникальных рекомбинантов представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика некоторых уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1, выявленных в исследовании

Имя последовательности в GenBank	Фрагмент генома (субтип)			Схема карты генома исследуемой области гена <i>pol</i>
	1	2	3	
АВ-уникальные рекомбинантные формы				
CHR019.MN187975	2253-3255 (CRF03)	3256-3551 (A6)	-	
CHR556.MN188005	2253-2952 (A6)	2953-3255 (Thai-B)	3256-3551 (A6)	
MOW236022.MH666874	2253-3323 (A6)	3324-3551 (B pandemic)	-	
1311000247.MW756410	2253-3267 (Thai-B)	3268-3551 (A6)	-	
AG-уникальные рекомбинантные формы				
BRN017.MK612430	2253-2893 (CRF63)	2894-3309 (A6)	3310-3611 (CRF63)	
BRN125.MK612484	2253-3179 (G)	3180-3584 (A6)	-	
SHL007.MF124826	2253-2624 (A6)	2625-3089 (G)	3090-3545 (A6)	
Уникальные рекомбинантные формы с мозаичной структурой				
MOW105047.MH666377	2253-2968 (Car-B)	2969-3551 (CRF63)	-	
MOW177762.MH666627	2553-3450 (CRF63)	3451-3551 (B pandemic)	-	
MOW212318.MH666793	2253-2451 (Thai-B)	2452-3551 (CRF02)	-	
1312000001.OK474695	2253-2876 (CRF02)	2877-3171 (Car-B)	-	
Примечание – В схемах карт генома суб-субтип А6 обозначен красным цветом, субтип В – синим цветом, G – светло-зеленым (салатовым) цветом; рекомбинантная форма CRF02_AG – коричневым цветом, и CRF63_02A6 – темно-зеленым.				

Детальный анализ генома области гена *pol* выявленных уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1 показал, что 80,46% их них были образованы вирусами суб-субтипа А6 (IDU-A) и В, которые, как уже говорилось ранее, являются

доминирующими на территории РФ; 14,94% URFs были образованы вирусами вариантов A6 и G и их рекомбинантными формами, остальные 4,60% имели сложную мозаичную структуру генома. Такое разнообразие выявленных уникальных рекомбинантов ВИЧ-1 свидетельствует об активном процессе рекомбинации на территории страны, что впоследствии может привести к быстрому формированию и широкому распространению новых циркулирующих рекомбинантных форм.

Анализ В-сегментов генома АВ-уникальных рекомбинантов показал, что по меньшей мере 31,43% нуклеотидных последовательностей содержали В-сегмент вирусов, распространенных на территории стран бывшего Советского Союза (В-FSU), 27,14% – сегмент В, относящегося к его пандемической кладе (Америка, позднее – страны Западной Европы). Распространение данного подтипа В на территории РФ, вероятнее всего, обусловлено относительной географической близостью России со странами Европы и усилением контактов между ними. Остальные 18,57% АВ-последовательностей содержали фрагменты В-Caribbean и 17,14% – В-Thailand, распространенные на территории Карибского региона и Таиланда, соответственно. Попаданию данных В-вариантов на территорию России мог способствовать туризм, однако географическая удаленность (в случае Карибского региона), а также относительно недавняя популяризация такого туристического направления как Таиланд, могли сказаться на более медленном распространении данных В-подтипов ВИЧ-1 на территории РФ по сравнению с В-FSU и пандемическим В.

Оценка распространенности рекомбинантных форм ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации. Было изучено распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в федеральных округах (ФО) Российской Федерации (Рисунок 5).



Рисунок 5 – Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 (по гену *pol*) в федеральных округах Российской Федерации в период 2011–2020 гг.

($N_{\text{общ}} = 3178$ образцов)

Также было оценено изменение соотношения вирусов рекомбинантных форм и «чистых» субтипов на территории Российской Федерации в динамике с 2011 по 2020 год (Рисунок 6).

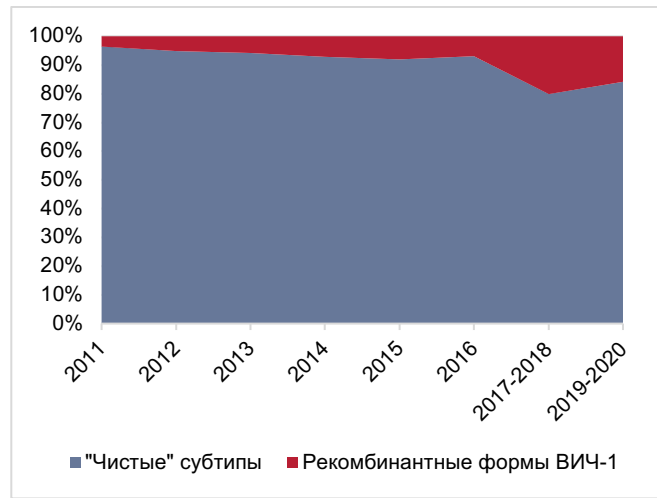


Рисунок 6 – Изменение (в %) соотношения ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов на территории Российской Федерации в период 2011–2020 гг.

Оценка распространенности рекомбинантных форм ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в России выявила достоверное увеличение частоты их идентификации с течением времени. Наибольшая доля рекомбинантных форм ВИЧ-1 была зарегистрирована в Северо-Западном (18,45%) и Сибирском (15,0%) федеральных округах. Это может быть результатом того, что данные округа являются территориальными центрами возникновения рекомбинантных форм CRF03_AB и CRF63_02A6, соответственно [Baryshev P. V. et al., 2014; Liitsola K. et al., 1998]. В ранее проведенных исследованиях Лебедева А. В. с соавторами было показано, что общая распространенность CRF03_AB в Северо-Западном ФО составляет 9,9 % [Lebedev A. et al., 2021].

В работе Богачева В. В. отмечалась доминирующая роль CRF63_02A6 и «вытеснение» ею с ранее лидирующих позиций суб-субтипа А6 на территории Новосибирской области [Богачев В. В., 2014]. Полученные в работе результаты совпадают и с мировыми тенденциями в целом, показывающими стабильное увеличение общей доли рекомбинантов, которая к 2015 году составила порядка 22,8% от общего числа всех проанализированных нуклеотидных последовательностей, и их существенный вклад в пандемию ВИЧ-инфекции [Nemelaar J. et al., 2019].

Наименьшая доля рекомбинантных форм ВИЧ-1 была зарегистрирована в Приволжском (1,99%) и Уральском (2,77%) ФО. Это может быть связано с внутренними процессами миграции на территории России – для Приволжского ФО отмечается наибольший отток населения в другие регионы, чаще всего – в Центральный и Северо-

Западный ФО, в котором отмечается высокая частота встречаемости рекомбинантных форм ВИЧ-1 [Федеральная служба государственной статистики. Демография, 2022].

Анализ мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в составе гена *pol* и их связь с генетическим вариантом вируса. В работе был проведен сравнительный анализ мутаций лекарственной устойчивости в составе гена *pol* ВИЧ-1 среди наивных пациентов, инфицированных вирусами рекомбинантных форм и «чистых» субтипов (Рисунок 7).

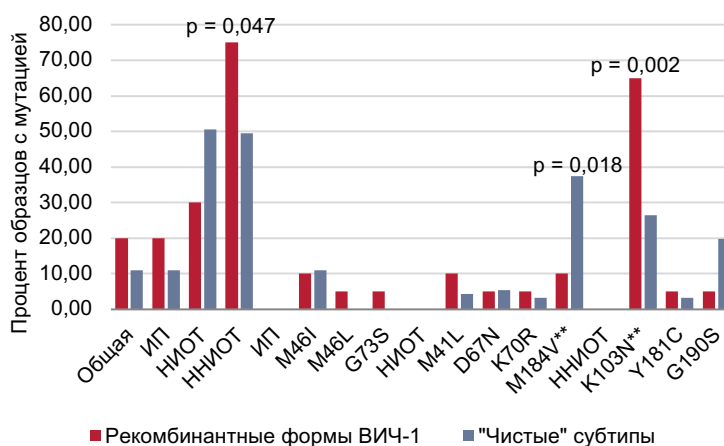


Рисунок 7 – Частота встречаемости мутаций лекарственной устойчивости среди ВИЧ-1 рекомбинантных форм и «чистых» субтипов

По результатам проведенных исследований было установлено, что общая распространенность первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 составила 7,4%, при этом стоит отметить, что данный показатель в группе наивных пациентов, инфицированных ВИЧ-1 рекомбинантных форм, составил 11,4%, то есть превышал пороговое значение (10%) на 1,4% [Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ). Устойчивость ВИЧ к лекарственным препаратам, 2022].

В группе наивных пациентов, инфицированных ВИЧ-1 «чистых» субтипов, частота встречаемости МЛУ была равна 6,9%. Такие различия являются статистически значимыми, при этом они обусловлены главным образом мутациями устойчивости к препаратам класса ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ). Так, мутация К103N, сообщающая вирусу устойчивость к эфавирензу (EFV) и невирапину, значительно чаще встречалась у ВИЧ-1 рекомбинантных форм, в частности, – у CRF63_02A6. Преобладание данной мутации отмечал ранее в своих исследованиях Богачев В. В., где частота встречаемости К103N среди наивных пациентов, инфицированных CRF63_02A6 ВИЧ-1, составила 5,3% [Богачев В. В., 2014].

В исследовании Flys T. S. et al. (2006) было обнаружено, что представленность мутации К103N после однократной дозы невирапина NVP значительно выше у вируса субтипа D, чем у субтипа А, что может указывать на негативное влияние данной

мутации на репликативную способность вирусов субтипа А [Flys T. S. et al., 2006]. Наличие мутации К103N, в первую очередь, обусловлено применением EFV в составе предпочтительной схемы терапии первого ряда на территории РФ [Покровский В. В., 2021]. Рост числа рекомбинантных форм и «выход» генетического варианта CRF63_02A6 за пределы Сибирского федерального округа может привести к дальнейшему распространению первично устойчивых вариантов ВИЧ-1, несущих мутацию К103N, а также к формированию новых вторичных рекомбинантов.

Было установлено, что мутация М184V, определяющая устойчивость ВИЧ-1 к ламивудину и эмтрицитабину – нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ) – значительно чаще встречалась у вируса суб-субтипа А6. Это можно объяснить повсеместным широким распространением данного генетического варианта ВИЧ-1 на территории РФ в совокупности с применением данных препаратов в качестве основных компонентов предпочтительной схемы терапии первого ряда. В ранее проведенных исследованиях также было показано преобладание мутаций М184V у вируса субтипа А, однако данное сравнение проводилось лишь с субтипом D [Роон А. Ф. У. et al., 2019].

Доля множественной лекарственной устойчивости среди ВИЧ-1 рекомбинантных форм составила 10%. Стоит отметить, что среди таких пациентов был ребенок, инфицированный от матери; набор мутаций в геноме ВИЧ составил: М41L, D67N, К70R, М184V, Т215F, К219Е и Y181С.

Анализ когорты пациентов, инфицированных первично устойчивыми вариантами ВИЧ-1 рекомбинантных форм (N = 20), продемонстрировал следующее соотношение генетических вариантов вируса и факторов риска инфицирования (Рисунок 8).

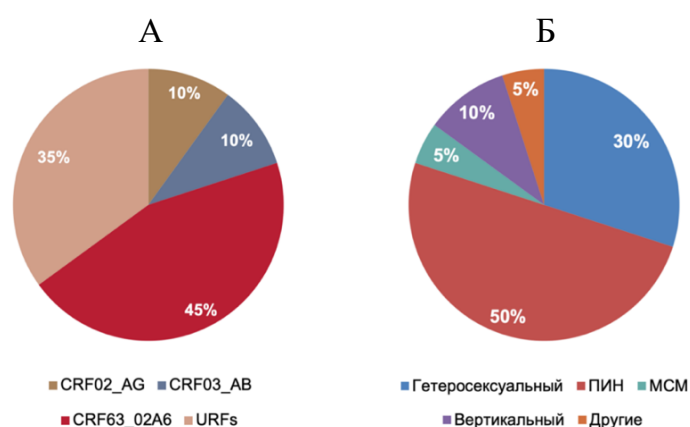


Рисунок 8 – Соотношение генетических вариантов (А) и факторов риска заражения (Б) в когорте пациентов, инфицированных первично устойчивыми вариантами ВИЧ-1 рекомбинантных форм

Почти половина пациентов (45,0%) были инфицированы первично устойчивым CRF63_02A6 ВИЧ-1; 35,0% – первично устойчивыми вариантами вируса с уникальной структурой генома, на долю CRF02_AG и CRF03_AB в генетической структуре

первично устойчивых вариантов ВИЧ-1 рекомбинантных форм приходилось по 10,0%. Основными факторами риска инфицирования в исследуемой когорте пациентов являлись потребление инъекционных наркотиков (50,0%) и гетеросексуальные контакты (30,0%). Такое распределение можно объяснить наибольшей вероятностью двойной или суперинфекции в когорте ПИН, а также их поведенческими особенностями и низкой приверженностью к назначаемой АРТ [Лаповок И. А. и др., 2020; Smith D. M. et al., 2005].

Полученные данные указывают на рост доли рекомбинантных форм в генетической структуре ВИЧ-1, в том числе первично устойчивых, вместе с выходом ВИЧ-инфекции из уязвимых групп в общую популяцию. Все это может способствовать росту распространенности первичной лекарственной устойчивости и пересечению ею пороговой отметки 10%, рекомендованной для проведения анализа на генотипическую резистентность до начала терапии, уже в ближайшие годы.

Таким образом, данное исследование способствует пониманию основных тенденций эпидемии ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации, оценке ее биологических и социальных движущих сил, а также пониманию динамики изменения генетической структуры ВИЧ-1 и оценке эффективности применяемой в настоящее время антиретровирусной терапии. Все это в совокупности играет важную роль в прогнозировании будущих тенденций, поиске и предложении эффективных предупредительных мер и подходов к лечению.

ВЫВОДЫ

1. Молекулярно-генетический анализ 3178 образцов вируса, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов в период с 2011 по 2020 год, показал, что эпидемия ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации характеризуется высоким генетическим разнообразием вирусных вариантов. Распределение субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1 составило: А6 – 82,85%, В – 7,14%, CRF63_02А6 – 3,59%, URFs – 2,74%, CRF02_AG – 1,13%, CRF03_AB – 1,13%; остальные субтипы составили менее 1% каждый и были представлены: А1, С, D, F1, G, CRF01_AE, CRF11_cpx.

2. Филогенетический анализ рекомбинантных форм ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации, выявил как единичные случаи их заноса из других государств (для CRF01_AE, CRF02_AG и CRF11_cpx), так и множественную передачу рекомбинантов внутри страны (для CRF02_AG, CRF03_AB и CRF63_02А6).

3. В общей структуре вирусов рекомбинантных форм, выявленных на территории Российской Федерации, 31,64% представляют собой уникальные рекомбинанты, геном большинства которых образован фрагментами подтипов А6/В – 80,46% и А6/Г – 14,94%; остальные 4,60% идентифицированы как URFs с мозаичной структурой генома.

4. Наибольшая доля рекомбинантных форм ВИЧ-1 была зарегистрирована на территории Северо-Западного (18,45%) и Сибирского (15,00%) федеральных округов, наименьшая – в Приволжском (1,99%) и Уральском (2,77%) федеральных округах ($p < 0,001$).

5. Оценка распространенности рекомбинантных форм ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации выявила достоверное увеличение частоты их встречаемости с течением времени ($p < 0,001$).

6. Первичная лекарственная устойчивость в 1,7 раз чаще встречается среди ВИЧ-1 рекомбинантных форм (11,4%) по сравнению с «чистыми» субтипами (6,9%), а также на 1,4% превышает пороговое значение распространенности (10%), при котором рекомендован анализ на генотипическую резистентность до начала лечения. Среди ВИЧ-1 «чистых» субтипов наиболее часто встречается мутация M184V ($p = 0,018$), среди вирусов рекомбинантных форм – K103N ($p = 0,002$).

7. В генетической структуре первично устойчивых вариантов ВИЧ-1 рекомбинантных форм преобладает CRF63_02A6 (45,0%) и уникальные рекомбинанты (35,0%); основными факторами риска заражения являются потребление инъекционных наркотиков (50,0%) и гетеросексуальные контакты (30,0%).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Лага, В. Ю. Молекулярно-генетический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Республике Крым / В. Ю. Лага, А. В. Немыкин, Е. Н. Бегма, А. М. Страхова, Н. А. Васильева, Е. Н. Ожмегова, **А. А. Антонова**, М. Р. Бобкова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2019. – Т. 11, № 4. – С. 91–97.

2. Казеннова, Е. В. Генетический анализ ВИЧ-1 в Алтайском крае: дальнейшее распространение варианта CRF63_02A1 по территории Западной Сибири / Е. В. Казеннова, **А. А. Антонова**, Е. Н. Ожмегова, Э. Р. Демьяненко, М. В. Минакова, О. В. Белоусова, К. Б. Громов, М. Р. Бобкова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – Т. 12, № 1. – С. 47–57.

3. Ожмегова, Е. Н. Генетический профиль ВИЧ-1 в Вологодской области: доминирование CRF03_AB и быстрое распространение URFs / Е. Н. Ожмегова, **А. А. Антонова**, А. В. Лебедев, Т. Н. Мельникова, Т. В. Крылова, А. В. Казачек, Н. А. Ширяева, И. Л. Кириллова, Е. В. Казеннова, М. Р. Бобкова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – Т. 12, № 2. – С. 79–88.

4. **Антонова, А. А.** Генетический профиль и характеристика мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 на территории Краснодарского края в период 2014–2019 гг. / **А. А. Антонова**, А. С. Туманов, А. В. Лебедев, Е. В. Казеннова, Л. Н. Глинкина, В. В. Кулагин, А. Б. Шемшура, П. В. Лебедев, Л. В. Хотелева, М. Р. Бобкова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2022. – Т. 14, № 2. – С. 20–30.

5. Neshumaeв, D. Molecular Surveillance of HIV-1 Infection in Krasnoyarsk Region, Russia: Epidemiology, Phylodynamics and Phylogeography / D. Neshumaeв, A. Lebedev, M. Malysheva, A. Boyko, S. Skudarnov, E. Ozhmegova, **A. Antonova**, E. Kazennova, M. Bobkova // *Current HIV Research*. – 2019. – V. 17, № 2. – P. 114–125.
6. Lebedev, A. Correction: Prevalence and spatiotemporal dynamics of HIV-1 Circulating Recombinant Form 03_AB (CRF03_AB) in the Former Soviet Union countries / A. Lebedev, O. Pasechnik, E. Ozhmegova, A. Antonova, A. Blokh, L. Grezina, T. Sandyreva, N. Dementeva, E. Kazennova, M. Bobkova // *PLoS One*. – 2021. – V. 16, № 2. – e0247611.
7. van de Klundert, M. A. A. Molecular Epidemiology of HIV-1 in Eastern Europe and Russia / M. A. A van de Klundert, **A. Antonova**, G. Di Teodoro, R. Ceña Diez, N. Chkhartishvili, E. Heger, A. Kuznetsova, A. Lebedev, A. Narayanan, E. Ozhmegova, A. Pronin, A. Shemshura, A. Tumanov, N. Pfeifer, R. Kaiser, F. Saladini, M. Zazzi, F. Incardona, M. Bobkova, A. Sönnnerborg // *Viruses*. – 2022. – V. 14, № 10. – 2099.
8. **Antonova, A.** changing of HIV-1 genetic diversity in Russia during the last two decades: increase of the recombinants prevalence / A. Antonova, E. Kazennova, M. Bobkova // *Reviews in Antiviral Therapy & Infection Diseases*. – 2020. – V. 7. – P. 107. (18th European Meeting on HIV & Hepatitis, October 28–30, 2020; Abstract 109).
9. **Антонова, А. А.** Оценка первичной лекарственной устойчивости у лиц, инфицированных ВИЧ рекомбинантных форм, в сравнении с «чистыми» субтипами / А. А. Антонова, М. Р. Бобкова // *Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания: Материалы IX Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием*. – Краснодар: Новация, 2022. – С. 15–18.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРТ	антиретровирусная терапия
АРВП	антиретровирусные препараты
ДНК (DNA)	дезоксирибонуклеиновая кислота (deoxyribonucleic acid)
ИП	ингибиторы протеазы
ЛЖВС	люди, живущие с ВИЧ/СПИД
МЛУ	мутации лекарственной устойчивости
МСМ	мужчины, практикующие секс с мужчинами
НИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
ННИОТ	ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РНК (RNA)	рибонуклеиновая кислота (ribonucleic acid)
A-FSU (IDU-A)	вариант субтипа А ВИЧ-1, получивший свое широкое распространение среди наркопотребителей на территории стран бывшего Советского Союза
AIC	информационный критерий Акаике (Akaike information criterion)

B-FSU	вариант субтипа В ВИЧ-1, получивший свое распространение среди наркопотребителей на территории стран бывшего Советского Союза
CRF	циркулирующая рекомбинантная форма ВИЧ (circulating recombinant form)
CRF_cpx	сложные (комплексные) рекомбинанты ВИЧ-1, геном которых содержит фрагменты 3-х и более генетических вариантов вируса (complex)
ML	максимальное правдоподобие (Maximum Likelihood)
PR	фермент протеаза (protease)
RT	фермент обратная транскриптаза (reverse transcriptase)
SH-aLRT	критерий приблизительного отношения правдоподобия Шимодайры-Хасегавы (SH-like approximate likelihood ratio test)
URF	уникальная рекомбинантная форма ВИЧ (unique recombinant form)