

УДК 614.446.2

<http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-2-79-88>

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ВИЧ-1 В ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ: ДОМИНИРОВАНИЕ CRF03_AB И БЫСТРОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ URFS

©¹Е. Н. Ожмегова, ¹А. А. Антонова, ¹А. В. Лебедев, ²Т. Н. Мельникова, ³Т. В. Крылова, ²А. В. Казачек, ²Н. А. Ширяева,
³И. Л. Кириллова, ¹Е. В. Казеннова, ¹М. Р. Бобкова

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи»
МЗ РФ, Москва, Россия

²БУЗ «Вологодский областной Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Вологда, Россия
³Вологодская областная клиническая больница № 2, Вологда, Россия

Проведен молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-1 в городах Северо-Западного федерального округа — Вологде и Череповце. В исследовании использована коллекция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), полученная от 80 ВИЧ-инфицированных пациентов: 52 образца были получены от пациентов, проживающих в г. Череповце, и 28 образцов — от проживающих в г. Вологде. Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в исследуемых городах было следующим: суб-субтип А6 — 51,25%; субтип В — 6,25%; рекомбинантная форма CRF_03AB — 32,5%; уникальные рекомбинантные формы (URFs) — 6,25%; 3,75% были представлены другими вариантами: G и CRF63_02A1. Филогенетический анализ подтвердил связь вирусов суб-субтипа А6 из Вологодской области с вариантом А6 (IDU-A), преобладающим в Украине, России и других странах бывшего Советского Союза; последовательности субтипа В образовывали на филограмме общую ветвь с референс-штаммами, характерными для мужчин, практикующих секс с мужчинами; 32,5% нуклеотидных последовательностей образовывали единый кластер с референс-штаммом CRF03_AB. Помимо данных субтипов, также обнаружено наличие уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1, содержащих сегменты вирусов суб-субтипа А6 и IDU-B. Результаты молекулярно-эпидемиологического исследования в Вологодской области также продемонстрировали существенные различия в генетических профилях ВИЧ-1 на территории двух близко расположенных городов — Вологды и Череповца. Таким образом, эволюция ВИЧ-1 на территории Вологодской области продолжается, при этом основными источниками изменчивости являются взаимное проникновение вирусов между группами риска и рекомбинационные процессы.

Ключевые слова: ВИЧ-1, молекулярно-эпидемиологический анализ, субтипы ВИЧ, филогенетический анализ, уникальные рекомбинантные формы (URF)

Контакт: Ожмегова Екатерина Никитична, e-mail: belokopytova.01@mail.ru

GENETIC PROFILE OF HIV-1 IN THE VOLOGDA REGION: DOMINATION OF CRF03_AB AND RAPID DISTRIBUTION OF URFS

©¹Е. Н. Ozhmegova, ¹А. А. Antonova, ¹А. В. Lebedev, ²Т. Н. Melnikova, ³Т. В. Krylova, ²А. В. Kazachek, ²Н. А. Shiryayeva,
³И. Л. Kirillova, ¹Е. В. Kazennova, ¹М. Р. Bobkova

¹Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russia

²Vologda regional AIDS center, Vologda, Russia

³Vologda Regional Clinical Hospital No 2, Vologda, Russia

The work was carried out molecular-epidemiological analysis of HIV-1 in the cities of the North-West Federal District — Vologda and Cherepovets. The study used a collection of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) obtained from 80 HIV-infected patients: 52 samples were obtained from patients living in Cherepovets, and 28 samples — from Vologda. The distribution of the HIV-1 genetic variants in the studied cities was as follows: sub-subtype A6 — 51,25%; subtype B — 6,25%; the recombinant form of CRF_03AB — 32,5%; unique recombinant forms (URFs) — 6,25%, and 3,75% were represented by other subtypes: G and CRF63_02A1. A phylogenetic analysis confirmed the relationship of the sub-subtype A6 viruses with the A6 (IDU-A) variant predominating in Ukraine, Russia and other former Soviet Union (FSU) countries; the sequences of subtype B formed a common branch on the phylogram with reference strains characteristic of men who have sex with men; 32,5% of the nucleotide sequences formed a single cluster with the reference strain CRF03_AB. In addition to these subtypes, the presence of unique recombinant forms of HIV-1 containing segments of the sub-subtype A6 and IDU-B viruses were also found. The

results of the molecular epidemiological analysis in the Vologda Oblast also showed significant differences in the genetic profile of HIV-1 in two nearby cities — Vologda and Cherepovets. Thus, the evolution of HIV-1 in the Vologda Oblast continues, with the main source of variability being the mutual penetration of viruses between risk groups and recombination processes.

Key words: HIV-1, molecular epidemiological analysis, HIV subtypes, phylogenetic analysis, unique recombinant forms (URF)

Contact: *Ozhmegova Ekaterina Nikitichna, e-mail: belokopytova.01@mail.ru*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ожмегова Е.Н., Антонова А.А., Лебедев А.В., Мельникова Т.Н., Крылова Т.В., Казачек А.В., Ширяева Н.А., Кириллова И.Л., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р. Генетический профиль ВИЧ-1 в Вологодской области: доминирование CRF03_AB и быстрое распространение URFs // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020. Т. 12, № 2. С. 79–88, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-2-79-88>.

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

For citation: Ozhmegova E.N., Antonova A.A., Lebedev A.V., Melnikova T.N., Krylova T.V., Kazachek A.V., Shiryayeva N.A., Kirillova I.L., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Genetic Profile of HIV-1 in the Vologda Region: Domination of CRF03_AB and Rapid Distribution of URFs // *HIV infection and immunosuppression*. 2020. Vol. 12, No. 2. P. 79–88, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-2-79-88>.

Введение. Вирус иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) характеризуется высоким генетическим разнообразием. Сочетание мутационного и рекомбинационного процессов в эволюции ВИЧ привело к существованию в настоящее время четырех групп — M, N, O и P. С начала эпидемии наиболее распространенной является группа M, которая, в свою очередь, включает 9 подтипов: A–D, F–H, J–K. Генетическая рекомбинация между вирусами разных подтипов приводит к образованию циркулирующих (CRF) и уникальных (URF) рекомбинантных форм. В настоящее время рекомбинантные формы ВИЧ-1 составляют около 20% всех случаев ВИЧ-инфекции в мире [1].

В целях слежения за распространением вирусов в большинстве стран проводят молекулярно-эпидемиологический мониторинг, основанный на генотипировании ВИЧ и дальнейшем определении его генетического разнообразия [2].

В Российской Федерации во многих регионах европейской части и некоторых регионах азиатской части страны проводится постоянный молекулярно-эпидемиологический мониторинг с момента регистрации первого случая ВИЧ-инфекции в 1987 г. Начиная с 1996 г. число новых случаев ВИЧ-инфекции на территории РФ стало резко возрастать. Это связано с проникновением вируса суб-субтипа A6 с территории Украины в среду потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и, как следствие, их половых партнеров [3].

Среди ПИН на территории РФ циркулируют главным образом три варианта ВИЧ-1: IDU-A (он же A6), IDU-B и их рекомбинантная форма IDU-A/B (CRF03_AB). По данным ряда исследований, с начала 2000-х годов наблюдается резкое увеличение слу-

чаев заражения ВИЧ гетеросексуальным путем с явным доминированием варианта A6 [4–8]. Таким образом, вариант A6 вышел за пределы основной группы риска. Вариант IDU-B на территории РФ встречается с более низкой частотой, преимущественно в группах риска ПИН; среди мужчин, практикующих секс с мужчинами (МСМ), распространен другой вариант субтипа B ВИЧ-1, имеющий родство с западноевропейскими вариантами [4].

Безусловно, на территории РФ с 1996 г. циркулировали вирусы и других неA-подтипов, но они всегда встречались в единичных случаях. За весь период молекулярно-эпидемиологического мониторинга ВИЧ-1 на территории РФ были выявлены только две вспышки ВИЧ-инфекции с доминированием вирусов неA-подтипа. Первая такая вспышка (489 инфицированных) была зарегистрирована в Калининградской области в 1998 г., где доминирующим вариантом стала рекомбинантная форма IDU-A/IDU-B, впервые выделенная и получившая название CRF03_AB [4].

Согласно дальнейшим исследованиям, новая вспышка рекомбинантной формы CRF03_AB была выявлена в 2006 г. за пределами ее первоначального эндемического района — преобладание данной формы было зарегистрировано в г. Череповце Вологодской области [9, 10]. Тогда доля CRF03_AB составляла 57%, причем основным путем передачи данной формы вируса продолжал оставаться парентеральный путь при введении инъекционных наркотиков (87,5%), доля гетеросексуального пути передачи CRF03_AB составила лишь 12,5% [10].

Вологодская область расположена на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО),

который характеризуется неоднородностью своих территорий по ряду признаков: географическому, экономическому, производственному, а также по активности перемещения населения. Такие различия сказались на развитии эпидемических процессов распространения ВИЧ [11]. Изначально в СЗФО ВИЧ-инфекция получила широкое распространение на территориях Санкт-Петербурга, Ленинградской, Калининградской и Мурманской области. Средний уровень заболеваемости и распространенности наблюдался в Вологодской и Новгородской областях, а также в Республике Коми. Наименьшие показатели были характерны для Архангельской области, Республики Карелии, Псковской области и Ненецкого автономного округа [12, 13]. Дальнейшие наблюдения за динамикой эпидемии указывали на неоднородность распространения ВИЧ: с течением времени в первой группе регионов наметилась тенденция к стабилизации и снижению процесса распространения ВИЧ, тогда как во второй и третьей группах этот показатель стал значительно увеличиваться [13].

Начиная с 2015 г. Вологодская область вышла на первое место по темпам прироста показателей заболеваемости ВИЧ-инфекцией в СЗФО. По данным Вологодского областного Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционным заболеваниям, на 1 октября 2019 года в Вологодской области в текущем году суммарно зарегистрировано 4373 впервые выявленных случая ВИЧ-инфекции. Наиболее пораженными территориями Вологодской области являются г. Вологда и г. Череповец. Доля заболеваемости от общего числа новых случаев заражения по области в целом в этих городах составляет 30,1 и 41,4% соответственно. Эти города сформировали на территории Вологодской области два производственных полиса, с довольно большой численностью населения, что создает социально-экономические условия для формирования групп риска [12].

По данным исследований было установлено, что основной причиной роста заболеваемости ВИЧ-инфекцией в Вологодской области в период 2011–2017 гг. послужила активация наркотического пути передачи в связи с изменением поведенческих практик среди ПИН — смена вида препаратов на вещества синтетического происхождения [11]. В последнее время по данным Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционным заболеваниям ситуация несколько изменилась, и за 9 месяцев 2019 года по области в целом снизился удельный вес наркотического пути передачи вируса и начал

преобладать половой путь, в структуре новых случаев заражения 2019 г. он составил 63,4%. Несмотря на это, доля наркотического пути передачи ВИЧ в г. Череповце увеличилась и составила 49,5% от всех путей передачи в Вологодской области.

Все это свидетельствует об осложнении эпидемиологической ситуации в Вологодской области, а также росте пораженности ВИЧ-инфекцией.

Цель работы: выполнить молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории г. Вологды и г. Череповца в настоящее время.

Материалы и методы. В исследовании была использована коллекция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), полученная от 80 ВИЧ-инфицированных пациентов в рамках молекулярного мониторинга в Вологодской области в течение 2017–2018 гг.: 52 образца были получены от пациентов, проживающих в городе Череповце, и 27 образцов — в городе Вологде.

Выявление факторов риска, возможных мест заражения, а также эпидемиологических связей с другими ВИЧ-инфицированными лицами проводили на основе опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Кроме того, регистрировали возраст, пол пациента, дату забора клинического материала, дату и регион постановки диагноза «ВИЧ-инфекция», наличие терапии и при ее использовании — все известные схемы ее применения. Подтверждение диагноза, обследование пациентов и забор клинического материала проводили в Вологодском областном Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями.

Выделение геномной ДНК, включающей интегрированную провирусную ДНК, из клеток крови ВИЧ-инфицированных пациентов проводили методом высаливания [14].

Последовательности генома ВИЧ-1 анализировали *in house* методом прямого секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, с координатами 2133–3251 (координаты даны для варианта ВИЧ-1 HXB2, регистрационный номер *GenBank* K03455), кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, как описано ранее [1].

Секвенирование было выполнено с использованием автоматизированного генетического анализатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Попарное и множественное выравнивание последовательностей выполняли с помощью модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет MEGA v6.0 [2].

Работу по предварительному генотипированию ВИЧ-1 проводили с использованием референс-программ HIVdbProgram: COMET HIV-1 (<http://comet.retrovirology.lu>) и REGA HIV-1 Subtyping Tool v3.0 (<http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool>).

Для выявления и анализа рекомбинантных форм ВИЧ-1 дополнительно использовали программу jpHMM (<http://jphmm.gobics.de>).

Филогенетический анализ проводили методом максимального правдоподобия (Maximum likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [15]. Достоверность топологии ML-деревьев (надежность

и гетеросексуальный путь. В г. Череповце соотношение указанных путей передачи было примерно одинаковым и составило 53,8 и 46,2% соответственно, тогда как среди вологодских пациентов значительно преобладал путь заражения при введении инъекционных наркотиков (75%).

На момент сбора коллекции на лечении антиретровирусными препаратами (АРВП) в Вологодской области находились только 9 человек, причем все из них являются постоянными жителями г. Череповца.

Результаты молекулярно-эпидемиологического исследования образцов из Вологодской области приведены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 на территории Вологодской области в период 2017–2018 гг.

Table 1

Distribution of genetic variants of HIV-1 in the Vologda region in the period 2017–2018

	Всего (N=80, 100,0%)	Генетические варианты ВИЧ-1				Другие (N=3, 3,75%)
		A6 (N=41, 51,25%)	B (N=5, 6,25%)	CRF_03AB (N=26, 32,5%)	URFs (N=5, 6,25%)	
Возраст						
20–30	12 (15,0%)	7 (58,4%)	1 (8,3%)	3 (25,0%)	1 (8,3%)	—
31–40	45 (56,25%)	22 (48,9%)	4 (8,9%)	17 (37,8%)	1 (2,2%)	1 (2,2%)
41–50	18 (22,5%)	9 (50,0%)	—	4 (22,2%)	3 (16,7%)	2 (11,1%)
51–60	5 (6,25%)	3 (60,0%)	—	2 (40,0%)	—	—
Пол						
Женский	34 (42,5%)	23 (67,7%)	1 (2,9%)	8 (23,6%)	1 (2,9%)	1 (2,9%)
Мужской	46 (57,5%)	18 (39,1%)	4 (8,7%)	18 (39,1%)	4 (8,7%)	2 (4,4%)
Путь передачи						
Гетеросексуальный	49 (61,25%)	27 (55,1%)	5 (10,2%)	15 (30,6%)	—	2 (4,1%)
ПИН	31 (38,75%)	14 (45,2%)	—	11 (35,5%)	5 (16,1%)	1 (3,2%)

ветвей) оценивали методом бутстрэп-ресэмплинга (bootstrap) с генерацией 1000 рандомизированных выборок. Статистически высокоподдержанными считали узлы с величиной SH-aLRT теста более 0,9.

Эвристический поиск лучших деревьев осуществляли методом обмена ближайшими соседями (nearest-neighbor-interchange, NNI).

Графическую обработку филогенетических деревьев осуществляли с применением программы FigTree v 1.4.3 (<http://influenza.bio.ed.ac.uk/software/>).

Результаты и их обсуждение. При анализе коллекции было установлено, что на момент забора крови возраст пациентов из г. Вологды варьировал в пределах от 27 до 52 лет, возраст пациентов из г. Череповца — от 22 до 56 лет. Доля мужчин в исследуемых группах из г. Вологды и г. Череповца составила 53,6% (15:13) и 59,6% (31:21) соответственно.

По данным эпидемиологического анамнеза, существовало только два пути заражения в данном регионе: употребление инъекционных наркотиков

и гетеросексуальный путь. В ходе проведенного предварительного генотипирования с применением online-программ было установлено, что 41 (51,25%) образец классифицирован как суб-субтип A6, 26 (32,5%) образцов — как рекомбинант CRF03_AB, 5 (6,25%) образцов — как субтип B, 1 (1,25%) образец — как рекомбинант CRF63_02A1, 2 (2,5%) образца — как субтип G. Кроме того, выявлено 5 предположительно уникальных форм, образованных в результате рекомбинации вариантов A6 и IDU-B.

Среди потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) суб-субтип A6 был обнаружен в 14 образцах (45,2%), субтип CRF03_AB — в 11 образцах (35,5%), субтип CRF63_02A1 — в 1 образце (3,2%). Все пациенты, инфицированные уникальными AB-рекомбинантными вирусами, также являлись потребителями инъекционных наркотиков. Среди лиц, заразившихся гетеросексуальным путем, суб-субтип A6 был обнаружен в 27 образцах (55,1%).

Для выявления родства и возможного происхождения вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Вологодской области, провели филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей области гена *pol*, кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы. В качестве референс-штаммов суб-субтипа А6, субтипов В, CRF03_AB, G, CRF63_02 ВИЧ-1 были использованы последовательности

вирусов от пациентов из России, Украины, Западной Европы, Африки, Азии, Америки и Закавказья.

Источником последовательностей являлась база данных Лос-Аламосской национальной лаборатории (<https://www.hiv.lanl.gov>).

На рис. 1 приведено филогенетическое дерево для нуклеотидных последовательностей области гена *pol* ВИЧ-1 из Вологодской области. Пять образцов

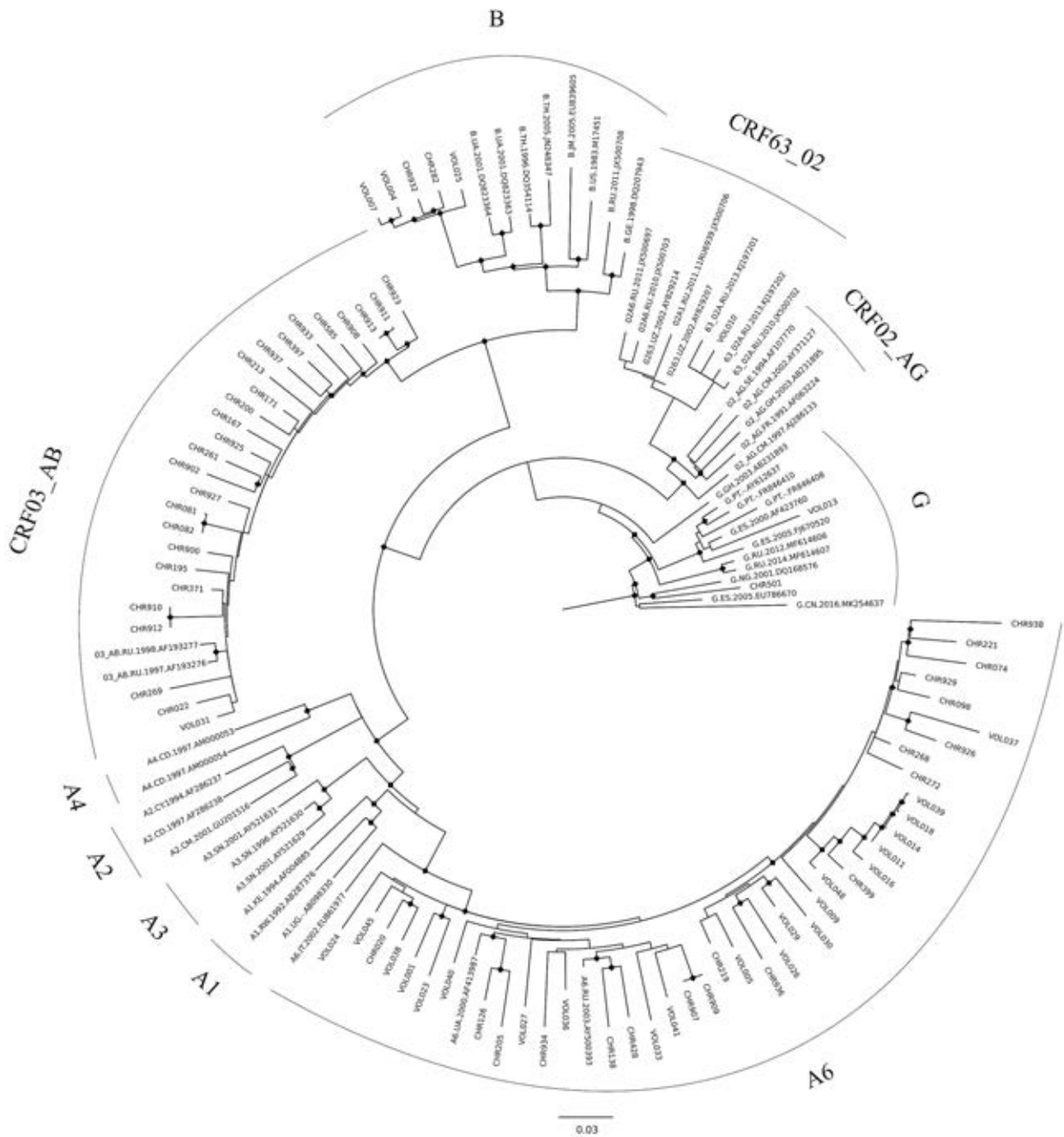


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol*, кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы, образцов из Вологды и Череповца. Обозначение референс-последовательностей с указанием субтипа ВИЧ-1 соответствует коду GenBank. Ромбики у основания узла указывают значение SH-aLRT теста выше 0,9

Fig. 1. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the *pol* gene encoding protease and part of reverse transcriptase from samples from Vologda and Cherepovets. The designation of reference sequences indicating the HIV-1 subtype corresponds to the GenBank code. Lozenges at the base of the node indicate the test's SH-alert value above 0,9

под номерами VOL019, VOL070, VOL080, VOL166, VOL556 не были включены в построение филогенетического дерева по причине того, что, занимая промежуточное положение между суб-субтипом А6 и вирусами В и CRF03_AB, они «притягивали» к себе образцы данных вариантов и недостоверно изменяли структуру дерева. В свою очередь, филогенетический анализ для оставшихся 75 образцов позволил установить, что 41 образец объединялся с генетическим вариантом суб-субтипа А6 (SH-aLRT тест — 100), доминирующим на территории России [3], причем образцы под номерами VOL011, VOL014, VOL016, VOL018, VOL039, VOL048, CHR399, по данным филогении, образовывали тесную взаимосвязь друг с другом.

По данным эпидемиологического анамнеза, первые положительные ИФА для вариантов VOL011, VOL014, VOL018, VOL039 были получены в один временной период с разницей в месяц. При более детальном расследовании возможности эпидемиологической связи между образцами VOL011, VOL014, VOL018, VOL039 было выяснено, что все они являются потребителями наркотиков в виде солей, которые могли вводиться внутривенно. В то же время прямых доказательств заражения в результате потребления инъекционных наркотиков или в результате гетеросексуальных контактов этих вариантов выявлено не было. Между тем, все вышесказанное позволяет предположить общий источник заражения для VOL011, VOL014, VOL016, VOL018, VOL039, VOL048, CHR399.

Филогенетический анализ других 26 нуклеотидных последовательностей выявил образование единого кластера (SH-aLRT тест — 100) с референс-штаммом CRF03_AB. Примечательно, что только одна из 26 последовательностей относилась к образцу, выделенному на территории Вологды. Остальные 25 последовательностей были выделены на территории г. Череповца, где данный генетический вариант имеет существенное значение в эпидемиологическом процессе ВИЧ-инфекции. Стоит отметить тот факт, что г. Вологда и г. Череповец находятся на близком расстоянии (136 километров) друг от друга, а г. Вологда является областным центром данного региона. Очевидно, что эффект основателя сыграл большое значение для филогенетики череповецкой популяции ВИЧ-1.

Еще одним немаловажным фактом, наблюдаемым в нашем исследовании, является изменение соотношения распределения варианта CRF03_AB в среде ПИН и гетеросексуалов. При исследова-

нии образцов 2017–2018 гг. 58% составили пациенты с гетеросексуальным путем заражения и 42% — потребители инъекционных наркотиков, а в молекулярно-эпидемиологическом исследовании ВИЧ-инфекции в Вологодской области вариант CRF03_AB был наиболее распространен среди ПИН (78%) и лишь в 22% среди гетеросексуалов [10]. С одной стороны, это может свидетельствовать о продолжении распространения CRF03_AB наркотическим путем, а с другой — наблюдается увеличение числа случаев передачи данного рекомбинанта гетеросексуальным путем.

Пять образцов — VOL004, VOL007, VOL025, CHR 282, CHR 932, генотипированные как субтип В (SH-aLRT тест — 98), на филограмме образовали общую ветвь с референс-штаммами, характерными для мужчин, практикующих секс с мужчинами. Примечательно, что при опросе о возможном пути передачи 4 человека сообщили о гетеросексуальном пути (пятый человек — наркозависимая женщина). Нами проведено эпидемиологическое расследование, в ходе которого выяснено, что пациенты VOL004, VOL007, VOL025, CHR 282 категорически отрицают факт гомосексуальных контактов. Также установлено, что пациенты с номерами образцов VOL004, VOL007 и VOL025 проживают в разных районах Вологодской области: Устюженском, Чагодощенском и в г. Вологде соответственно. Данные регионы Вологодской области находятся на большом расстоянии друг от друга, что указывает на низкую вероятность связи данных пациентов, обусловленной их образом жизни. С другой стороны, по результатам филогении можно предположить существование общего гетеросексуального источника инфицирования, не установленного при эпидемиологическом опросе.

На территории Вологодской области, помимо суб-субтипа А6, субтипа В и CRF03_AB, было обнаружено наличие циркулирующей рекомбинантной формы ВИЧ-1 — CRF63_02A1, впервые выявленной и описанной на территории Сибирского федерального округа, и наличие субтипа G, характерного для африканских стран [16]. Образцы VOL013 и CHR501 были родственны к образцам субтипа G, характерных для Испании и для Нигерии, соответственно [17, 18]. Данный факт может свидетельствовать о случайном заносе субтипов G и CRF63_02A1 на территорию Вологодской области. Образец VOL013, который при филогенетическом анализе был близкородственным к испанскому (иберийскому) варианту субтипа G, при эпи-

демиологическом опросе указал на множественные половые контакты с работницами коммерческого секса на территории Санкт-Петербурга.

По результатам предварительного генотипирования было выявлено 5 уникальных рекомбинантных

pol размером 1299 нуклеотидных пар, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы.

Мы сравнили между собой результаты online-генотипирования в трех программах: COMET, REGA, jpHMM (табл. 2).

Таблица 2

Результаты online-генотипирования уникальных рекомбинантов ВИЧ-1 из г. Череповца

Table 2

Results of online genotyping of unique HIV-1 recombinants from Cherepovets

Номера образцов	Online-программы		
	COMET	REGA	jpHMM
CHR 019	Unassigned_1, A1-H-B	Unique recombinant of A1,B	Unique recombinant of A1,B
CHR 070	Unassigned_1, A1-H-B	Unique recombinant of A1,B	A1
CHR 080	Unassigned_1, A1-B-H-B	Unique recombinant of A1,B	Unique recombinant of A1,B
CHR 166	Unassigned_1, A1-H-B	Unique recombinant of A1,B	Unique recombinant of A1,B
CHR 556	Unassigned_1, A1-B	Unique recombinant of A1,B	Unique recombinant of A1,B

форм ВИЧ-1 (unique recombinant forms, URF), содержащих сегменты вирусов суб-субтипа A6 и IDU-B. Все образцы были получены от потребителей инъекционных наркотиков. Дополнительный анализ нуклеотидных последовательностей VOL019, VOL070, VOL080, VOL166, VOL556 с использованием online-программ, анализирующих рекомбинантные формы ВИЧ-1, позволил более детально оценить генетическую структуру фрагментов гена

По данным табл. 2, все online-программы генотипировали данные образцы как уникальные рекомбинанты, кроме jpHMM, которая генотипировала образец VOL070 как подтип A1 с возможными точками рекомбинации (рис. 2). В целом мозаичная структура данных образцов отличается от структуры эталонных штаммов CRF03_AB, выделенных на территории Калининграда (см. рис. 2). По структуре образцы VOL019, VOL070, VOL080, VOL166,

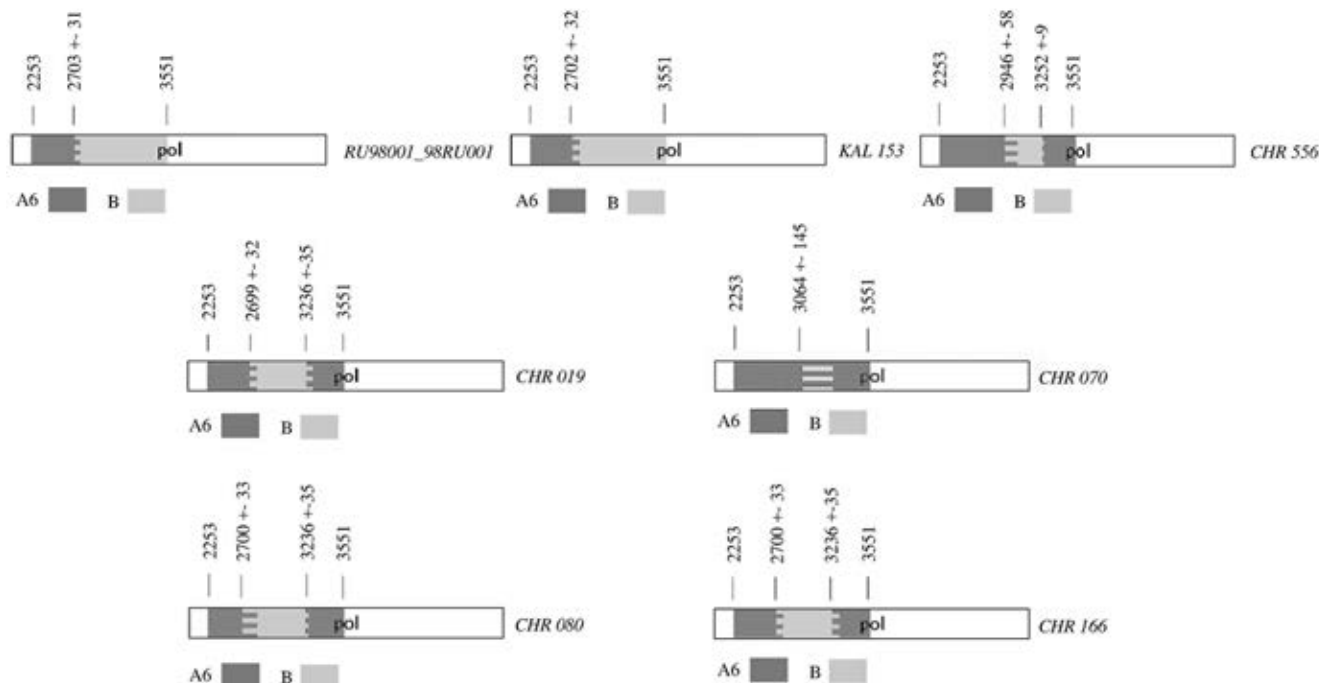


Рис. 2. Схема мозаичной структуры фрагмента гена *pol* рекомбинантных форм, образованных вариантами субтипов A6 и B. Темно-серым закрашены области A6, светло-серым B

Fig. 2. Diagram of the mosaic structure of a fragment of the *pol* gene of recombinant forms formed by variants of subtitles A6 and B. dark gray areas are painted over A6, light gray B

VOL556 сходны между собой, но отличаются от образцов сравнения присутствием дополнительных точек рекомбинации. Опираясь на полученные результаты, мы определили их генотипы как URF03_AB. При этом для окончательного выяснения подтиповой принадлежности этих вариантов необходимо получить и проанализировать полно-размерный геном.

При сравнительном анализе распределения генетических вариантов ВИЧ-1 в г. Вологде и в г. Череповце было установлено, что в Вологде, как и в целом по России, доминирует суб-субтип А6 (78,5%) и выявлены лишь единичные случаи инфицирования вирусами неА-подтипов, в частности, CRF03_AB (3,6%), CRF63_02A1 (3,6%) и вирусами субтипов В (10,7%) и G (3,6%), тогда как в Череповце профиль вариантов ВИЧ-1 заметно отличался от профиля ВИЧ-1 в Вологде и в целом от такового по территории России. Доминирующим вариантом здесь являлся CRF03_AB (48,1%), далее следовали суб-субтип А6 (36,5%), URFs (9,6%), В (3,9%), G (1,9%) (рис. 3).

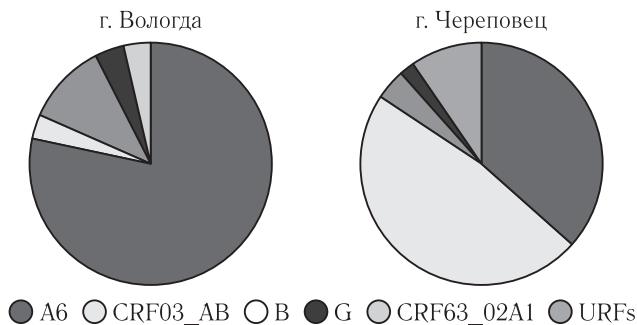


Рис. 3. Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в Вологде и в Череповце

Fig. 3. Distribution of HIV-1 genetic variants in Vologda and Cherepovets

Заключение. Результаты молекулярно-эпидемиологического исследования в Вологодской области продемонстрировали, что распространение ВИЧ-1 далеко не всегда определяется только географическим положением регионов и экономическими связями между ними.

Города Вологда и Череповец, несмотря на географическую близость, существенно различаются по разнообразию генетического профиля и частоте встречаемости генетических вариантов ВИЧ-1.

Вызвавший вспышку в 1996 г. в Калининграде, а затем в 2006 г. на территории Череповца вариант

CRF03_AB определил направление эпидемии в данных регионах на последующие годы, продемонстрировав известный в эволюции феномен «эффекта основателя». Следует отметить, что прежде распределявшийся среди потребителей инъекционных наркотиков вариант CRF03_AB вышел за пределы данной группы риска и теперь распространяется гетеросексуальным путем.

Другой феномен, проиллюстрированный развитием эпидемии в г. Череповце, связан с формированием вторичных рекомбинантных форм ВИЧ-1. Как известно, вирус иммунодефицита человека склонен к частой рекомбинации. Данный процесс является мощным генетическим механизмом вируса, необходимым ему для того, чтобы выжить в постоянно меняющейся среде хозяина, включая иммунологическую селекцию. Рекомбинантная форма может иметь некоторое биологическое преимущество по сравнению с родительскими штаммами, включая, возможно, более высокую способность к репликации (фитнес) и/или трансмиссивность [19]. Было показано, что рекомбинация ВИЧ-1 может генерировать варианты, которые избегают иммунного ответа хозяина и продуцируют вирусы, обладающие повышенной устойчивостью к противовирусным препаратам [20].

По некоторым данным, рекомбинантные формы ВИЧ-1 обладают особой склонностью к формированию вторичных рекомбинантов [21]. Именно такая ситуация, сложившаяся в Вологодской области и связанная с продолжительной циркуляцией двух генетических вариантов, одним из которых был рекомбинант CRF03_AB, предсказуемо привела к формированию уникальных рекомбинантных форм ВИЧ-1, образованных сегментами геномов вирусов суб-субтипа А6 и CRF03_AB.

Таким образом, эволюция ВИЧ-1 на территории Вологодской области продолжается, при этом основными источниками изменчивости являются взаимное проникновение вирусов между группами риска и рекомбинационные процессы.

* * *

Исследование выполнено с привлечением средств гранта Министерства образования и науки Российской Федерации (уникальный идентификатор проекта RFMEFI61019X0020) в рамках осуществления международного проекта CARE (соглашение № 825673).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hemelaar J., Gouws E., Ghys P.D., Osmanov S. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000–2007 // *AIDS*. 2011. Vol. 25, No. 5. P. 679–689.
2. Salemi M. Toward a robust monitoring of HIV subtypes distribution worldwide // *AIDS*. 2011. Vol. 25. No. 5. P. 713–714.
3. Bobkov A., Kazennova E., Selimova L. et al. A sudden epidemic of HIV type 1 among injecting drug users in the former Soviet Union: Identification of subtype A, subtype B, and novel gagA/envB recombinants // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1998. Vol. 14. P. 669–676.
4. Бобков А.Ф., Казеннова Е.В., Селимова Л.М. и др. Молекулярно-вирусологические особенности эпидемии ВИЧ-инфекции в России и других странах СНГ // *Вестник РАМН*. 2003. Т. 17, № 12. С. 83–85. [Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M. et al. Molecular virological features of the HIV epidemic in Russia and other CIS countries. *Vestnik RAMS*, 2003, Vol. 17, No. 12, pp. 83–85 (In Russ.)].
5. Гришечкин А.Е., Казеннова Е.В., Суханова А.Л. и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции на территории Алтайского края // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2006. Т. 1. С. 15–19. [Grishechkin A.E., Kazennova E.V., Sukhanova A.L. et al. Molecular and epidemiological characteristics of HIV infection in the Altai Territory. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2006, Vol. 1, pp. 15–19 (In Russ.)].
6. Romyantseva O.A., Olkhovskiy I.A., Malysheva M.A. et al. Epidemiological networks and drug resistance of HIV type 1 in Krasnoyarsk region, Russia // *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009. Vol. 25, No. 9. P. 31–36.
7. Казеннова Е.В., Антонова О.В., Кузин С.Н. и др. Молекулярно-эпидемиологическое исследование распространения ВИЧ-1 на территории Республики Саха (Якутия) // *Вопросы вирусологии*. 2011. Т. 56, № 5. С. 30–34. [Kazennova E.V., Antonova O.V., Kuzin S.N. et al. Molecular epidemiological study of the spread of HIV-1 in the Republic of Sakha (Yakutia). *Issues of Virology*, 2011, Vol. 56, No. 5, pp. 30–34 (In Russ.)].
8. Богачев В.В., Тотменин А.В., Барышев П.Б. и др. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1 субтипов А и В, выделенных на территории Новосибирской области // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012. Т. 6. С. 45–52. [Bogachev V.V., Tumanin A.V., Baryshev P.B., etc. Molecular and genetic characteristics of HIV-1 subtypes a and B isolated on the territory of the Novosibirsk region // *Journal of Microbiology, epidemiology and Immunobiology*. 2012. Vol. 6. pp. 45–52. (In Russ.)].
9. Smolskaya T., Liitsola K., Zetterberg V. et al. HIV Epidemiology in the Northwestern Federal District of Russia: Dominance of HIV Type 1 Subtype A // *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006. Vol. 22. P. 1074–1080.
10. Казеннова Е.В., Бронникова А.В., Кузин С.Н. и др. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в г.Череповце Вологодской области: второй случай эпидемической вспышки, вызванной рекомбинантом gagAenvB // *Вопросы вирусологии*. 2008. Т. 53, № 5. С. 23–27. [Kazennova E.V., Bronnikova A.V., Kuzin S.N. et al. Molecular genetic characteristics of HIV-1 variants circulating in the city of Cherepovets, Vologda Oblast: the second case of an epidemic outbreak caused by the recombinant gagAenvB. *Issues in Virology*, 2008, Vol. 53, No. 5, pp. 23–27 (In Russ.)].
11. Курганова Т.Ю., Мельникова Т.Н., Огурцова С.В., Белякова Н.А. Доминирующие причины повышенной заболеваемости ВИЧ-инфекцией, новая волна срединаркопотребителей в Вологодской области // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2018. Т. 10, № 4. С. 83–89. [Kurganova T.Yu., Melnikova T.N., Ogurtsova S.V., Belyakova N.A. The dominant causes of increased incidence of HIV infection, a new wave of drug users in the Vologda region. *HIV infection and immunosuppression*, 2018, Vol. 10, No. 4, pp. 83–89 (In Russ.)].
12. Беляков Н.А., Лioзнов Д.А., Коновалова Н.В. и др. Эпидемиология и тенденции развития эпидемии ВИЧ-инфекции на Северо-Западе Российской Федерации // *Медицинский академический журнал*. 2015. Т. 15. № 4. С. 59–69. [Belyakov N.A., Lioznov D.A., Konovalova N.V. et al. Epidemiology and development trends of the HIV epidemic in the North-West of the Russian Federation. *Medical Academic Journal*, 2015, Vol. 15, No. 4, pp. 59–69 (In Russ.)].
13. *ВИЧ-инфекция и коморбидные состояния в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации в 2016 году: аналитический обзор* / под ред. Н.А.Белякова. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2017. 52 с. [*HIV infection and comorbid conditions in the Northwestern Federal District of the Russian Federation in 2016: an analytical review* / ed. N.A.Belyakov. Saint Petersburg: FBNI NIEM named after Pasteur, 2017, 52 p. (In Russ.)].
14. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. Vol. 30, No. 12. P. 2725–2729.
15. Nguyen LT., Schmidt HA., von Haeseler A., Minh BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximumlikelihood phylogenies // *Mol Biol Evol.* 2015. Vol. 32, No. 1. P. 268–274.
16. Baryshev P., Bogachev V., Gashnikova N. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia // *Arch. Virol.* 2012. Vol. 157, No. 12. P. 2335–2341.
17. Esteves, A., Parreira, R., Venenno, T., Franco, M., Piedade, J., Germano de Sousa, J., & Canas-Ferreira, W. F. (2002). Molecular Epidemiology of HIV Type 1 Infection in Portugal: High Prevalence of Non-B Subtypes // *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2002. Vol. 18, No. 5. P. 313–325.
18. Delatorre E, Mir D, Bello G. Spatiotemporal dynamics of the HIV-1 subtype G epidemic in West and Central Africa // *PLoS One*. 2014. No. 9. e98908.

19. Streeck H., Li B., Poon A.F. et al. Immune-driven recombination and loss of control after HIV superinfection // *J. Exp. Med.* 2008. Vol. 205, No. 8. P. 1789–1796.
20. Kellam P., Larder B.A. Retroviral recombination can lead to linkage of reverse transcriptase mutations that confer increased zidovudine resistance // *J. Virol.* 1995. Vol. 69, No. 2. P. 669–674.
21. Woo J., Robertson D.L., Lovell S. C. Constraints from protein structure and intra-molecular coevolution influence the fitness of HIV-1 recombinants // *Virology.* 2014. Vol. 454–455. P. 34–39.

Поступила в редакцию/Received by the Editor: 18.11.2019 г.

Сведения об авторах:

Ожмегова Екатерина Никитична — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: belokopytova.01@mail.ru»;

Антонова Анастасия Александровна — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: anastaseika95@mail.ru;

Лебедев Алексей Владимирович — научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: swan_236@mail.ru;

Мельникова Татьяна Николаевна — главный врач заведующая лабораторией клинической иммунологии бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области «Вологодский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; 160002, Вологодская область, Вологда, ул. Шетинина, д. 17-А; e-mail: antispid@vologda.ru;

Крылова Татьяна Валентиновна — кандидат медицинских наук, заведующая Центром профилактики и борьбы со СПИДом бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области «Вологодская областная клиническая больница № 2»; 160002, Вологодская область, Вологда, Лечебная ул., д. 17; e-mail: Rodnik_krylov@mail.ru;

Казачек Андрей Владимирович — заместитель главного врача по медицинской части заведующая лабораторией клинической иммунологии бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области «Вологодский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; 160002, Вологодская область, Вологда, ул. Шетинина, д. 17-А; e-mail: Kazachek.83@mail.ru;

Ширяева Наталья Александровна — заведующая клинико-диагностической лабораторией заведующая лабораторией клинической иммунологии бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области «Вологодский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»; 160002, Вологодская область, Вологда, ул. Шетинина, д. 17-А; e-mail: Nataly1366@yandex.ru;

Кириллова Ирина Львовна — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клинической иммунологии бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области бюджетного учреждения здравоохранения Вологодской области «Вологодская областная клиническая больница № 2»; 160002, Вологодская область, Вологда, Лечебная ул., д. 17; e-mail: I.kirillova@chgb1.ru;

Казеннова Елена Валерьевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: kazennova@rambler.ru;

Бобкова Марина Ридовна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: mrbobkova@mail.ru.

Уважаемые читатели журнала

«ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии»!

Сообщаем, что открыта подписка на 2020 год.

ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:

каталог НТИ ОАО Агентство «Роспечать»

в разделе: Здравоохранение. Медицина. — 57990

Подписная цена на 2-е полугодие 2020 года (2 выпуска) — 950 руб.