
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064]:577.2.08

*Казеннова Е.В.¹, Лага В.Ю.¹, Громов К.Б.¹, Санков М.Н.¹, Попова Е.С.², Игумнова Е.Г.², Опарина Е.Н.²,
Сорокина Т.А.², Бобкова М.Р.¹*

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В СЕВЕРНЫХ ПОРТОВЫХ ГОРОДАХ РОССИИ

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;

²ГБУЗ АО «Архангельский клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», 163000, г. Архангельск

Представлены результаты молекулярно-эпидемиологического анализа вариантов ВИЧ-1, распространенных в Архангельске и Мурманске. Показано, что в этих городах доминирует вариант ВИЧ-1 подтипа А1 — 83 и 93% соответственно. В регионах выявлены варианты вирусов и других подтипов (В, С, D) и рекомбинантных форм (CRF03_AB, CRF02_AG), причем частота встречаемости этих штаммов в Архангельске выше, чем в Мурманске. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей показал, что все штаммы ВИЧ-1 подтипа А1 принадлежат к варианту IDU-A, доминирующему в России, а рекомбинант CRF02_AG аналогичен циркулирующим в странах Центральной Азии бывшего СССР. Все выявленные варианты подтипа В кластеризуются с нуклеотидными последовательностями западноевропейских штаммов. Проведен анализ мутаций лекарственной устойчивости и показано, что среди пациентов из Архангельска и Мурманска ($n = 124$), которые на момент сбора материала в 2013 г. не получали антиретровирусную терапию, первичная резистентность составила менее 5%.

Ключевые слова: ВИЧ-1; подтипы; филогенетический анализ.

Для цитирования: Казеннова Е.В., Лага В.Ю., Громов К.Б., Санков М.Н., Попова Е.С., Игумнова Е.Г., Опарина Е.Н., Сорокина Т.А., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в северных портовых городах России. *Вопросы вирусологии.* 2017; 62(4): 154-161. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-4-154-161>

*Kazenova E.V.¹, Laga V.Yu.¹, Gromov K.B.¹, Sankov M.N.¹, Popova E.S.², Igumnova E.G.², Oparina E.N.²,
Sorokina T.A.², Bobkova M.R.¹*

MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF HIV INFECTION IN NORTHERN SEAPORTS OF RUSSIA

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation;

²Arkhangelsk Clinical Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Arkhangelsk, 163000, Russian Federation

The results of the molecular-epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in Arkhangelsk and Murmansk – northern seaports of Russia – were presented. In these seaports the HIV-1 variants belonging to subtype A1 were predominant (93% in Murmansk, 83% in Arkhangelsk). In addition to these variants, viruses of other subtypes such as B, C, D and recombinant forms CRF02_AG and CRF03_AB were identified. The heterogeneity of circulating HIV-1 variants was higher in Arkhangelsk than in Murmansk. According to the results of phylogenetic analysis, subtype A1 sequences formed the common branch with nucleotide sequences of IDU-A strains found in other regions of Russia. HIV-1 variants of subtype B sub-clustered with sequences of East European B-variants. The recombinant strains CRF02_AG formed the common branch with HIV-1 sequences from Central Asia republics of the former USSR. Among 124 therapy-naive patients from Arkhangelsk and Murmansk ($n = 124$) the transmitted resistance was less than 5%.

Key words: HIV-1; subtype; phylogenetic analysis.

For citation: Kazenova E.V., Laga V.Yu., Gromov K.B., Sankov M.N., Popova E.S., Igumnova E.G., Oparina E.N., Sorokina T.A., Bobkova M.R. Molecular epidemiological analysis of HIV infection in northern seaports of Russia.

Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal). 2017; 62(4): 154-161. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-4-154-161>

For correspondence: Elena V. Kazenova, Dr. Sci. Biol., leading researcher, Laboratory of T-Lymphotropic Viruses, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Federal State Budgetary Institution «Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation.
E-mail: kazenova@rambler.ru

Для корреспонденции: Казеннова Елена Валерьевна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории вирусов лейкозов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: kazenova@rambler.ru

Information about authors:Kazenova E. V., <http://orcid.org/0000-0002-7912-4270>Bobkova M. R., <http://orcid.org/0000-0001-5481-8957>

Acknowledgements. The authors are grateful to researchers from Murmansk Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases and Arkhangelsk Clinical Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases for collecting samples.

This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 15-15-00050).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 01 December 2016

Accepted 13 December 2016

В целях слежения за распространением вариантов ВИЧ практически во всех странах мира проводится молекулярно-эпидемиологический анализ, основанный на генотипировании вируса. Такой мониторинг предназначен для определения циркулирующих подтипов и других генетических вариантов ВИЧ-1 [1] в пределах групп риска заражения или региона, анализа динамики эпидемии, слежения за вариантами вируса, выявляемыми у мигрантов из приграничных государств. Необходимость молекулярно-эпидемиологического мониторинга обусловлена несколькими причинами:

— возможными различиями в эффективности молекулярных лабораторных методов по отношению к разным подтипам ВИЧ-1 [2];

— возможными различиями в эффективности антиретровирусных препаратов (АРВ) между вирусами разных подтипов [3];

— генетическими различиями подтипов, ассоциированными с устойчивостью к противовирусным лекарственным средствам [4];

— необходимостью учитывать разнообразие вариантов вируса при разработке вакцины против ВИЧ [5].

В Российской Федерации начиная с первого случая ВИЧ-инфекции, зафиксированного у российского гражданина в 1987 г., проводится постоянный мониторинг распространения вариантов ВИЧ в разных регионах европейской и азиатской территорий страны. С момента проникновения в 1995 г. в среду потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и их половых партнеров варианта ВИЧ-1 подтипа А1, названного в России IDU-A (англ. injecting drug users) или A_{FSU} (англ. former Soviet Union) в зарубежной литературе, началось стремительное распространение этого варианта вируса по всей стране. В начале 2000-х годов вариант IDU-A вышел за пределы данной группы риска и стал распространяться гетеросексуальным путем [6—10].

За весь период наблюдений на территории России выявлено всего несколько регионов, где доминировали варианты не-А-подтипа ВИЧ. Две вспышки были вызваны рекомбинантной формой CRF03_AB ВИЧ-1: первая в Калининградской области в 1998 г., когда штамм CRF03_AB был впервые выделен [11], вторая в 2006 г. в г. Череповце Вологодской области [12, 13]. Эти штаммы встречались и продолжают встречаться в других регионах РФ, но все они обнаруживаются спорадически и эпидемиологически, как правило, связаны с Калининградской областью.

В 2013 г. в Томске среди вновь инфицированных лиц превалировал вариант ВИЧ CRF63_02A1 [14]. Данная рекомбинантная форма впервые была выявлена и описана в Новосибирске в 2008 г. [15], а в настоящее время все чаще встречается в других регионах азиатской части РФ, а также в странах Центральной Азии [16].

В 2012—2013 гг. нами были проведены молекулярно-

эпидемиологические исследования в крупных городах Дальнего Востока России — Хабаровске, Благовещенске, Владивостоке, где традиционно сосредоточены морские и сухопутные торговые пути. В этих городах наблюдается оживленная регулируемая и нерегулируемая коммерция, активное перемещение потоков рабочей силы как в пределах страны, так и из-за рубежа. Географическое положение этих городов создает базу для постоянно растущих экономических и культурных связей России с пограничными государствами — Китаем и Японией, а также государствами, связанными с Россией морскими торговыми путями. В связи с вышесказанным возможен занос и заражение ВИЧ в результате «рискованного» поведения как местных жителей, так и временно посещающих эти города людей, генетическими вариантами вируса с разных территорий. В литературе имеются данные о том, что в крупных портовых городах соотношение циркулирующих вариантов ВИЧ-1 может отличаться от ситуации в стране в целом [17]. Для России в силу гомогенности эпидемии ВИЧ-инфекции это должно было бы быть особенно заметно.

Исследования показали, что в Благовещенске, как и в целом по России, доминирует вариант вируса подтипа А1 и выявлены лишь единичные случаи инфицирования не-А-подтипами. В то же время профиль вариантов ВИЧ в Хабаровске заметно отличается от такового на территории России. Несмотря на преобладание типичной для России генетической формы ВИЧ подтипа А1, в этом регионе широко распространены варианты ВИЧ подтипов В и С, а также рекомбинантной формы CRF02_AG [18].

Особый интерес вызвали результаты филогенетического анализа вирусов подтипа В, циркулирующих во Владивостоке. Ранее было показано, что, кроме вариантов подтипа В, передающихся гомо- или гетеросексуальным путем и широко распространенных в мире, среди ПИН на территории России и Украины с низкой частотой циркулируют варианты ВИЧ-1 того же подтипа (восточноевропейский вариант, или IDU-B), генетически отличающиеся от циркулирующих как среди мужчин, имеющих сексуальные отношения с мужчинами (МСМ) (западноевропейский вариант), так и в других группах риска в Западной Европе и Америке [19]. По данным наших исследований, во Владивостоке наблюдается распространение именно восточноевропейского варианта вируса подтипа В, который был обнаружен в 67 и 33% случаев заражения ПИН и гетеросексуалов, а не занос ВИЧ этого подтипа из Китая или Японии, как можно было ожидать. Кроме того, во Владивостоке представлены подтипы А, С и рекомбинантный вариант CRF02_AG.

Таким образом, ни географическое положение, ни экономические и культурные связи с пограничными государствами существенным образом не повлияли на формирование генетического профиля вариантов ВИЧ на Дальнем Востоке, который определяется прежде все-

го миграционными процессами внутри России. Тем не менее в одном случае вариант ВИЧ подтипа С из Владивостока оказался филогенетически близок к штаммам из Китая/Индии [10]. Данный факт свидетельствует о том, что эпидемиологическая ситуация может измениться, и в регионе начнут распространяться и другие не-А-, не-В-варианты ВИЧ.

Полученные результаты вызвали интерес к проведению молекулярно-эпидемиологических исследований ВИЧ-инфекции и в других крупных портовых городах России для изучения распространения вариантов ВИЧ-1 и их роли в эпидемическом процессе в этих регионах. Для исследования были выбраны северные города-порты Архангельск и Мурманск.

Архангельский морской порт — основная база Северного пароходства, выполняющего морские перевозки по Белому, Баренцеву, Карскому морям, Северному морскому пути и на заграничных линиях. Мурманский морской порт — один из крупнейших незамерзающих портов России. С 2010 г. Мурманск был официально объявлен особой экономической зоной для создания мощной транспортно-торговой инфраструктуры, привлечения инвестиций и в конечном счете развития социальной сферы.

Таким образом, целью настоящей работы явилось молекулярно-эпидемиологическое исследование вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории крупнейших северных портов России Архангельска и Мурманска в настоящее время, включая анализ мутаций лекарственной устойчивости (ЛУ).

Материал и методы

В исследовании была использована коллекция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) и/или плазмы крови, собранная от 66 ВИЧ-инфицированных лиц из Архангельска и 66 ВИЧ-инфицированных лиц из Мурманска. Вирусная нагрузка (ВН) в образцах составляла от 246 до 1 682 228 копий РНК/мл. Все пациенты были зарегистрированы в региональных центрах СПИД с диагнозом ВИЧ-инфекции в период с 2001 по 2014 г.

Выявление факторов риска, возможных мест заражения, эпидемиологических связей с другими ВИЧ-инфицированными лицами проводили путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Кроме того, регистрировали возраст, пол пациента, дату забора клинического материала, дату и регион постановки диагноза ВИЧ-инфекции. Сведения о применении/неприменении пациентом АРВ-препаратов получали, руководствуясь записями в амбулаторных картах. Весь полученный клинический материал использовали при информированном согласии пациентов на основании одобрения Локального комитета по этике на базе ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России на проведение научно-исследовательской работы (протокол 06-13 заседания Локального комитета по этике от 05.06.13).

Выделение геномной ДНК, включающей интегрированную провирусную ДНК, из клеток крови ВИЧ-инфицированных пациентов проводили с применением наборов QIAmp DNA Blood Mini Kit и прибора QIAcube («Qiagen», США) в соответствии с инструкцией производителя.

Генотипирование вируса от ВИЧ-инфицированных пациентов из Архангельска и Мурманска выполняли путем анализа нуклеотидных последовательностей об-

ласти гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, с использованием набора ViroSeq (версия 2) («Celera Diagnostics», США) и методом *in house* посредством прямого секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, как описано ранее [20]. Нуклеотидные последовательности определяли с использованием генетического анализатора ABI Prism 3130 («Applied Biosystems», США). Анализ мутаций ЛУ проводили с применением ViroSeq HIV-1 Genotyping System Software v.2.8 и базы данных Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu/>).

Подтипы ВИЧ-1 определяли с использованием референс-программы HIVdbProgram: Sequence Analysis, а также программ REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 2), представленных на сайте Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu/>), и COMET HIV-1 (<http://comet.retrovirology.lu/>).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей методом ClustalW и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей методом «ближайших соседей» выполняли с помощью пакета программ MEGA v.5.05, доступного на сайте <http://megasoftware.net/>.

Результаты

Анализ исследованных групп показал, что на момент забора крови возраст пациентов из Архангельска (АРН) варьировал от 20 лет до 51 года, из Мурманска (МРК) — от 25 до 59 лет. Соотношение мужчин и женщин в исследуемых когортах из Архангельска и Мурманска составило 1:1,1 и 1,2:1 соответственно.

В Архангельске 49 (49/66; 74%) человек были инфицированы в результате половых контактов, включая 5 МСМ. Остальные 17 пациентов из анализируемой группы заразились при употреблении инъекционных наркотиков (17/66; 26%).

В Мурманске основным путем передачи оказался инъекционный, среди обследованных пациентов потребители наркотиков составили большинство — 38 (38/66; 58%) человек. Остальные пациенты были инфицированы в результате половых контактов (28/66; 42%).

На момент забора крови 8 пациентов из Архангельска находились на лечении АРВ-препаратами. Пациенты из Мурманска на момент исследования терапию не получали, 5 из них самостоятельно прекратили прием препаратов в 2011—2013 гг.

Генотипирование. Результаты молекулярно-эпидемиологического исследования образцов из Архангельска и Мурманска приведены в таблице. Как следует из представленных данных, подавляющее большинство ВИЧ-инфицированных лиц из Мурманска заражено вирусом варианта подтипа А1 (62/66; 93%) как в результате употребления психоактивных препаратов внутривенно (38/62; 61%), так и при половых контактах (24/62; 39%). Лишь у 4 пациентов, заразившихся половым путем, выявлен вирус не-А-подтипа: один из них инфицирован вирусом подтипа В (1/66; 1,5%), 3 — вирусом рекомбинантной формы CRF02_AG (3/66; 4,5%).

Генетический профиль вариантов ВИЧ из Архангельска более разнообразен. Среди анализированных вариантов, как и в Мурманске, доминирует ВИЧ подтипа А1 (55/66; 83%), в результате употребления наркотиков инфицированы 38 (38/55; 69%) человек, при половых контактах — 17 (17/55; 31%). Помимо вирусов подтипа А1 выявлены варианты ВИЧ подтипов В (7/66; 10,6%), С (1/66; 1,5%) D (1/66; 1,5%), а также рекомбинантные

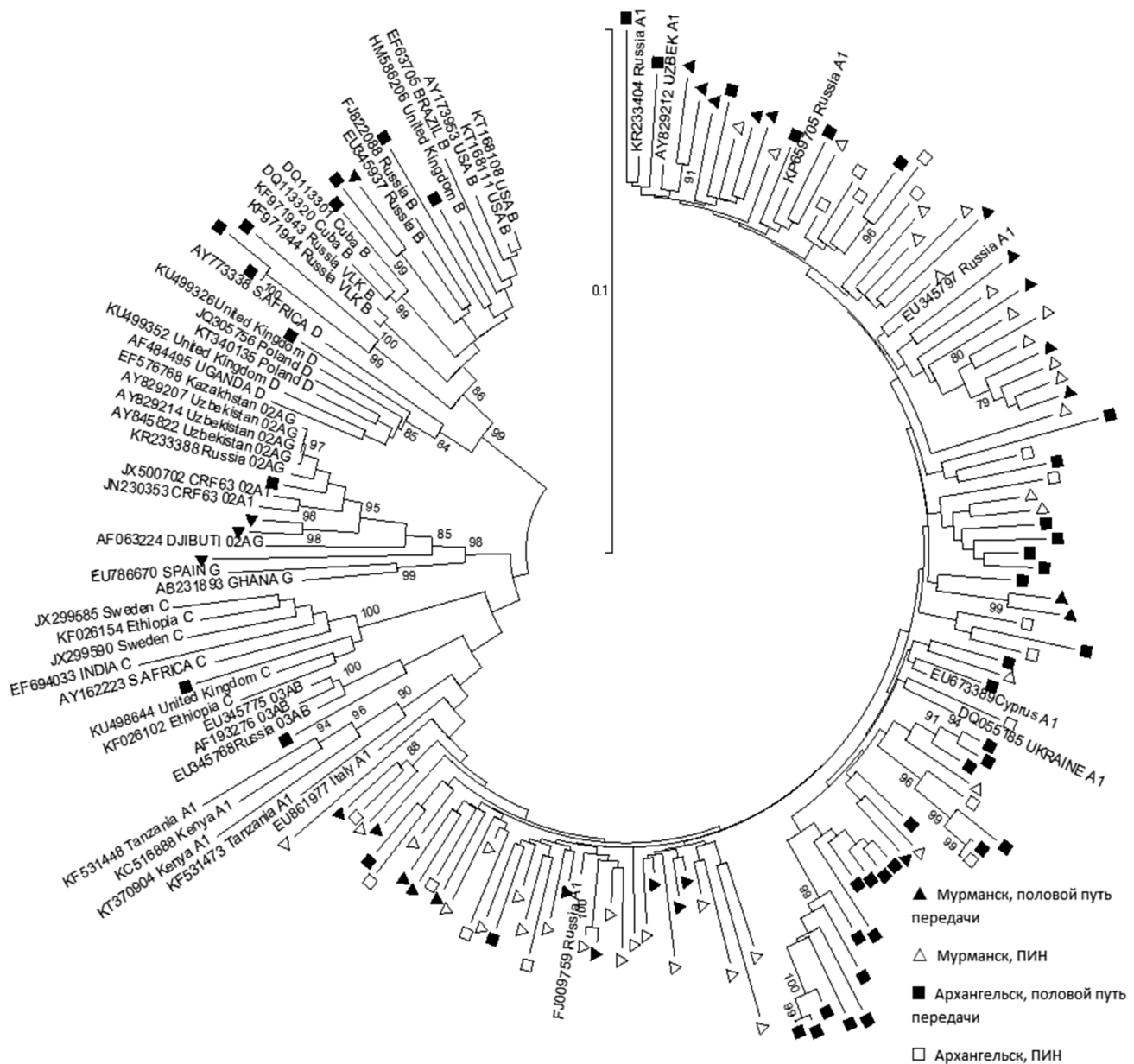


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1, кодирующих протеазу и 2/3 обратной транскриптазы, образцов из Архангельска и Мурманска.

Здесь и на рис. 2 и 3: обозначение референс-последовательностей ВИЧ-1 соответствует коду GenBank с указанием подтипа. Цифры у основания основных ветвей указывают частоту, с которой данные последовательности оказывались на одной ветви в 500 независимых построениях.

формы CRF03_AB (1/66; 1,5%) и CRF02_AG (1/66; 1,5%). Пять из 7 пациентов, инфицированных вариантом вируса подтипа В, заразились в результате гомосексуальных контактов.

Филогенетический анализ. Для подтверждения результатов генотипирования, а также выяснения происхождения и возможного родства вариантов ВИЧ, циркулирующих в Архангельске и Мурманске, был проведен филогенетический анализ 132 нуклеотидных последовательностей области гена *pol*, кодирующей протеазу и обратную транскриптазу. Три из 132 анализированных последовательностей (варианты подтипа А1) с самым высоким удельным весом смеси ($\geq 3\%$ нуклеотидных

позиций) не были включены в анализ, что улучшило визуализацию рисунка и не повлияло на топологию филограммы. В качестве референс-штаммов для анализа вариантов ВИЧ из GenBank (<http://www.hiv.lanl.gov>) были выбраны последовательности из России, республик бывшего СССР, стран Западной и Восточной Европы, Африки, Америки, а также последовательность EU861977 (A-ор) подтипа А1, которая, по данным литературы, является наиболее близкородственной варианту IDU-A [21].

На рис. 1 показано филогенетическое древо для 114 нуклеотидных последовательностей подтипа А1, 8 — подтипа В, по одной — подтипов С и D, 4 — CRF02_AG,

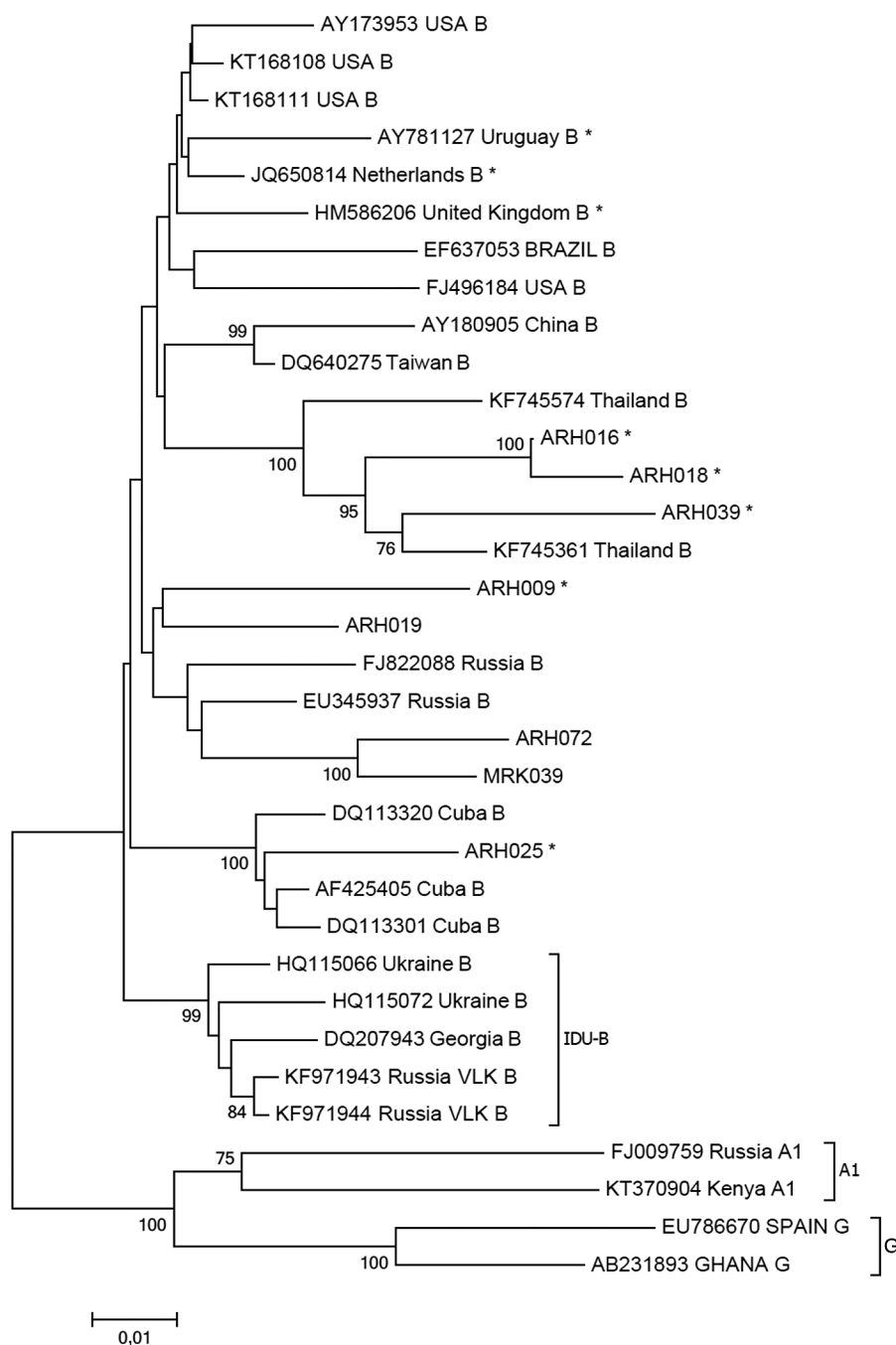


Рис. 2. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1, кодирующих протеазу и 2/3 обратной транскриптазы, образцов подтипа В из Архангельска и Мурманска.

Звездочками отмечены образцы от МСМ. IDU-B — восточноевропейский вариант ВИЧ-1 подтипа В, циркулирующий среди ПИН в России.

одной CRF03_AB, выявленных в Архангельске и Мурманске. Как видно на рисунке, все последовательности вирусов подтипа А1 из анализированных регионов располагаются на одной ветви филогенетического древа вместе с доминирующим вариантом IDU-A из других регионов России и его предшественником А-от, что указывает на принадлежность исследуемых последовательностей к данному варианту. Все не-А-варианты, выделенные в настоящем исследовании, кластеризо-

вались между собой и с референс-штаммами известных подтипов и рекомбинантных форм из других регионов мира и поддержаны бустреп-значением более 90%.

Кроме того, был проведен дополнительный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вариантов подтипа В, выявленных в Мурманске и Архангельске, в сравнении с последовательностями ВИЧ-1 того же подтипа из разных регионов мира. На представленной филограмме (рис. 2) видно, что ни один из анализируемых вариантов не кластеризуется с последовательностями ВИЧ IDU-B (восточноевропейский вариант), циркулирующих среди ПИН на территории стран Восточной Европы [10]. Нуклеотидные последовательности, полученные от МСМ (ARH009, ARH016, ARH018, ARH025, ARH039), не формировали общую ветвь как между собой, так и с другими последовательностями ВИЧ подтипа В от МСМ из других регионов мира. Филогенетический анализ показал, что пациенты ARH016 и ARH018 являются половыми партнерами, о чем свидетельствует общая ветвь на филограмме, и уточненные эпидемиологические данные это подтвердили.

Для выявления возможного источника вариантов CRF02_AG в Архангельске и Мурманске был проведен дополнительный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей исследованных образцов (ARH022, MRK055, MRK074, MRK092) в сравнении с последовательностями ВИЧ-1 AG-рекомбинантов из разных регионов мира. Как следует из филограммы, представленной на рис. 3, три последовательности ARH022, MRK055, MRK074 образуют общую ветвь с последовательностями вариантов CRF02_AG, циркулирующих на территории стран Центральной Азии [20]. Лишь одна последовательность от пациента из Мурманска — MRK092 — кластеризовалась с последовательностями «африканских» рекомбинантов.

Анализ резистентности ВИЧ.

Из двух анализируемых групп только в Архангельске были образцы от 8 пациентов, получавших АРВ-препараты на момент исследования. Использовали следующие схемы терапии:

- комбивир (AZT + 3TC), третий препарат схемы либо эфавиренз (стокрин — EFV) (4/8; 50%) или калетра (лопинавир/ритонавир — LPV/r) (1/8; 12,5%) либо реатаз (атазанавир — ATV) (1/8; 12,5%);
- кивекса (абакавир + ламивудин — 3TC + ABC),

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 по группам риска заражения в Архангельске и Мурманске

Регион	Генетические варианты							Итого
	A1		B	C	D	CRF03_AB	CRF02_AG	
	ПИН*	половой	половой	половой	половой	половой	половой	
Архангельск	38 (57,6%)	17 (25,8%)	7 (10,6%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)	66 (100%)
Мурманск	38 (57,6%)	24 (36,4%)	1 (1,5%)	—	—	—	3 (4,5%)	66 (100%)

Примечание. * — указаны только те группы риска, в которых выявлены ВИЧ-инфицированные пациенты.

третий препарат схемы реатаз (атазанавир — ATV) (1/8; 12,5%) либо калетра (лопинавир/ритонавир — LPV/r) (1/8; 12,5%).

Показатель ВН у пациентов из Архангельска, которые на момент исследования получали АРВ-терапию, колебался от 153 до 1 682 228 копий/мл. В соответствии с записями в амбулаторной карте лечение пациента с ВН 153 копии/мл началось за 2 нед до забора крови для молекулярно-эпидемиологического исследования в регионе, и данный показатель свидетельствует об эффективности назначенной схемы. Лишь у 1 пациента из 8 была выявлена первичная, т. е. непосредственно связанная с ЛУ мутация к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ) — K103S на фоне приема в течение 3 лет препаратов схемы комбивир — стокрин. Возможно, ее нали-

чие и привело к повышению ВН до 79 005 копий/мл. У 6 пациентов с детектируемой ВН (более 1000 копий/мл) на фоне приема препаратов первичные мутации ЛУ не обнаружены, что может свидетельствовать о низкой приверженности лечению данных лиц. У 4 из 58 «наивных» пациентов из Архангельска была выявлена первичная резистентность, или заражение мутантными штаммами, к лекарственным препаратам (мутации ЛУ D30N, D67N, M41L, G190S) [22]. Ранее было показано, что частота встречаемости мутации ЛУ G190S на фоне применения ННИОТ для российских вариантов IDU-A ВИЧ-1 выше, чем у других вариантов вирусов подтипа A1. Как было установлено, это определяется кодирующим аминокислоту глицин триплетом, что приводит к предрасположенности вариантов IDU-A к возникновению мутации G190S на фоне применения ННИОТ [23].

Следует отметить, что мы впервые столкнулись со случаем заражения мутантным штаммом, несущим замену G190S. По данным эпидемиологического расследования, пациентка ARH021 была инфицирована в 2010 г. половым партнером ARH003. Пациент ARH003 в свою очередь заразился ВИЧ в результате употребления наркотических препаратов в Красноярске в 2004 г., а с декабря 2009 г. начал получать АРВ-терапию комбивир — стокрин. У пациентки ARH021 еще в октябре 2010 г. (по результатам ИФА) отсутствовали антитела к ВИЧ, но уже в январе 2011 г. результат ИФА оказался положительным. В 2013 г. у ARH021 при генотипировании до начала терапии была выявлена мутация G190S. К сожалению, вирус донора ARH003 не удалось генотипировать, но судя по высокой ВН (648 564 копии/мл) на момент забора крови в июне 2013 г. на фоне лечения, пациент отличался низкой приверженностью к лечению, что в конечном счете и привело к формированию резистентного штамма, выявленного впоследствии у полового партнера.

По данным литературы, мутации ЛУ по-разному влияют на размножение ВИЧ. Так, замена M184V/I (устойчивость к нуклеотидным ингибиторам обратной транскриптазы — НИОТ) приводит к резкому снижению репликативной способности, в то время как мутация K103N (устой-

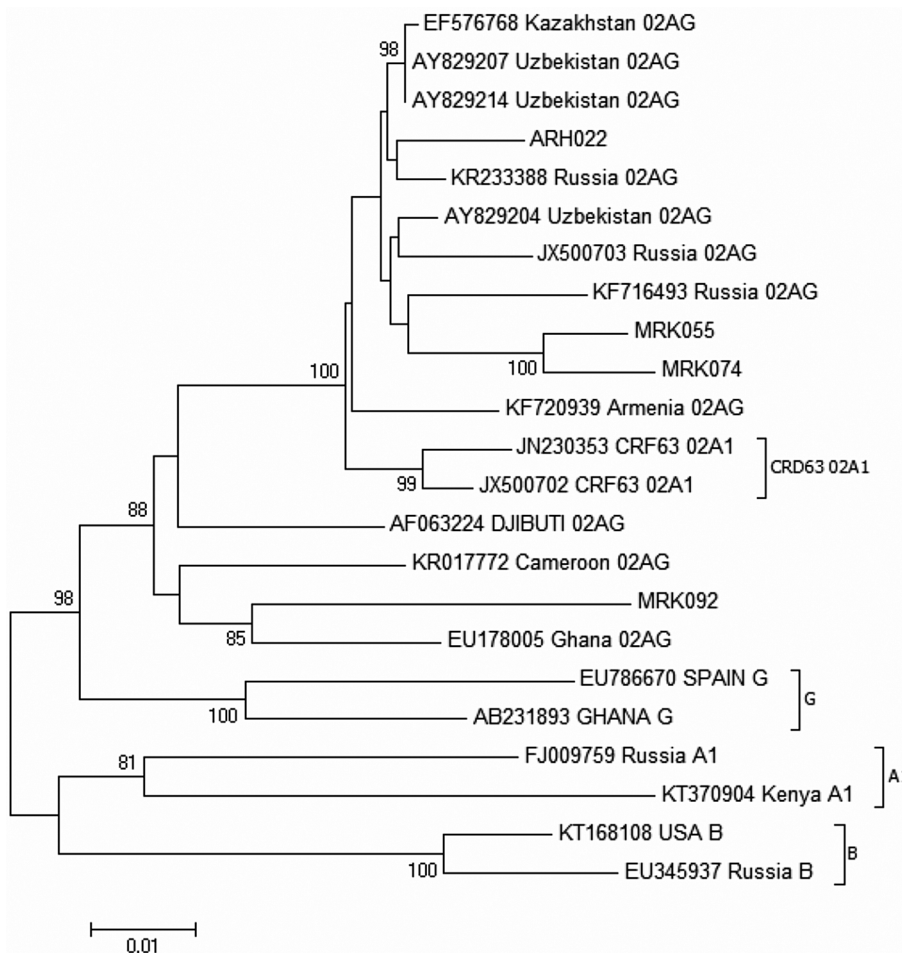


Рис. 3. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1, кодирующих протеазу и 2/3 обратной транскриптазы, вариантов CRF02_AG из Архангельска и Мурманска.

чивость к ННИОТ) практически не влияет на данное свойство вируса. Следствием этого становится способность мутантного штамма, содержащего замену K103N, персистировать в организме инфицированного долгие годы. Вероятно, то же происходит и с выявленным резистентным штаммом, содержащем мутацию LУ G190S, который появился и циркулировал у донора на фоне применения ННИОТ, а в дальнейшем попал в организм реципиента [24].

Анализ мутаций ЛУ 66 последовательностей от ВИЧ-инфицированных пациентов из Мурманска, которые на момент сбора материала не получали АРВ-терапию, показал наличие 2 мутаций резистентности у разных пациентов — K103N и M46L. Следует отметить, что у 5 пациентов с ВН от 1300 до 280 000 копий/мл, самостоятельно прервавших лечение, мутаций ЛУ не обнаружено. Таким образом, первичная резистентность среди пациентов из Архангельска и Мурманска, которые на момент сбора материала в 2013 г. не получали АРВ-терапию, составила менее 5% (6 мутаций ЛУ у 124 ВИЧ-инфицированных «наивных» пациентов).

Кроме того, у 18% пациентов из анализируемых групп, инфицированных IDU-A (24/132), выявлена вторичная, или компенсаторная, мутация A62V, которая обычно регистрируется в комбинации с первичными мутациями K65R или Q151M на фоне лечения НИОТ. Для варианта ВИЧ IDU-A замена A62V является полиморфной (частота встречаемости более 60%) и не обуславливает лекарственной устойчивости в отсутствие первичных мутаций [25].

Обсуждение

Проведенные молекулярно-эпидемиологические исследования ВИЧ-инфекции в северных портах России Архангельске и Мурманске показали, что в этих городах, как и на всей территории России, доминирует вариант ВИЧ-1 подтипа А1 — 55/66 (83%) и 62/66 (93%) соответственно. В регионах выявлены варианты вирусов и других подтипов (В, С, D) и рекомбинантных форм (CRF03_AB, CRF02_AG), но частота их встречаемости в городах неодинакова. Так, в Архангельске не-А-подтипы составляют 17%, в то время как в Мурманске лишь 7%, при этом и генетический профиль вариантов ВИЧ в Архангельске разнообразнее (см. таблицу). Следует отметить, что все не-А-варианты обнаружены у пациентов, заразившихся половым путем. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей показал, что все варианты ВИЧ-1 подтипа А1 принадлежат к варианту IDU-A (см. рис. 1), доминирующему в России, и распространяются как половым, так и инъекционным путем среди потребителей наркотиков.

Вариант вируса подтипа В, занимающий второе место по частоте встречаемости в анализируемых регионах, выявлен в 6% (8/132) случаев. По эпидемиологическим данным, заражение этих лиц произошло в результате как гетеросексуальных (3 случая), так и гомосексуальных (5 случаев) контактов.

По данным филогенетического анализа, пациенты, инфицированные вирусами рекомбинантной формы CRF02_AG, имеют тот же вариант ВИЧ-1, который циркулирует в странах Центральной Азии бывшего СССР [26]. Нетрудно предположить, что этот вирус попал в Архангельск и Мурманск вместе с мигрантами из этих государств.

Таким образом, несмотря на доминирование в исследу-

ванных регионах варианта IDU-A ВИЧ-1, генетический профиль ВИЧ-инфекции в северных портовых городах России достаточно разнообразен. Причины такого разнообразия, с одной стороны, могут определяться основным видом деятельности городов-портов Архангельска и Мурманска, однако в этих портах в отличие от дальневосточных крупных городов-портов РФ (Владивосток, Хабаровск) с большим пассажиропотоком не наблюдается столь активной миграции населения как внутри государства, так и из-за рубежа, что, вероятно, связано со специализацией и пропускной способностью северных портов. С другой стороны, как было сказано выше, в отдельных городах страны наблюдается увеличение частоты не-А-подтипов ВИЧ, связанное с миграцией населения в пределах России и бывшего СССР, а также заносом вариантов ВИЧ из других регионов мира. Иллюстрацией могут служить выявленные в нашем исследовании варианты вирусов подтипов С и D, частота встречаемости которых в России очень мала. По данным эпидемиологического расследования, пациент был инфицирован вариантом подтипа D ВИЧ-1 в результате гетеросексуального контакта в Уганде.

На сегодняшний день не-А-варианты не играют заметной роли в эпидемическом процессе на исследованных территориях, однако налицо достоверная тенденция к изменению прежде однообразного генетического ландшафта. По этой причине представляет интерес проведение молекулярно-эпидемиологических исследований ВИЧ-инфекции и в других крупных портовых городах России для изучения распространения вариантов ВИЧ-1 и их роли в эпидемическом процессе в этих регионах.

Полученные и анализированные нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank № KX432074-432139, KU557639-KU557648, KU933329- KU933340, KU670321-KU670329, KU645849-KU645883 (<http://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/search.html>).

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам ГУЗ «Мурманский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» и ГБУЗ АО «Архангельский клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» за сбор коллекции образцов.

Финансирование. Исследование выполнено с привлечением средств гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-00050).

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА (1–5, 8, 10–12, 14, 15, 17, 19, 21–24, 26 см. REFERENCES)

- Бобков А.Ф., Казеннова Е.В., Селимова Л.М., Ханина Т.А., Ладная Н.Н., Бобкова М.Р. и др. Молекулярно-вирусологические особенности эпидемии ВИЧ-инфекции в России и других странах СНГ. *Вестник Российской Академии медицинских наук.* 2003; (12): 83-5.
- Гришечкин А.Е., Казеннова Е.В., Суханова А.Л., Белых С.И., Султанов Л.В., Демьяненко Э.Р. и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции на территории Алтайского края. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2006; (1): 15-9.
- Богачев В.В., Тотменин А.В., Барышев П.Б., Мещерякова Ю.В., Черноусова Н.Я., Гашникова Н.М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1 субтипов А и В, выделенных на территории Новосибирской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2012; (6): 45-52.
- Казеннова Е.В., Бронникова А.В., Кузин С.Н., Кириллова И.Л.,

- Ершова О.Н., Афанасьева Л.Р. и др. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в г. Череповце Вологодской области: второй случай эпидемической вспышки, вызванной рекомбинантом gagAenvB. *Вопросы вирусологии*. 2008; 53(5): 23-7.
16. Лаповок И.А., Лага В.Ю., Казеннова Е.В., Васильев А.В., Дзисюк Н.В., Утегенова А.К. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-1 в Казахстане в 2009 – 2013 гг. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(4): 29-37.
18. Казеннова Е.В., Нешумаев Д.А., Рукавицин Д.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Ракчеева О.В. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии ВИЧ-инфекции в Благовещенске и Хабаровске (Дальний Восток России). *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(4): 31-6.
20. Лага В.Ю., Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Исмаилова А., Бейшеева Н. и др. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, распространенных на территории Киргизии. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57(5): 26-32.
25. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Васильев А.В., Бобкова М.Р. Естественные полиморфизмы гена *pol* варианта ВИЧ IDU-A. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2012; 4(4): 44-51.
- A, subtype B, and novel gagA/envB recombinants. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1998; 14(8): 669-76.
12. Smolskaya T., Liitsola K., Zetterberg V., Golovanova E., Kevlova N., Konovalova N., et al. HIV epidemiology in the Northwestern Federal District of Russia: dominance of HIV type 1 subtype A. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2006; 22(11): 1074-80.
13. Kazennova E.V., Bronnikova A.V., Kuzin S.N., Kirillova I.L., Ershova O.N., Afanas'eva L.R., et al. Molecular genetic characteristics of HIV-1 variants circulating in Cherepovets, Vologda region: the second case of the epidemic outbreak caused by the recombinant gagAenvB. *Voprosy virusologii*. 2008; 53(5): 23-7. (in Russian)
14. Gashnikova N.M., Bogachev V.V., Baryshev P.B., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Kazachinskaya A.G., et al. A rapid expansion of HIV-1 CRF63_02A1 among newly diagnosed HIV-infected individuals in the Tomsk Region, Russia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2015; 31(4): 456-60.
15. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Arch. Virol*. 2012; 157(12): 2335-41.
16. Lapovok I.A., Laga V.Yu., Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Dzisyuk N.V., Utegenova A.K., et al. Molecular epidemiological analysis of HIV-1 in Kazakhstan in 2009-2013. *Voprosy virusologii*. 2015; 60(4): 29-37. (in Russian)
17. Chen S., Cai W., He J., Vidal N., Lai C., Guo W., et al. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus type 1 in Guangdong province of Southern China. *PLoS One*. 2012; 7 (11): e48747.
18. Kazennova E.V., Neshumaev D.A., Rukavitsin D.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Rakcheeva O.V., et al. Molecular epidemiological analysis of the HIV infection in the Blagoveshchensk and Khabarovsk Area (Russian Far East). *Voprosy virusologii*. 2014; 59(4): 31-6. (in Russian)
19. Bobkov A.F., Lukashov V.V., Goudsmit J., Weber J.N. Silent mutation in the V3 region characteristic of HIV type 1 env subtype B strains from Injecting Drug Users in the Former Soviet Union. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2000; 16(3): 291-4.
20. Laga V.Yu., Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Lapovok I.A., Ismailova A., Beysheeva N., et al. Molecular genetic characterization of the HIV-1 variants abundant in Kirgiziia. *Voprosy virusologii*. 2012; 57(5): 26-32. (in Russian)
21. Riva C., Romano L., Saladini F., Lai A., Carr J.K., Francisci D., et al. Identification of a possible ancestor of the subtype A1 HIV Type 1 variant circulating in the former Soviet Union. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2008; 24(10): 1319-25.
22. Bennett D.E., Camacho R.J., Otelea D., Kuritzkes D.R., Fleury H., Kiuchi M., et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One*. 2009; 4(3): e4724.
23. Kolomeets A.N., Varghese V., Lemey P., Bobkova M.R., Shafer R.W. A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses. *AIDS*. 2014; 28(17): F1-8.
24. Hofstra L.M., Schmit J.C., Wensing A.M.J. Transmission of HIV-1 drug resistance. In: *Handbook of Antimicrobial Resistance*. New York: Springer Science – Business Media; 2015: 455-78.
25. Kazennova E.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Vasil'ev A.V., Bobkova M.R. Natural polymorphisms of HIV-1 IDU-A variant *pol* gene. *VICh-infektsiya i immunosupressii*. 2012; 4(4): 44-51. (in Russian)
26. Bobkova M. Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev*. 2015; 15(4): 204-12.

Поступила 01.12.16

Принята в печать 13.12.16