На правах рукописи

МАКСИМЕНКО ЛАДА ВЛАДИМИРОВНА

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВИЧ-1 В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ

1.5.10. Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Кольцово – 2025

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Научный руководитель:	**Гашникова Наталья Матвеевна** кандидат биологических наук, и.о. заведующей отделом ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
Официальные оппоненты:	**Бабкин Игорь Викторович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения наук Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук
	Соболев Иван Андреевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского института вирусологии структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»
Ведущая организация:	Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Защита состоится «18» июня 2025 г. в 9-00 на заседании диссертационного совета 64.1.001.1 при ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора по адресу: 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, тел. (383) 363-47-10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора http://www.vector.nsc.ru

Автореферат разослан « » _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук,
доцент Т.Н. Ильичева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. На сегодняшний день ВИЧ-инфекция остается одной из наиболее серьезных проблем в области здравоохранения и социальной сферы как в России, так и во всем мире. Согласно последним эпидемиологическим отчетам Всемирной организации здравоохранения, на конец 2023 года число лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), достигло 39,9 млн. В Российской Федерации на 31.12.2023 г. этот показатель составил 1 197 410 человек.

ВИЧ-1 характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия, существенный рост которого регистрируется в последнее десятилетие. Возникновение новых геновариантов ВИЧ-1 в разных странах мира происходит благодаря рекомбинационной изменчивости вируса. С 1983 г. и по настоящее время было выявлено и описано 10 основных субтипов, более 170 CRFs (циркулирующих рекомбинантных форм) и еще большее количество URFs (уникальных рекомбинантных форм) ВИЧ-1. В Африке, особенно в ее Западной и Центральной частях наблюдается наибольшее генетическое разнообразие ВИЧ-1, в то время как на других территориях циркулирует один или более генетических вариантов вируса. В России преобладает ВИЧ-1 под-субтипа A6, известного также как A_{FSU}, так как он также широко распространен в странах бывшего Советского Союза. В зависимости от региона РФ выявляемость циркулирующих ВИЧ-1 может варьировать в широких пределах. В европейской части государства доминирует ВИЧ-1 под-субтипа A6, в то время как в Сибири – CRF63_02A6, а в отдаленных регионах РФ, таких как Калининградская область и Приморский край, широко распространены URFs и ВИЧ-1 субтипа B соответственно. Несмотря на территориальную специфику эпидемии ВИЧ-инфекции на различных территориях страны субтип B и CRF63_02A6 ВИЧ-1 также выявляются, но их доля существенно ниже основного эпидемиологически значимого циркулирующего генетического варианта вируса на той или иной территории. На территории Российской Федерации также фиксируются случаи выявления редких генетических вариантов. В частности, в Сахалинской области был обнаружен CRF_06cpx ВИЧ-1, а субтипы C в г. Санкт-Петербург и Республике Саха. Так как изменение молекулярно-генетического разнообразия ВИЧ-1 непрерывный и динамичный процесс, то для правильной оценки текущего состояния эпидемии ВИЧ-инфекции на определенной территории необходимо регулярно проводить мониторинг циркулирующих ВИЧ-1.

В настоящее время ВИЧ-инфекция не является смертельным заболеванием благодаря созданию химиотерапевтических средств, подавляющих репликацию вируса. Снижение вирусной нагрузки у ВИЧ-инфицированного пациента во время приема антиретровирусных препаратов до уровня, который не могут определить современные тест-системы, позволяет продлить жизнь пациента и улучшить её качество, кроме того, снижается риск передачи вируса другим людям как при половом контакте, так и от матери к ребёнку во время беременности и родов. Однако рост числа ВИЧ-инфицированных, получающих антиретровирусную терапию (АРТ), может снизить ее эффективность из-за

появления и распространения мутаций лекарственной устойчивости.

Оценка текущей молекулярно-эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции и своевременный контроль за распространением устойчивых к АРТ вариантов ВИЧ-1 на отдельных территориях страны важны для понимания общей эпидемиологической ситуации и разработки эффективных мероприятий, направленных на снижение темпов развития эпидемии, поэтому актуальность проведения данного исследования не вызывает сомнений.

Цель исследования – изучение молекулярно-генетических особенностей ВИЧ-1, циркулирующих на территории Красноярского края.

Задачи исследования:

Задачи исследования:

1. Определить и проанализировать нуклеотидные последовательности фрагментов гена pol, кодирующих протеазу, часть обратной транскриптазы и интегразу ВИЧ-1, выявленных у ВИЧ-инфицированных жителей Красноярского края.

2. Описать генетическое разнообразие вариантов ВИЧ-1, выявленных на территории Красноярского края. Охарактеризовать специфику территориальной эпидемии.

3. Определить и проанализировать полногеномные нуклеотидные последовательности как основных, так и вновь возникающих генетических вариантов ВИЧ-1, выявленных у ВИЧ-инфицированных жителей Красноярского края.

4. Оценить распространенность мутаций, обуславливающих лекарственную устойчивость к АРТ среди пациентов, не имеющих опыта приема АРТ, в разные периоды времени.

5. Оценить распространенность мутаций, обуславливающих лекарственную устойчивость к АРТ среди пациентов с опытом приема АРТ, также провести анализ частоты встречаемости данных мутаций в зависимости от генетического варианта ВИЧ-1.

Научная новизна. Масштабное исследование, проведённое в период с 2017 по 2024 гг., позволило получить новые данные о распространении ВИЧ-1 в Красноярском крае. Исследование позволило выявить изменения в характере эпидемии и определить значительный вклад рекомбинантных форм ВИЧ-1 в распространение инфекции.

Впервые на основе анализа полных геномов различных URFs ВИЧ-1, выделенных от ВИЧ-инфицированных лиц Красноярского края, выявлены и описаны новые возникшие CRF133_A6B и CRF147_A6B ВИЧ-1, распространяющиеся среди лиц с рискованным поведением (лица, употребляющие инъекционные наркотики (ЛУИН) и их сексуальные партнеры).

Впервые для популяции ВИЧ-1, циркулирующих в Красноярском крае, были описаны мутации, связанные с развитием лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам. Выявлены мутации лекарственной устойчивости, характерные для ВИЧ-1 под-субтипа A6 и CRF63_02A6.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты, полученные в ходе выполнения настоящего исследования, дополняют имеющуюся информацию о молекулярно-генетических особенностях эпидемии ВИЧ-инфекции как на территории Сибирского Федерального округа (СФО), так и на территории Российской Федерации и подтверждают мировую тенденцию увеличения вклада рекомбинантных форм ВИЧ-1 в распространении ВИЧ-инфекции.

В клинической практике информация о выявленных мутациях лекарственной устойчивости ВИЧ-1 учитывалась инфекционистами при выборе наиболее эффективной схемы лечения как у пациентов, никогда не получавших АРТ, так и пациентов, кто уже имел опыт ее приема, была учтена врачами-инфекционистами при выборе наиболее эффективного режима лечения. На основе полученных данных о частоте встречаемости лекарственной устойчивости ВИЧ-1 были даны рекомендации о необходимости тестирования на мутации лекарственной устойчивости перед началом лечения. Также были даны рекомендации о смене первой линии терапии со схем лечения, основанных на ненуклеозидных ингибиторах обратной транскриптазы, на схемы, включающие ингибиторы интегразы.

В ходе исследования были расшифрованы 800 фрагментов гена *pol* ВИЧ-1, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы вируса (PR-RT), 343 фрагмента гена *pol* ВИЧ-1, кодирующего интегразу вируса (IN), 79 полногеномных нуклеотидных последовательностей (н.п.) ВИЧ-1 (NFLG), из них депонировано в международной базе данных GenBank: PR-RT – 443 н.п. (MK002482-MK002621; MW229129-MW229241; OP805383-OP805572), IN – 75 н.п. (MK002622-MK002696), NFLG – 13 н.п. (OP056069-OP056079, PQ308251-PQ308252).

Методология и методы исследования. Для выполнения диссертационной работы методологическая основа была спланирована в соответствии с поставленной целью исследования и задачами для ее достижения. В работе применялись современные молекулярно-биологические методы: выделение РНК и провирусной ДНК ВИЧ-1 из плазмы крови и лимфоцитов соответственно, ПЦР-амплификация (гнездовая/вложенная ПЦР) фрагментов вирусного генома; очистка продуктов ПЦР колоночным методом, секвенирование фрагментов вирусного генома по Сэнгеру, секвенирование всего генома ВИЧ-1 с использованием технологий NGS. Полученные данные были проанализированы с использованием современных биоинформатических методов: множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей, филогенетический, рекомбинационный, мутационный и статистический анализы. Визуализация данных была выполнена с использованием языка программирования R.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Современная эпидемия ВИЧ-инфекции на территории Красноярского края характеризуется увеличением генетического разнообразия циркулирующих ВИЧ-1 с течением времени.

2. Циркуляция разных генетических вариантов ВИЧ-1 в Красноярском крае среди ВИЧ-инфицированных лиц, практикующих рискованное поведение, привела к

образованию новых уникальных, а также циркулирующих (CRF133_A6B, CRF147_A6B) рекомбинантных форм вируса.

3. Зарегистрировано распространение ВИЧ-1 с прогнозируемой передаваемой лекарственной устойчивостью к двум препаратам класса ННИОТ (EFV, NVP) за счет широкого распространения мутации K103N.

4. Высокий уровень прогнозируемой приобретенной лекарственной устойчивости к НИОТ и ННИОТ обусловлен высокой частотой встречаемости мутаций M184V/I, K65R и G190S/A, K103N/S, Y181C/I/V соответственно. Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ННИОТ обладают субтип-специфичностью: K101E, Y181C, G190S – чаще выявляются у под-субтипа A6, а K103N и P225H – у CRF63_02A6.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым к научной специальности 1.5.10 «Вирусология» (биологические науки). Её содержание соответствует пунктам 4, 8 и 10 паспорта специальности.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов проведенного автором исследования обусловлена репрезентативным объемом выборки (800 человек), а также использованием современных молекулярно-биологических, биоинформатических и статистических методов исследования. Надежность и валидность полученных результатов была обеспечена величиной уровня значимости не более 0,05 (5,0%).

Апробация результатов. Тема диссертации утверждена на ученом совете ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора 3 октября 2022 г. Апробация диссертации состоялась 13 февраля 2025 г. на научном семинаре ФБУН ГНЦ ВБ Вектор (Протокол №122).

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 4 конференциях и конгрессах различного уровня: V Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням с международным участием (Новосибирск, 2018); V Международная конференция молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов «OpenBio» (Кольцово, 2018); IX Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням с международным участием 2023 (Санкт-Петербург, 2023); X Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 2023).

Декларация личного участия автора. Забор образцов крови у ВИЧ-инфицированных лиц, а также сбор эпидемиологических и клинических характеристик проводились сотрудниками Красноярского краевого центра профилактики и борьбы со СПИД. Обработка и анализ эпидемиологических и клинических данных были выполнены лично автором.

Выделение вирусной РНК и провирусной ДНК проводилось автором и совместно с сотрудниками отдела ретровирусов Л.Г. Готфрид и И.П. Осиповой. Проведение реакции обратной транскрипции, полимеразной цепной реакции (ПЦР), очистки продуктов амплификации, электрофоретической детекции, секвенирования, очистки продуктов

секвенирования проводились лично автором. Структуры специфических олигонуклеотидов для проведения ПЦР были разработаны сотрудником отдела ретровирусов А.В. Тотмениным.

Секвенирование методами Сэнгера и NGS проводилось сотрудниками отдела геномных исследований Б.С. Малышевым и Т.В. Трегубчак.

Депонирование нуклеотидных последовательностей в базу данных GenBank осуществлялось сотрудником отдела ретровирусов А.В. Тотмениным. Филогенетический и рекомбинационный анализы были проведены автором лично, а также совместно с сотрудниками отдела ретровирусов и теоретического отдела А.В. Тотмениным и М.В. Сивай. Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1 был выполнен автором.

Основные разделы диссертационной работы (написание обзора литературы, результатов и обсуждения, а также статистическая обработка полученных данных) были выполнены лично автором. Научные работы по результатам исследования были подготовлены самостоятельно или при непосредственном участии автора. Суммарное личное участие автора в работе составило не менее восьмидесяти процентов.

Общее руководство работой осуществлялось заведующей отделом ретровирусов, к.б.н. Н.М. Гашникова. Работа была выполнена в 2017-2024 гг.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликованы 18 научных работ, из них – 4 статьи, опубликованных в высокорейтинговых журналах, индексируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus, а также 14 тезисов в сборниках материалов всероссийских и международных конференций и конгрессов.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 202 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, а также списка литературы, состоящего из 279 источников, в том числе 32 отечественных и 247 зарубежных. Работа содержит 32 иллюстрации и 19 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследования. Образцы периферической крови были собраны сотрудниками Красноярского Краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД от ВИЧ-инфицированных лиц в период с сентября 2017 г. по апрель 2024 г. вне зависимости от демографических и клинических характеристик, даты постановки диагноза и опыта приема АРТ. Сбор эпидемиологических данных лиц, включенных в исследование, был проведен профессиональным эпидемиологом после их ознакомления с целью проводимой работы.

Процедура получения нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *pol* из клинического материала. Экстракцию РНК из плазмы крови проводили с использованием комплектов реагентов «РИБО-золь-С» и «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия), экстракцию провирусной ДНК из лимфоцитов проводили с использованием

комплекта реагентов «3361: для выделения ДНК из цельной крови» (DiaGene, Россия). Все этапы выделения выполнялись в соответствии с инструкциями производителей.

Амплификацию участков гена *pol*, кодирующего протеазу, часть обратной транскриптазы и интегразу ВИЧ-1 осуществляли in house методом. Смесь для первого раунда ОТ-ПЦР с РНК ВИЧ-1 содержала: лиофилизированную готовую реакционную смесь (ГРС) для ОТ-ПЦР (Вектор-Бест, Россия), прямой и обратный праймеры (ДНК-синтез, Россия) и РНК-матрицу; смесь для первого раунда ПЦР с ДНК ВИЧ-1 содержала: реакционную смесь БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (BioLabMix, Россия), в состав которой входят высокопроцессивная рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза с «горячим» стартом, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, ПЦР буфер и Mg^{2+}, прямой и обратный праймеры, деионизированную воду (BioLabMix, Россия) и ДНК-матрицу. Смесь для второго раунда ПЦР была идентичной как для РНК, так и для ДНК ВИЧ-1 и содержала те же реактивы, как и для первого раунда ПЦР с ДНК ВИЧ-1. Режим амплификации: 1 раунд (45ºС – 30 мин. (только для матрицы РНК ВИЧ-1), 95ºС – 4 мин., затем 35 циклов: 94ºС – 15 сек., 50ºС – 30 сек., 72ºС – 1 мин. * т.п.н., затем 72ºС – 4 мин., 4ºС – хранение), 2 раунд (95ºС – 4 мин., затем 3 цикла: 94ºС – 15 сек., оптимальная температура отжига праймеров ($t_{опт}$) + 5ºС – 30 сек., 72ºС – 1 мин. * т.п.н. + 10 сек., затем 30 циклов: 94ºС – 15 сек., $t_{опт}$ – 30 сек., 72ºС – 1 мин. * т.п.н., затем 72ºС – 4 мин., 4ºС – хранение).

Детекцию ПЦР-продуктов проводили с помощью горизонтального электрофореза в 1% агарозном геле. Визуализацию ПЦР-продуктов осуществляли с применением трансиллюминатора (Vilber, Франция).

Постановку реакции секвенирования осуществляли с использованием коммерческого набора BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (AppliedBiosystems, США). Режим секвенирования: 95ºС – 1 мин., затем 30 циклов: 95ºС – 10 сек., 50ºС – 10 сек., 60ºС – 2 мин. 30 сек. После реакции секвенирования проводили термическую обработку продуктов с использованием 2,2% SDS. Режим термической обработки: 98ºС – 5 мин., 25ºС – 10 мин.

Нуклеотидные последовательности редактировали в программе Sequencher 4.1 Software (GeneCodesCorporation, AnnArbor, MI, США), сравнивая с референсными последовательностями различных геновариантов ВИЧ-1, результатом чего являлась консенсусная нуклеотидная последовательность.

Процедура получения нуклеотидных последовательностей вирусного генома из клинического материала. Получение полноразмерных нуклеотидных последовательностей генома до 8627 п.н. (88,8% от всего генома вируса) осуществляли за счет синтезирования двух перекрывающихся фрагментов кДНК ВИЧ-1 (до 5,5 т.п.н.). Экстракцию РНК из плазмы крови проводили с использованием комплектов реагентов «РИБО-золь-С» и «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия). Все этапы выделения выполнялись в соответствии с инструкцией производителя.

Амплификацию нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 осуществляли in house методом. Смесь для первого раунда ОТ-ПЦР с РНК ВИЧ-1 содержала: 2× буфера для ОТ-

ПЦР-Экстра, в состав которой входят смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, ПЦР буфер и Mg^{2+}, БиоМастер Экстра-микс, содержащий RNAscribe RT ревертазу (модифицированная ОТ вируса лейкемии мышей (M-MuLV)), HS-Taq ДНК-полимеразу и Pfu ДНК-полимеразу, прямой и обратный праймеры, деионизированную воду и РНК-матрицу. Смесь для второго раунда содержала: БиоМастер LR HS-ПЦР (2×), прямой и обратный праймеры, деионизированную воду и кДНК, продукт первого раунда ПЦР. Режим амплификации: 1 раунд (45ºС – 30 мин., 93ºС – 5 мин., затем 30 циклов: 93ºС – 15 сек., $t_{опт}$ – 30 сек., 68ºС – 30 сек. * т.п.н., затем 68ºС – 15 мин., 4ºС – хранение), 2 раунд (93ºС – 5 мин., затем 30 циклов: 93ºС – 15 сек., $t_{опт}$ – 20 сек., 68ºС – 1 мин. * т.п.н., затем 68ºС – 4 мин., 4ºС – хранение).

Детекцию ПЦР-продуктов проводили с помощью горизонтального электрофореза в 0,75% агарозном геле. Визуализацию ПЦР-продуктов осуществляли с применением трансиллюминатора (Vilber, Франция).

Очистку амплифицированных ДНК-фрагментов проводили с использованием коммерческого набора для выделения ДНК из агарозных гелей и реакционных смесей с использованием микроцентрифужных колонок Cleanup S-Cap (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Результаты очистки оценивали с помощью электрофореза.

После проведения процедуры очистки вирус-специфичных фрагментов ДНК ВИЧ-1 пробы передавались для подготовки библиотек, секвенирования на платформе Illumina и сборке последовательностей генома вируса в ЦКП ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора.

Определение генетического варианта ВИЧ-1. Генотипирование ВИЧ-1 проводили с использованием автоматизированных инструментов для определения субтипов ВИЧ-1 REGA v3, COMET и программы рекомбинантной идентификации (RIP). Также определение геновариантa ВИЧ-1 было проведено с использованием филогенетического метода максимального правдоподобия с использованием IQTree v1.6.12 с референсными последовательностями ВИЧ-1, взятых из специализированной базы данных ВИЧ из Национальной Лаборатории Лос Аламос, множественное выравнивание для построения филогенетического дерева было выполнено и использованием алгоритмов MAFFT. Субтип ВИЧ-1 был присвоен, если исследуемая последовательность попадает в монофилетическую кладу с соответствующей референсной последовательностью субтипа с индексом поддержки ветви ≥90. Тот или иной геновариант ВИЧ-1 был присвоен, если три из четырех методов совпадали.

Определение мутаций лекарственной устойчивости. Мутации лекарственной устойчивости к четырем группам АРТ (ИП, НИОТ, ННИОТ и ИИ) были определены с использованием базы данных Стенфорда по лекарственной устойчивости ВИЧ (HIVdb Program: Mutations Analysis).

Рекомбинационный анализ полноразмерных последовательностей геномов ВИЧ-1. Полученные нуклеотидные последовательности анализировали с

использованием программ обнаружения рекомбинации jpHMM (локальная версия) и программного обеспечения Simplot 3.5.1 для идентификации точек рекомбинации.

Филогенетический анализ полноразмерных последовательностей геномов ВИЧ-1. Для филогенетического анализа полноразмерных последовательностей ВИЧ-1 использовали все доступные полноразмерные последовательности под-субтипа A6, субтипа B, CRF03_A6B и URF_A6B из стран Бывшего Советского Союза (FSU), а также референсные последовательности под-субтипа A6, субтипа B, CRF03_A6B, полученные из БД Лос Аламос. Филогенетический анализ проводили для каждого сгенерированного набора последовательностей с использованием метода максимального правдоподобия с помощью IQTree версии 1.6.12. Карты генома были визуализированы с использованием инструмента рисования рекомбинантных ВИЧ-1, точки рекомбинации были выражены в координатах HXB2 ВИЧ-1 (#K03455). Филогенетические деревья были визуализированы с использованием iTOL v6.

Статистический анализ данных и их визуализация. Статистический анализ данных был проведен с помощью языка программирования R (RStudio, Inc. Software, США), в работе были использованы следующие пакеты: dplyr, tidyR, forcats, lubridate, stringr и stringi. Категориальные данные представляли в виде абсолютных значений, для сравнения которых использовали критерий «хи-квадрат» (χ^2). Величина уровня значимости, принятая в работе (p, probability) составляла 0,05 (или 5,0 %), различия признавали значимыми при $p < 0,05$.

Визуализация данных была выполнена с применением языка программирования R, в работе были использованы следующие пакеты: ggplot2, ggdist, gghalves и patchwork.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняли участие 800 ВИЧ-инфицированных лиц, посещающих «Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД». Абсолютное большинство лиц (79,9%), вовлеченных в исследование, были жителями Красноярска, оставшиеся проживали в близлежащих населенных пунктах, таких как Ачинск, Емельяново и др. Основные характеристики пациентов, включенных в исследование, отражают основные тенденции характерные для ВИЧ-инфекции на территории Красноярского края. Так, соотношение женщин и мужчин составило 1:1,5, при этом доля вовлеченности женщин в эпидемический процесс выросла по сравнению с 2000-ыми годами. Рост вовлеченности женщин в эпидемию ВИЧ-инфекции повлиял на рост гетеросексуального пути передачи, доля которого составила 48,5% в текущем исследовании, что на 5% выше по сравнению с парентеральным путем передачи, что подтверждает распространение ВИЧ-инфекции в общей популяции. Заражение ВИЧ-инфекцией также происходило путем передачи вируса от матери к ребенку (2,5%) и гомосексуальных контактов (2,0%). Средний возраст ВИЧ-инфицированных лиц в исследуемой выборки составил 38,7 лет, при этом доля лиц активного трудоспособного возраста (18 – 49 лет) составила 89,3%.

Генетическое разнообразие ВИЧ-1. На первом этапе исследования для выявления и последующего детального анализа рекомбинантных форм ВИЧ-1 было проведено генотипирование расшифрованных фрагментов гена *pol*. Результаты анализа представлены на Рисунке 1.

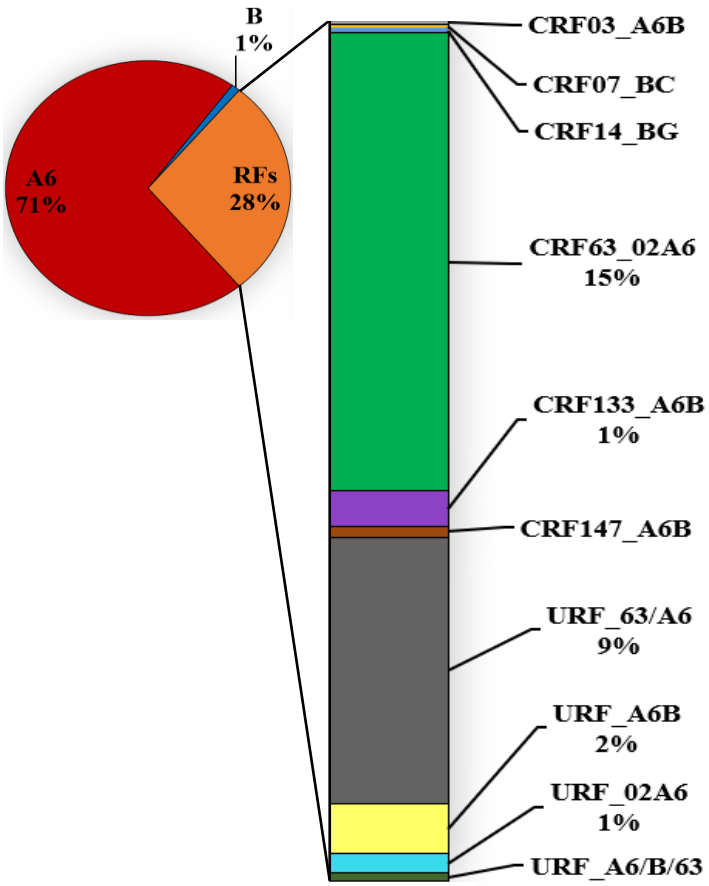

Рисунок 1 – Генетическое разнообразие ВИЧ-1, выделенных от лиц, проживающих на территории Красноярского края (2017 – 2024 гг.), где RFs – рекомбинантные формы ВИЧ-1, включая CRFs и URFs (циркулирующие и уникальные рекомбинантные формы)

Генотипирование исследуемых образцов показало, что под-субтип A6 ВИЧ-1, который является специфическим для Российской Федерации, доминирует на территории края, его доля составила 71,1%. Вторым по распространенности стал CRF63_02A6 ВИЧ-1, широко распространенный на территориях Сибирского Федерального округа, доля которого составила 14,9% за весь период исследования. Также в 1,1% были выявлены CRF133_A6B ВИЧ-1, а менее чем в 1% случаях выявлялись такие генетические варианты вируса как субтип B (8/800), CRF03_A6B (1/800), CRF07_BC (1/800), CRF14_BG (1/800) и CRF147_A6B (3/800). В 11,5% случаев были обнаружены различные URFs ВИЧ-1, которые возникли в результате рекомбинационных событий между ВИЧ-1 под-субтипа A6 и CRF63_02A6 (URF_63/A6, 8,6% (69/800)), под-субтипа A6 и субтипа B (URF_A6B, 1,6% (13/800)), под-субтипа A6 и CRF02_AG (URF_02A6, 0,6% (5/800)), а также между ВИЧ-1 под-субтипа A6, субтипа B и CRF63_02A6 (URF_A6/B/63, 0,3% (2/800)). Филогенетическое дерево, построенное для нуклеотидных последовательностей гена *pol*,

кодирующего PR-RT, приведено на Рисунке 2.

Анализ филогенетических кластеров (коэффициент поддержки ветви более 97) ВИЧ-1 показал, что 64 н.п., включенных в исследование, формируют четыре кластера по 4 (кластер №3), 15 (кластер №2), 20 (кластер №4) и 25 (кластер №1) н.п. Было обнаружено, что помимо образцов, полученных в ходе данного исследования, два кластера также включали в себя по 2-3 дополнительных последовательности ВИЧ-1, выделенных от жителей Красноярского края, но полученных другими исследовательскими группами под руководством М.Р. Бобковой и Д.Е. Киреева в 2014 и 2016 гг. соответственно. Общими клинико-эпидемиологическими характеристиками пациентов, у которых были выделены ВИЧ-1, из первого и второго кластеров, являлись место проживания: Красноярск для первого кластера, и Ачинск – для второго. Также, в обоих кластерах доминировал парентеральный путь передачи ВИЧ-инфекции (64% и 60% соответственно). В третьем кластере не было выявлено клинико-эпидемиологических закономерностей передачи вирусов, так как число ВИЧ-1, формирующих данный кластер, было небольшим. Сформировавшиеся кластеры указывают на то, что в крае присутствуют внутренние эпидемиологические сети передачи ВИЧ-инфекции, поэтому выявление и мониторинг таких кластеров, а также отслеживание лиц, эпидемиологически связанных с ЛЖВ, у которых были выделены ВИЧ-1, формирующих кластеры, может снизить распространение вируса в крае.

На следующем этапе исследования для более детального изучения организации генома рекомбинантных форм ВИЧ-1 методом NGS (next-generation sequencing или секвенирование нового поколения) были получены полноразмерные последовательности геномов вирусов для 79 образцов (9,6%). Были получены геномы «чистых» генетических вариантов ВИЧ-1 (под-субтип A6, субтип B, CRF63_02A6), а также некоторых RFs, в том числе и для 20 ВИЧ-1 из филогенетического кластера №4.

Результаты филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей полных геномов ВИЧ-1, представленного на Рисунке 3, показал, что 14 ВИЧ-1 из кластера №4 продолжают формировать отдельный кластер на филогенетическом дереве, что может говорить о том, что данные вирусы отличаются от описанных ранее. Но для того, чтобы ВИЧ-1 был классифицирован как CRF, они должны соответствовать следующим требованиям: 1) наличие двух и более полноразмерных последовательностей генома (от начала *Gag* до конца *Nef*), причем все эти последовательности должны быть выделены от эпидемиологически несвязанных пациентов; 2) картина рекомбинации всех последовательностей должна иметь одинаковую структуру; 3) все последовательности и их сегменты должны группироваться вместе на филогенетическом дереве, т.е. должны быть связаны. Если рекомбинантный вирус не соответствует этим критериям, он называется URF. Для подтверждения того, что исследуемые ВИЧ-1 являются новой CRF, был проведен рекомбинационный анализ.

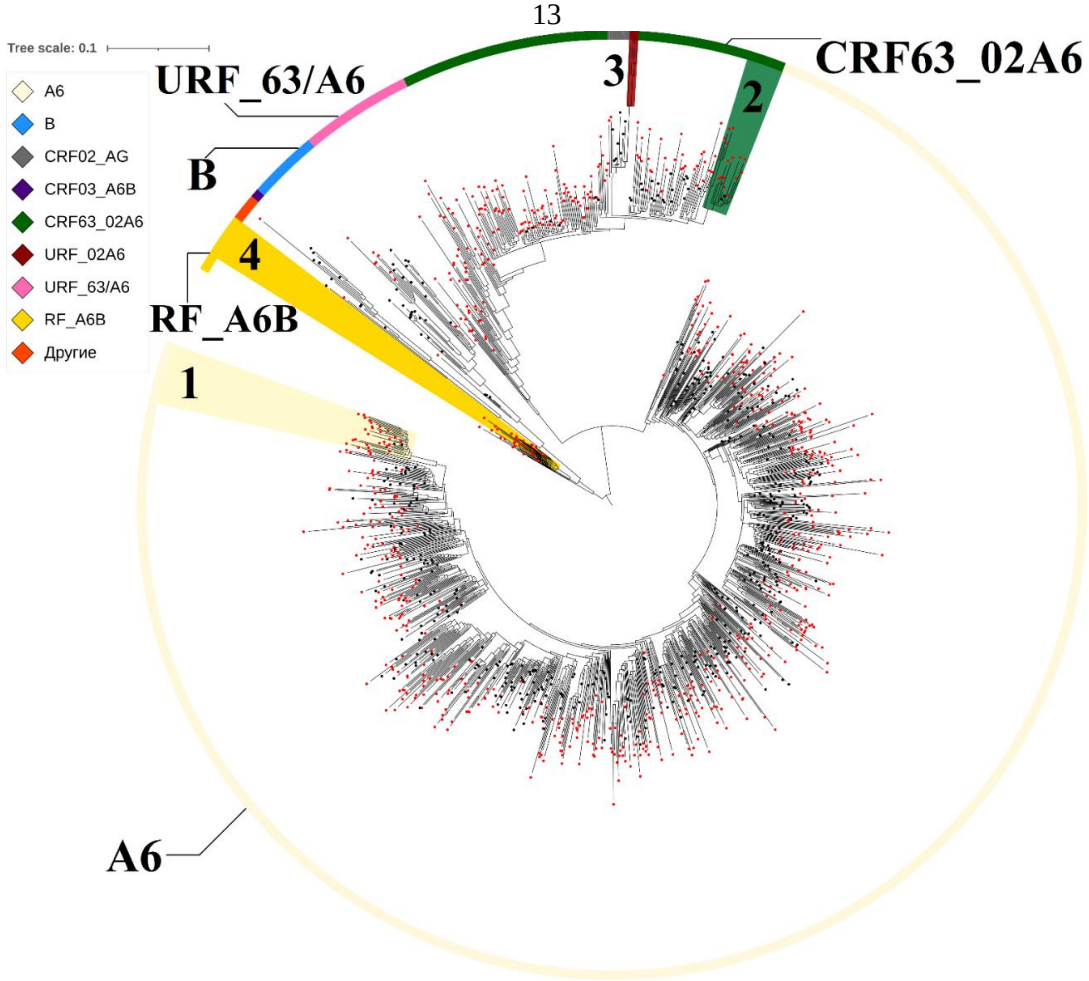

Рисунок 2 – Филогенетическое дерево фрагмента гена *pol* ВИЧ-1, кодирующего PR-RT вируса, выделенных от лиц, проживающих на территории Красноярского края. Примечание: филогенетическая клада RF_A6B включает в себя н.п., генотипированные как CRF133_A6B, CRF147_A6B, URF_A6B и URF_A6/B/63.

Рекомбинационный анализ, представленный на Рисунке 4, показал, что каждый из 14 ВИЧ-1 возник в результате рекомбинационных событий между ВИЧ-1 под-субтипа А6 и субтипа В, как и описанная в 1998 г. CRF03_A6B, однако картина рекомбинации вирусов, обнаруженных в ходе данной работы отлична. Так, 8 и 3 из этих ВИЧ-1 имели идентичную структуру генома и соответствовали всем требованиям для выделения этих ВИЧ-1 в новые CRFs. На основании проведенного анализа Национальная Лаборатория Лос Аламос присвоила им наименования CRF133_A6B и CRF147_A6B соответственно. Оставшиеся 3 н.п. отличались от новых CRFs количеством обнаруженных точек рекомбинации и были классифицированы как URF_A6B.

Для проверки рекомбинации и выявления связи исследуемых последовательностей был проведен филогенетический анализ для каждого субрегиона, представленный на Рисунке 5. Филогенетический анализ фрагментов I, III, V и VII CRF133_A6B ВИЧ-1 и I, III, V CRF147_A6B ВИЧ-1 подтвердил их принадлежность к под-субтипу А6. Данные фрагменты оказались наиболее тесно связаны с последовательностями под-субтипа А6, циркулирующими в России и странах бывшего СССР (Украине, Республике Беларусь и Кыргызской Республике).

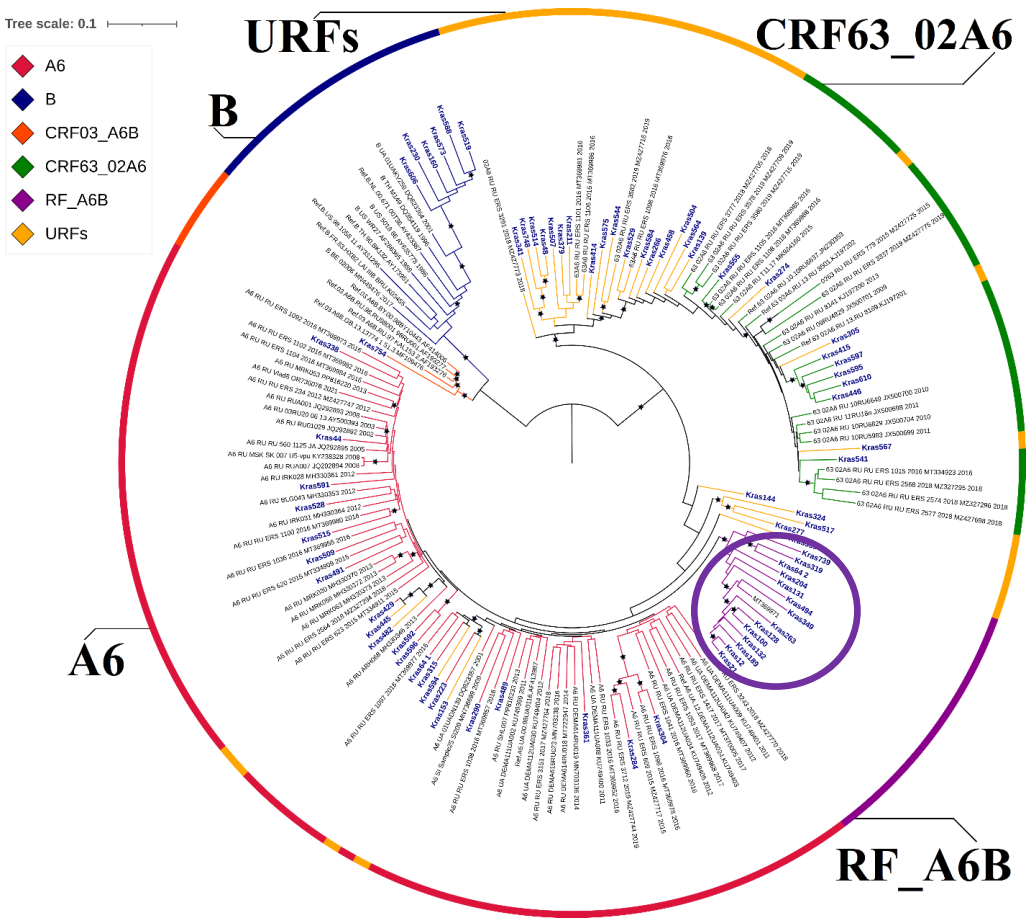

Рисунок 3 – Филогенетическое дерево всех полноразмерных последовательностей ВИЧ-1, полученных в ходе исследования. Примечание: последовательности, полученные в ходе настоящего исследования, выделены синим цветом, фиолетовым кругом выделены н.п. ВИЧ-1 из филогенетического кластера №4

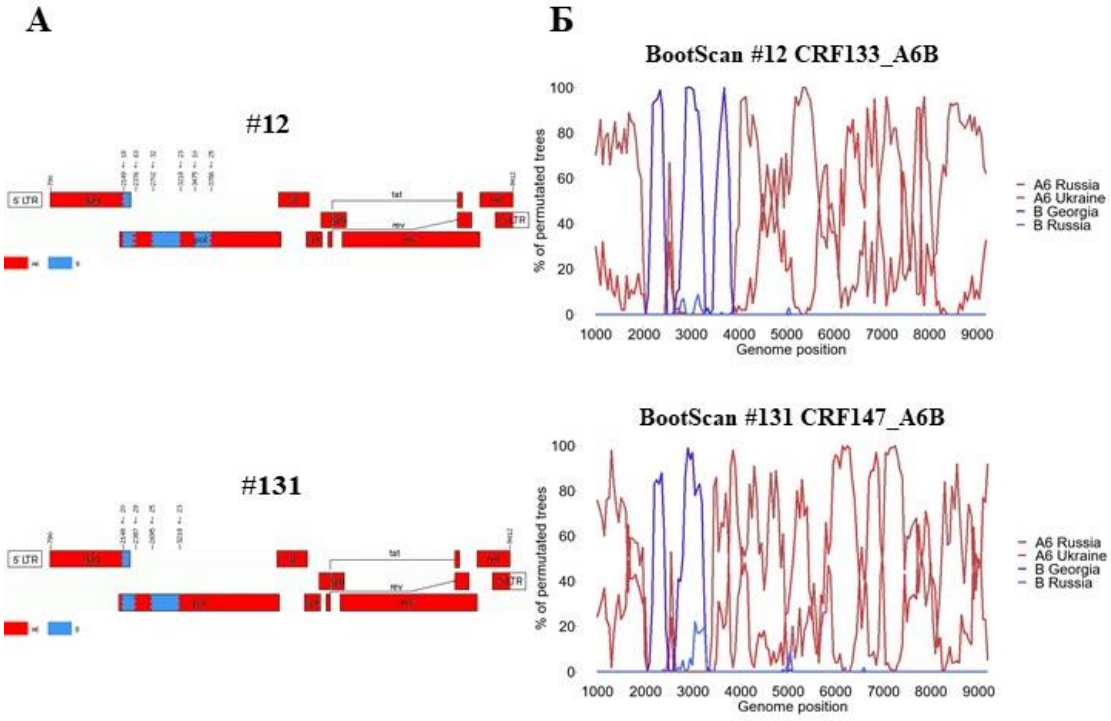

Рисунок 4 – Мозаичная структура геномов (А) и BootScan плоты (Б) новых рекомбинантов ВИЧ-1 A6B

Филогенетический анализ фрагментов II, IV и VI в CRF133_A6B ВИЧ-1 и II, IV в CRF147_A6B ВИЧ-1 показал их принадлежность к субтипу B. Так, фрагмент II в CRF133_A6B и CRF147_A6B ВИЧ-1 был связан с последовательностями субтипа B из России и стран бывшего СССР, в том числе и с 99GEMZ003 (DQ207943), выделенной в Грузии, который является родительским штаммом субтипа B в CRF03_A6B; фрагмент IV в CRF133_A6B и в CRF147_A6B ВИЧ-1, а также фрагмент VI в CRF133_A6B показали родство с областью субтипа B из CRF03_A6B ВИЧ-1, выделенных в России, Украине, Республике Беларусь и Кыргызской Республике. Анализ эпидемиологических характеристик ВИЧ-инфицированных лиц показал, что новые CRF133_A6B и CRF147_A6B распространяются среди группы лиц с поведением высокого риска (ЛУИН и их сексуальные партнеры).

Уникальные рекомбинантные формы ВИЧ-1, выявленные на территории Красноярского края. Генотипирование всех исследуемых ВИЧ-1 показало, что 11,5% (92/800) являются различными URFs: URF_63/A6, URF_A6B, URF_02A6 и URF_A6/B/63, которые были выделены в 8,6%, 2,0%, 0,6% и 0,3% соответственно, и для 43 из этих ВИЧ-1 были получены полноразмерные последовательности геномов. Рекомбинационный анализ выявленных URFs ВИЧ-1, включая выявленные CRF133_A6B и CRF147_A6B, представленный на Рисунке 6, показал, что в геноме вируса есть стабильные и неустойчивые к рекомбинации участки. К первым относится структурный ген *env*, а ко вторым – структурные гены *gag-pol* и регуляторные гены *vif-vpr-vpu* и *nef*. Аналогичные результаты были получены и другими исследовательскими группами, где сообщалось, что фрагмент гена *env* часто передается в интактной форме, при этом на 5’ и 3’-концах гена *env*, на границе с регуляторными генами *vif-vpr-vpu* и *nef*, наоборот, наблюдается высокий уровень рекомбинации. На других участках генома ВИЧ-1 не наблюдалось кратного увеличения/уменьшения частоты рекомбинации, т.е. она была практически равновероятна. Передача гена *env* в неизмененном виде может быть связана с тем, что gp120 и gp41, которые он кодирует, необходимы для проникновения вируса в клетку, а любые изменения на данном участке генома могут вызвать ограничения/нарушения в процессе инфицирования клетки-мишени, в результате чего репродукция рекомбинантных ВИЧ-1 будет ограничена.

Результаты анализа полногеномных последовательностей рекомбинантных форм ВИЧ-1 показали, что основная доля исследуемых ВИЧ-1 являются уникальными по своей структуре генома. Высокий процент выявления URFs ВИЧ-1, а также разнообразие их структур геномов указывают на случаи коинфекции ВИЧ-1, что приводит к увеличению генетического разнообразия ВИЧ-1 в Красноярском крае.

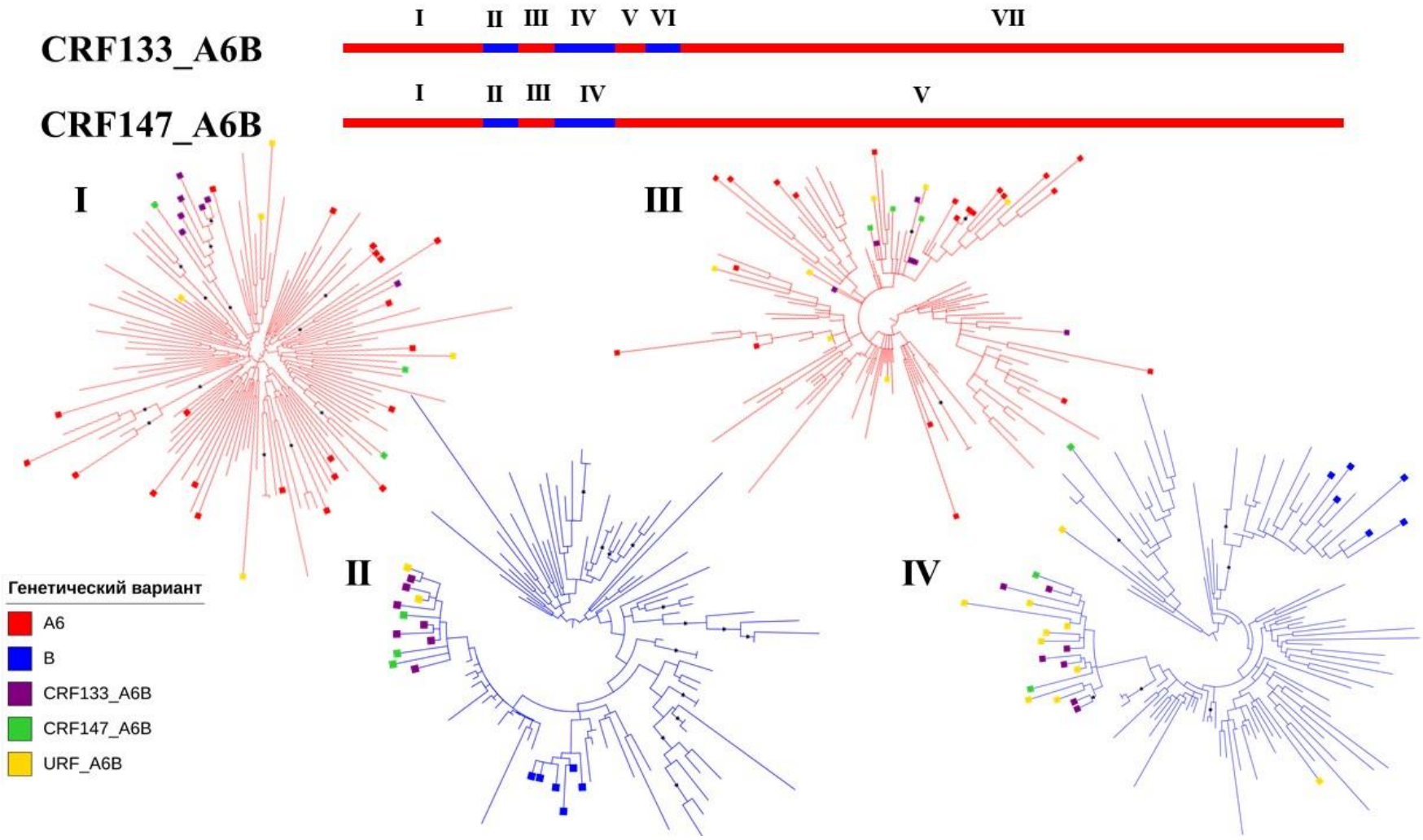

Рисунок 5 – Филогенетические деревья фрагментов I-IV CRF133_A6B и CRF147_A6B ВИЧ-1. Филогенетические деревья построены методом максимального правдоподобия, филогенетические ветви с коэффициентом поддержки 100 отмечены звездочкой. Ветви деревьев окрашены в соответствии с геновариантом фрагментов ВИЧ-1 (ветви фрагментов под-субтипа А6 окрашены красным, субтипа В – синим); последовательности ВИЧ-1, полученные в ходе исследования отмечены квадратом (цветовая маркировка легенды указывает на генетический вариант ВИЧ-1, определенного по полному геному)

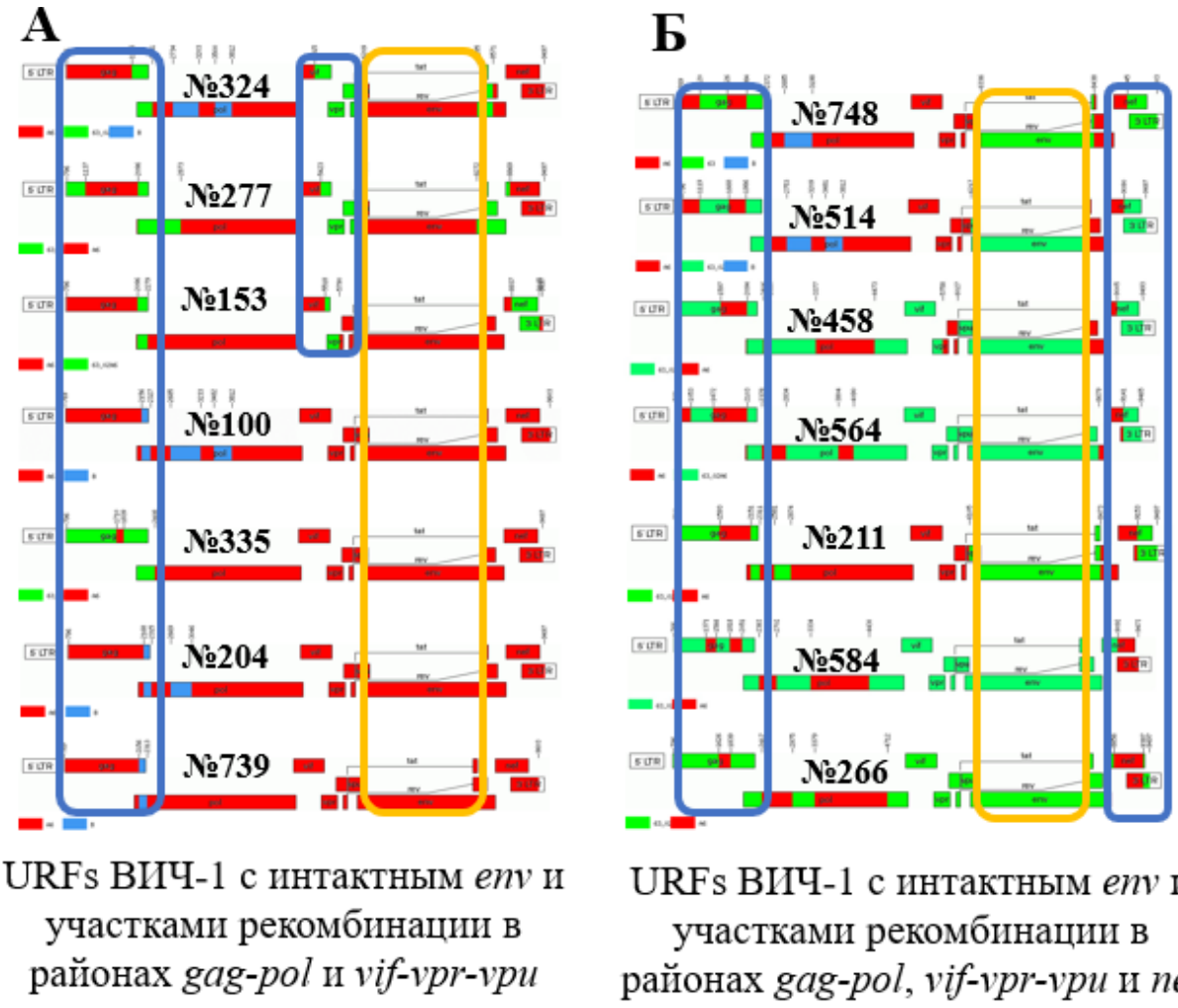

Рисунок 6 – Анализ паттернов рекомбинации. Желтым выделены интактные участки *env*, синим – участки рекомбинации в *gag-pol*, *vif-vpr-vpu* и *nef*. Цветовая кодировка в структуре геномов: красный – A6, синий – B, зеленый – CRF63_02A6, темно-желтый – CRF02_AG

Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов, не имеющих опыта приема антиретровирусной терапии. В исследуемой выборке 208 (26,0%) ВИЧ-инфицированных лиц не принимали АРТ на момент сбора клинических образцов крови. Для оценки распространенности передаваемых и приобретенных мутаций резистентности ВИЧ-1 к разным классам антиретровирусных препаратов (АРВП), в анализ были включены, как основные, так и надзорные мутации лекарственной устойчивости.

Распространенность мутаций передаваемой или первичной лекарственной устойчивости за весь период исследования составила 14,4% (30/208). В 5,8% случаев была выявлена мутация K103N (ННИОТ), в 2% – мутации M46I/L (ИП) и M184I/V (ННИОТ), дважды (1%) – M41L, D67E, L210W (НИОТ), P225H и M230L (ННИОТ), и единожды (0,5%) – K65R, L74I, T215S (НИОТ), K101E, Y181C, Y188L, G190A (ННИОТ), L24I, I47V, L76V, V82A (ИП), E138K и Q148K (ИИ) (Рисунок 7).

Мутация K103N по данным литературы является наиболее часто встречающейся среди наивных ВИЧ-инфицированных лиц, так как для ее возникновения достаточно

замены одного нуклеотида в триплете, при этом она не снижает жизнеспособности вируса, а также является устойчивой, т.е. в течение длительного времени не происходит возврата к «дикому» типу при отсутствии давления АРВП. Высокая распространенность данной мутаций может быть связана с ростом охвата АРТ, так как именно EFV, в ответ на прием которого происходит формирование мутации K103N, является препаратом первой линии в Красноярском крае.

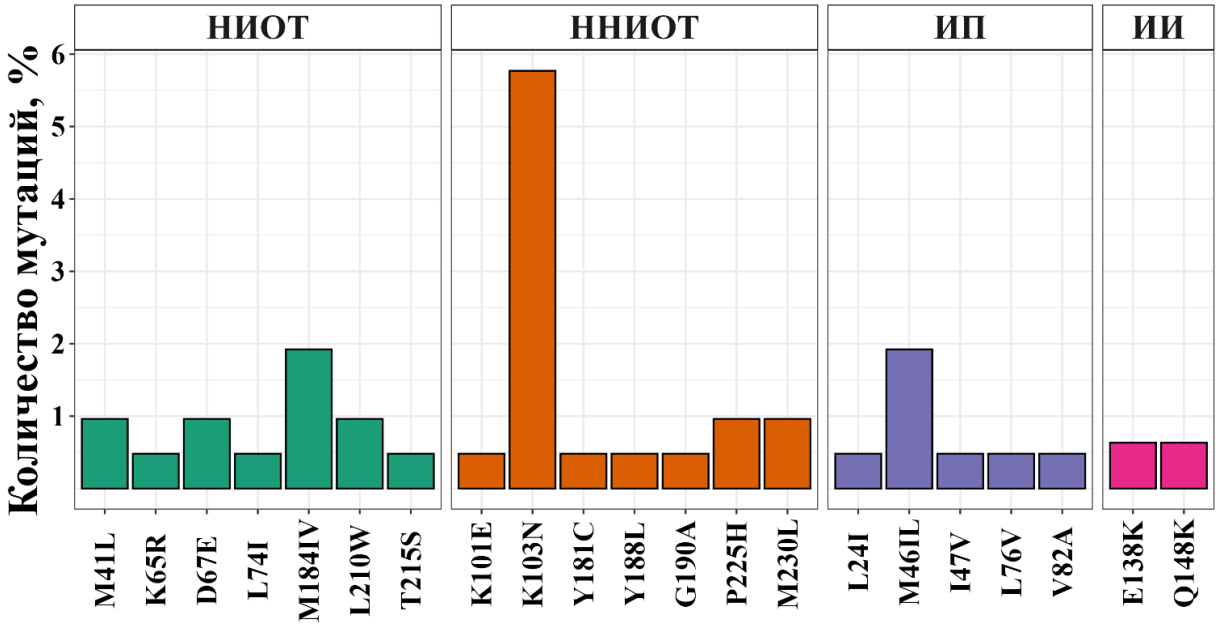

Рисунок 7 – Распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к АРВ-препаратам у наивных ВИЧ-инфицированных пациентов с ВИЧ-инфекцией, диагностированной. По оси X указаны мутации лекарственной устойчивости к соответствующим АРВП; по оси Y указано количество ВИЧ-инфицированных лиц (в %), у которых были обнаружены эти мутации

Также для пациентов, не имеющих опыта приема АРТ, был проведен анализ прогнозируемой лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам, результаты которого представлены на Рисунке 8. Так, наиболее высокий уровень невосприимчивости был обнаружен для NVP: у 9,2% пациентов были выделены ВИЧ-1, несущие мутации, обуславливающих высокий и средний уровень резистентности. Помимо этого, у значительного числа пациентов были выделены ВИЧ-1 с мутациями, определяющими высокий и средний уровень резистентности к EFV (7,2%), RPV (3,8%), к FTC и 3TC по 1,9%.

Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов с опытом приема антиретровирусной терапии. Основная доля лиц 592 (74,0%), включенных в исследование, имела опыт приема АРТ в среднем 3,6 года, в диапазоне от нескольких месяцев до 20 лет. Уровень распространённости приобретаемых или вторичных мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью ВИЧ-1 составил 64,5% в Красноярском крае. Среди мутаций резистентности к НИОТ чаще встречались мутации M184V/I (72,0%; n=275) и K65R (38,2%; n=146); к ННИОТ – G190S/A (39,5%; n=151), K103N/S (33,8%; n=129) и Y181C/I/V (29,1%; n=111). Мутации к ИП и ИИ встречались редко и не

превышали 1,8% (M46I/V; n=7) и 5,1% (E138K, Y143R/S; n=6) соответственно (Рисунок 9).

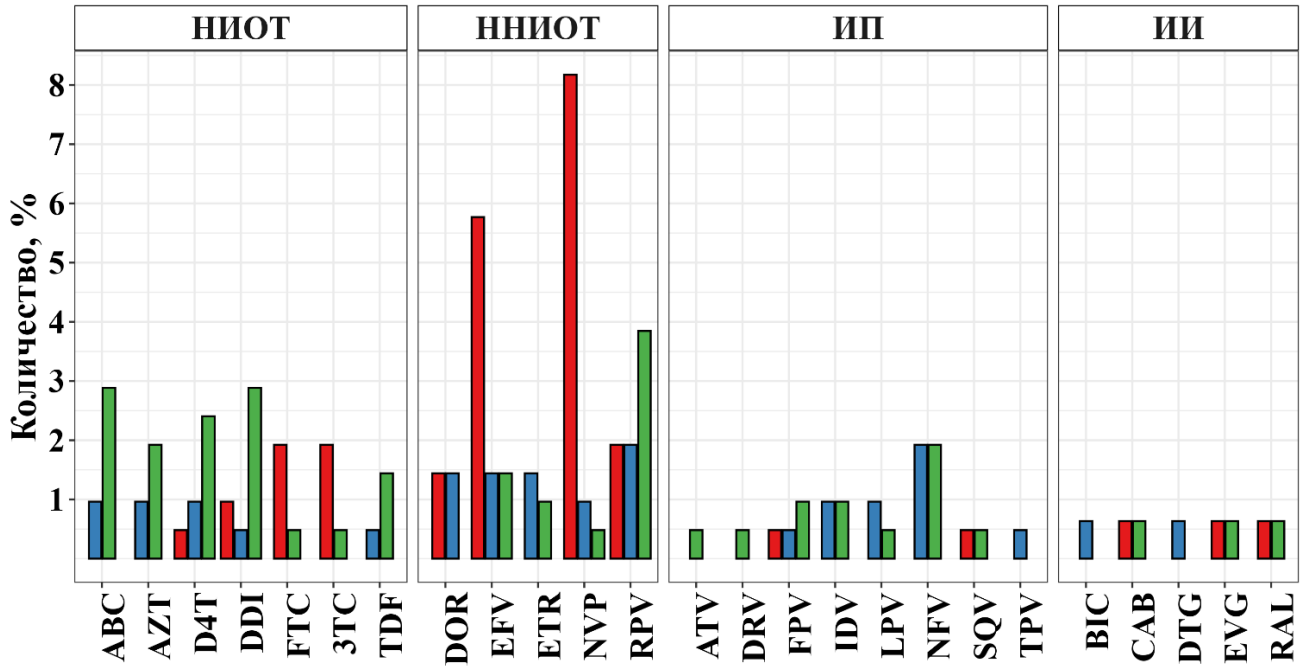

Рисунок 8 – Уровень прогнозируемой лекарственной устойчивости к АРВ-препаратам среди наивных пациентов. По оси X указаны сокращенные наименования АРВП; по оси Y указано количество ВИЧ-инфицированных лиц (в %), ВИЧ-1 которых обладают устойчивостью к АРВП. Цветовая кодировка столбцов описывает прогнозируемый уровень резистентности ВИЧ-1 к указанным препаратам в соответствии с легендой снизу, отсутствие столбца означает, что не было выделено вирусов, несущих мутации резистентности к АРВП

Анализ прогнозируемой лекарственной устойчивости вируса к назначаемым классам АРТ показал, что более 90% выделенных ВИЧ-1 имеют как минимум одну мутацию резистентности, обуславливающую снижение чувствительности вируса к НИОТ или ННИОТ, причем абсолютное большинство ВИЧ-1 несут мутации устойчивости как к НИОТ, так и к ННИОТ. Полученные данные являются следствием частого назначения данных классов АРВ-препаратов, поскольку они входят в первую линию лечения, а также тем, что ННИОТ являются препаратами с низким генетическим барьером и обладают широкой перекрестной резистентностью. Мутации лекарственной устойчивости к ИП или к ИИ, а также их сочетания с другими классами препаратов суммарно не превысили 10% (Таблица 1). Важно отметить, что ВИЧ-1, несущих мутаций, обуславливающих развитие лекарственной устойчивости сразу ко всем четырем группам АРТ обнаружено не было.

Анализ частоты встречаемости мутаций лекарственной устойчивости у пациентов с разными генетическими вариантами ВИЧ-1 был выполнен с использованием статистического критерия $\chi 2$, который показал, что у ВИЧ-1 под-субтипа A6 достоверно чаще, чем для других генетических вариантов вируса выявляются мутации G190S, Y181C и K101E, а у CRF63_02A6 ВИЧ-1 – K103N и P225H ($p\text{-value}<0.05$).

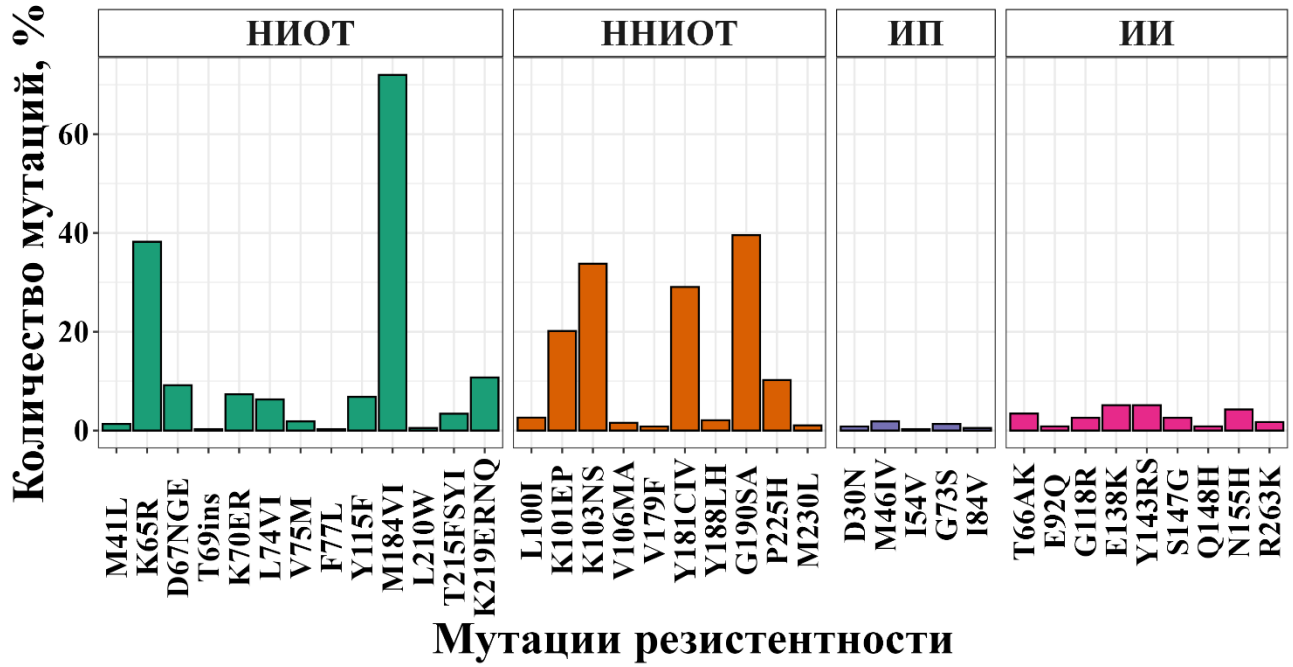

Рисунок 9 – Распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к АРВ-препаратам у леченых ВИЧ-инфицированных пациентов ($N_{pro-rev}$=382; N_{int}=117). По оси X указаны мутации лекарственной устойчивости к соответствующим классам АРТ; по оси Y указано количество (в %) ВИЧ-инфицированных лиц, у которых были обнаружены эти мутации

Таблица 1 – Частота развития мутаций резистентности к различным классам АРВ-препаратов у ВИЧ-инфицированных лиц, имеющих опыт приема АРТ и мутации лекарственной устойчивости к ним, N=382

Классы АРВ-препаратов	Количество вариантов ВИЧ-1	
	абс	%
НИОТ+ННИОТ	260	68,0
НИОТ	47	12,3
ННИОТ	39	10,2
НИОТ+ННИОТ+ИИ	9	2,4
НИОТ+ИИ	8	2,1
ИП	6	1,6
НИОТ+ИП	5	1,3
ИИ	4	1,0
НИОТ+ННИОТ+ИП	3	0,8
ННИОТ+ИП	1	0,3

Анализ прогнозируемой лекарственной устойчивости вируса к АРВ-препаратам показал, что ВИЧ-1 обладает наиболее высоким уровнем устойчивости к ингибиторам обратной транскриптазы. Так, ВИЧ-1 с мутациями резистентности, обуславливающими лекарственную устойчивость разного уровня к FTC и 3TC, были выделены от 84,0% (n=321) пациентов, а к NVP, EFV и RPV от 88,5% (n=339), 85,34% (n=326) и 71,9% (n=275)

пациентов соответственно. К препаратам класса ИИ чаще всего регистрировалась устойчивость разных уровней к RAL и к EVG в 21,4% (n=25). К препаратам класса ИП наиболее часто встречалась лекарственная устойчивость разного уровня к NFV в 5,5% (n=21). (Рисунок 10).

Результаты проведенного исследования по распространенности мутаций лекарственной устойчивости дополняют данные, полученные при изучении ВИЧ-1 на других территориях России и в мире.

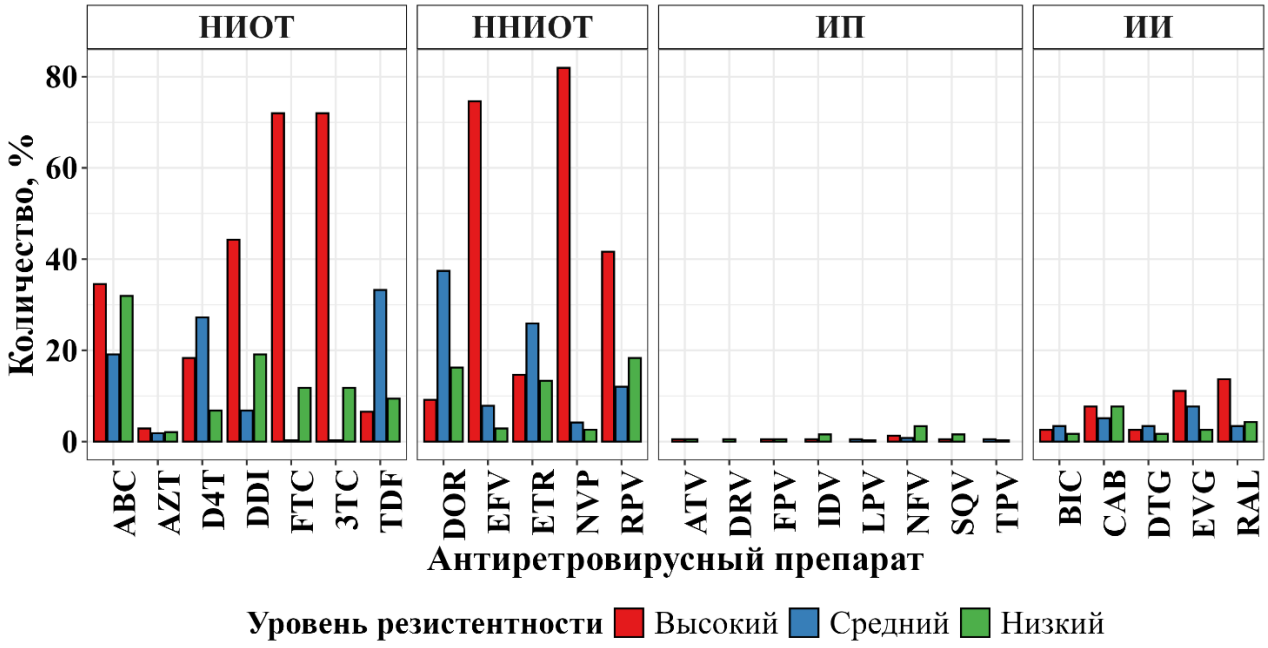

Рисунок 10 – Уровень прогнозируемой лекарственной устойчивости к АРВ-препаратам среди пациентов ($N_{pro\text{-}rev}$=382; N_{int}=117) с приобретенными мутациями резистентности ВИЧ-1. По оси X указаны сокращенные наименования АРВП; по оси Y указано количество (в %) ВИЧ-инфицированных лиц, ВИЧ-1 которых обладают устойчивостью к АРВП. Цветовая кодировка столбцов описывает прогнозируемый уровень резистентности ВИЧ-1 к указанным препаратам в соответствии с легендой снизу, отсутствие столбца означает, что не было выделено вирусов, несущих мутации резистентности к АРВП

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, дополняют страновые и мировые тенденции, связанные с увеличением вклада рекомбинантных форм вируса в эпидемию ВИЧ-инфекции. Было показано, что с 2010 г. произошли существенные изменения в составе вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Красноярском крае: распространение ВИЧ-1 под-субтипа А6 снизилось с 92,5% до 71,1%, а доля рекомбинантных форм выросла, так, CRFs ВИЧ-1 были выявлены в 16,8%, а URFs – 11,1%. Впервые были выявлены и описаны CRF133_A6B и CRF147_A6B ВИЧ-1, возникшие в результате рекомбинационных событий между ВИЧ-1 под-субтипа А6 и субтипа В. Анализ точек рекомбинации в геномах рекомбинантных форм ВИЧ-1 дополнил существующие данные о наличии предпочтительных мест рекомбинации в

геноме вируса.

Анализ лекарственной устойчивости показал, что на территории края уровень передаваемой лекарственной устойчивости составил 14,4%, а приобретенной – 64,5%. Высокий уровень распространения вариантов ВИЧ-1, несущих мутации лекарственной устойчивости, оказывает негативное влияние на снижение темпов эпидемии ВИЧ-инфекции в регионе. Кроме этого, была выявлена связь между определенными генетическими вариантами ВИЧ-1 и выявлением мутаций лекарственной устойчивости к АРТ, так, мутации G190S, Y181C и K101E чаще встречались у ВИЧ-1 под-субтипа A6, а K103N и P225H – у CRF63_02A6 ВИЧ-1.

ВЫВОДЫ

1. Молекулярно-генетический анализ ВИЧ-1, выполненный в Красноярском крае в период с 2017 по 2024 гг., показал, что в крае происходит снижение распространения ВИЧ-1 под-субтипа A6 и увеличение доли рекомбинантных форм ВИЧ-1. Суммарно распределение циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 в регионе составило: A6 – 71,1%, B – 1%, CRF63_02A6 – 14,9%, CRF133_A6B – 1,1%, URF_63/A6 – 8,6%, URF_A6B – 1,6%, менее чем в 1% случаях были выявлены: CRF03_A6B, CRF07_BC, CRF14_BG, CRF147_A6B, URF_02A6, URF_A6/B/63.

2. Филогенетический анализ циркулирующих ВИЧ-1 выявил внутренние эпидемиологические сети передачи ВИЧ-инфекции, указывающие на распространение ВИЧ-1 среди лиц, практикующих рискованное поведение, а именно, потребители инъекционных наркотиков и их сексуальные партнеры, что привело к образованию новых генетических вариантов ВИЧ-1.

3. Анализ полногеномных нуклеотидных последовательностей впервые выявленных рекомбинантных форм ВИЧ-1 показал, что 75,6% описанных вирусов имеют уникальную структуру генома, что указывает на происхождение этих ВИЧ-1 в результате независимых рекомбинационных событий. Оставшиеся ВИЧ-1 были описаны как новые циркулирующие рекомбинантные формы ВИЧ-1 (CRF133_A6B и CRF147_A6B), включенные в список существующих циркулирующих рекомбинантных форм Национальной лаборатории Лос Аламос.

4. Уровень прогнозируемой передаваемой лекарственной устойчивости ВИЧ-1 составляет 14,4%. Среди передаваемых мутаций резистентности преобладает мутация K103N, снижающая чувствительность вируса к EFV и NVP.

5. Уровень прогнозируемой приобретенной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 составляет 64,5%. Чаще всего мутации лекарственной устойчивости формируются в ответ на прием ингибиторов обратной транскриптазы: НИОТ (12,3%), ННИОТ (10,2%), НИОТ и ННИОТ (68,0%). Среди мутаций резистентности к НИОТ с большей частотой выявляются мутации M184V/I (72,0%) и K65R (38,2%); к ННИОТ – G190S/A (39,5%), K103N/S (33,8%) и Y181C/I/V (29,1%). Показано, что частота встречаемости мутаций лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам зависит от генетического

варианта ВИЧ-1: среди ВИЧ-1 под-субтипа A6 чаще выявляются мутации K101E, Y181C и G190S, а среди CRF63_02A6 ВИЧ-1 – K103N и P225H.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенного исследования показывают, что для стабилизации ситуации по ВИЧ-инфекции в Красноярском крае следует:

1. Проводить регулярный мониторинг за циркулирующими ВИЧ-1 с целью своевременного выявления эпидемических путей передачи ВИЧ-1 и разработки эффективных программ профилактики, а также для поиска новых возникающих генетических вариантов ВИЧ-1.
2. Проводить оценку уровня лекарственной устойчивости среди впервые выявленных ВИЧ-инфицированных лиц перед назначением АРТ.
3. Скорректировать рекомендации по терапии ВИЧ-инфекции: выбирать антиретровирусные препараты с высоким генетическим барьером для снижения возникновения резистентности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРАТЦИИ

Статьи

1. **Maksimenko L. V.** Genetic Diversity of HIV-1 in Krasnoyarsk Krai: Area with High Levels of HIV-1 Recombination in Russia. / L.V. Maksimenko, A.V. Totmenin M.P. Gashnikova, E.M. Astakhova, S.E. Skudarnov, T.S. Ostapova, S.V. Yaschenko, I.O. Meshkov, E.F. Bocharov, R.A. Maksyutov, N.M. Gashnikova // BioMed Research international. – 2020. – V. 2020, № 1. – P. 9057541. https://doi.org/10.1155/2020/9057541.
2. **Maksimenko L. V.** Novel HIV-1 recombinant form A6/B (CRF133_A6B and URF_A6/B) circulating in Krasnoyarsk region, Russia. / L.V. Maksimenko, M.V. Sivay, A.V. Totmenin, A.N. Shvalov, S.E. Skudarnov, T.S. Ostapova, S.V. Yaschenko, R.A. Maksutov, N.M. Gashnikova // Journal of Infection. – 2022. – V. 85, № 6. – P. 702-769. doi: 10.1016/j.jinf.2022.10.001.
3. Sivay M.V. HIV drug resistance among patients experiencing antiretroviral therapy failure in Russia, 2019–2021. / M.V. Sivay, **L.V. Maksimenko**, T.M. Nalimova, A.A. Nefedova, I.P. Osipova, N.P. Kriklivaya, M.P. Gashnikova, V.E. Ekushov, A.V. Totmenin, D.V. Kapustin, L.L. Pozdnyakova, S.E. Skudarnov, T.S. Ostapova, S.V. Yaschenko, O.I. Nazarova, V.V. Shevchenko, E.A. Ilyina, O.A. Novikova, A.P. Agafonov, N.M. Gashnikova // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2024. – V. 63, №2. – P. 107074. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.107074.
4. **Maksimenko L. V.** Expanding HIV-1 diversity in Russia: Novel circulating recombinant form between subtypes A6 and B (CRF147_A6B) / L.V. Maksimenko, M.V. Sivay, M.E. Antonets, T.V. Tregubchak, A.V. Totmenin, S.E. Skudarnov, T.S. Ostapova, S.V. Yaschenko, A.P. Agafonov, N.M. Gashnikova // Journal of Infection. – 2024. – V. 89, №5. – P.106308. doi: 10.1016/j.jinf.2024.106308

Тезисы

1. **Максименко Л.В.** Молекулярно-эпидемиологический анализ современной ситуации по распространению ВИЧ-инфекции в Красноярском крае / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, М.П. Гашникова, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы V конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням с международным участием. – Новосибирск, 16-18 мая 2018 г. – С. 73.

2. **Максименко Л.В.** Генетическая гетерогенность ВИЧ-1 в Красноярском крае: горячая территория рекомбинации вирус / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы V международной конференции молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов «OpenBio». – Кольцово, 23-25 октября 2018 г. – С. 183-186.

3. **Максименко Л.В.** Анализ распространения на территории Красноярского края вариантов ВИЧ-1, резистентных к антиретровирусным препаратам / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы». – Москва, 1-3 апреля 2019 г. – С. 120.

4. **Максименко Л.В.** Исследование первичной и развивающейся в ответ на терапию резистентности вариантов ВИЧ-1, выделенных на территории Красноярского края / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, М.П. Гашникова, А.В. Тотменин, Е.М. Астахова, Н.М. Гашникова // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции». – Санкт-Петербург, 10-11 июня 2019 г. – С. 297-298.

5. Гашникова Н.М. Субтип-специфические различия в развитии резистентности ВИЧ-1, выявленные при анализе ВИЧ-1 в случаях с неэффективной АРВТ у жителей Красноярского края и Новосибирской области / Н.М. Гашникова, **Л.В. Максименко**, Т.М. Налимова, В.Е. Екушов, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, М.В. Воротова, М.П. Гашникова, Ф.О. Мирджамалова, Е.Ф. Бочаров, А.В. Тотменин, Д.В. Капустин // Материалы международной конференции «Эпидемиологическое благополучие». – Москва, 20-21 апреля 2021 г. – С. 53-55.

6. **Максименко Л.В.** Исследование резистентности ВИЧ-1, развивающейся в ответ на терапию, выделенных у жителей Красноярского края / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, М.П. Гашникова, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы XIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: текущие и будущие угрозы». – Москва, 26-28 мая 2021 г. – С. 104.

7. **Максименко Л.В.** Резистентность ВИЧ-1 среди жителей Красноярского края, имеющих вирусологическую неэффективность антиретровирусной терапии / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, М.П. Гашникова, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы XIV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в

современном мире: текущие и будущие угрозы». – Москва, 28-30 марта 2022 г. – С. 107-108.

8. **Максименко Л.В.** Сравнительный анализ развития резистентности ВИЧ-1 в случаях неэффективной АРТ жителей Красноярского края в 2017-2021 гг. / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, Н.М. Гашникова // Материалы конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» – Москва, 27-28 апреля 2022 г. – С. 86-87.

9. **Максименко Л.В.** Новые генетические варианты ВИЧ-1, распространяющиеся на территории Красноярского края / Л.В. Максименко, А.В. Тотменин, А.Н. Швалов, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, Н.М. Гашникова // Материалы VIII Конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням – Москва, 17-19 мая 2022 г. – С. 72.

10. Налимова Т.М. Распространение лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди ВИЧ-инфицированных детей Новосибирской области, Алтайского и Красноярского края / Т.М. Налимова, В.Е. Екушов, **Л.В. Максименко**, Д.В. Капустин, М.В. Воротова, Л.Л. Позднякова, В.В. Шевченко, Е.А. Ильина, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Охрана здоровья матери и ребенка». – Санкт-Петербург, 12-13 сентября 2022 г. – С.142-143.

11. **Максименко Л.В.** Новый генетический вариант CRF133_A6/B ВИЧ-1, выявленный на территории Красноярского края / Л.В. Максименко, М.В. Сивай, А.В. Тотменин, А.Н. Швалов, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, Н.М. Гашникова // Материалы научной конференции молодых ученых «OpenBio». – Кольцово, 27-30 сентября 2022 г. – С. 428-429.

12. Крикливая Н.П. Развитие резистентности ВИЧ-1 к ингибиторам интегразы вируса среди инфицированных жителей Новосибирской области, Алтайского и Красноярского края // Н.П. Крикливая, **Л.В. Максименко**, И.П. Осипова, Л.Г. Готфрид, А.В. Тотменин, Д.В. Капустин, Л.Л. Позднякова, В.В. Шевченко, Е.А. Ильина, М.С. Бадин, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, Н.М. Гашникова // Материалы VIII Санкт-Петербургского форума по ВИЧ-инфекции с международным участием. – Санкт-Петербург, 5-6 октября 2023 г. – С. 90-91.

13. **Максименко Л.В.** Молекулярно-эпидемиологические особенности распространения ВИЧ-1, выделенных от жителей Красноярского края / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы Гомельского международного конгресса «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология». – Гомель, 13-14 сентября 2023 г. – С. 100-101.

14. **Максименко Л.В.** Резистентность ВИЧ-1 среди жителей Красноярского края, имеющих вирусологическую неэффективность антиретровирусной терапии / Л.В. Максименко, С.Е. Скударнов, Т.С. Остапова, С.В. Ященко, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова // Материалы Гомельского международного конгресса «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология». – Гомель, 13-14 сентября 2023 г. – С. 99-100.