

ЛЕКАРСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫЕ ВАРИАНТЫ ВГС СУБТИПА 1В, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ: АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНЫХ МУТАЦИЙ В БЕЛКАХ NS5A И CORE

В.С. Кичатова^{1,2}, А.А. Карлсен^{1,2}, О.В. Исаева^{1,2}, С.А. Солонин³, Е.Ю. Малинникова^{1,2}, К.К. Кюрегян^{1,2}, М.И. Михайлов^{1,2}

¹ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия

Drug resistant variants of hepatitis C virus genotype 1b in Russia: analysis of aminoacid substitutions in NS5a and core proteins

V.S. Kichatova^{1,2}, A.A. Karlsen^{1,2}, O.V. Isaeva^{1,2}, S.A. Solonin³, E.Yu. Malinnikova^{1,2}, K.K. Kyuregyan^{1,2}, M.I. Mikhailov^{1,2}

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

² Research Institute for Vaccines and Sera named after I.I. Mechnikov, Moscow, Russia

³ Research Institute for Emergency Medicine named after N.V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Резюме

Цель: определение распространенности штаммов вируса гепатита С субтипа 1b (ВГС-1b) на территории Российской Федерации, несущих аминокислотные мутации в белках NS5a и core, ассоциированные с лекарственной резистентностью к ингибиторам NS5a и препаратам интерферона соответственно.

Материалы и методы: определение нуклеотидной последовательности белка NS5a (n=93), а также белка core (n=30) ВГС-1b проводилось методом прямого секвенирования амплифицированных фрагментов генома. Поиск мутаций, ассоциированных с лекарственной резистентностью, проводился в аминокислотных позициях 28, 29, 30, 31, 32, 58, 62, 92, 93 белка NS5a и аминокислотных позициях 70 и 91 белка core ВГС-1b.

Результаты: 22,6% (21/93) исследованных изолятов ВГС-1b несли мутации, ассоциированные с лекарственной резистентностью к ингибиторам NS5a. В 10,8% последовательностей были выявлены замены L31M и Y93H, связанные с устойчивостью к большинству ингибиторов NS5a, а также менее значимые с клинической точки зрения замены L28M, R30Q, P58S/T, A92T. Доля лиц, инфицированных штаммами ВГС-1b, потенциально резистентными одновременно к препаратам интерферона и ингибиторам NS5a, составила 10% (10/30).

Заключение: полученные данные свидетельствуют в пользу целесообразности предварительного исследования профиля резистентности ВГС-1b перед назначением терапии для предотвращения выбора заведомо неэффективного препарата.

Ключевые слова: вирус гепатита С, лекарственная устойчивость, RAS, генетический полиморфизм.

Abstract

Aim. To determine the prevalence of amino acid substitutions in hepatitis C virus NS5a and core proteins which are associated with resistance to direct-acting antivirals and interferon in genotype 1b (HCV-1b) strains circulating in Russia.

Materials and methods. Nucleotide sequences of NS5a (n=93) and core (n=30) of HCV-1b were obtained using direct sequencing of respective amplified genome fragments. The search for resistance associated substitutions was performed for amino acid positions 28, 29, 30, 31, 32, 58, 62, 92, 93 of NS5a, and 70 and 91 amino acid positions of core proteins, respectively.

Results. The total proportion of HCV-1b strains carrying resistance associated substitutions in NS5a was 22,6% (21/93). The total detection rate of L31M and Y93H substitutions that are associated with resistance to the majority of NS5a inhibitors was 10,8%. Less clinically significant substitutions L28M, R30Q, P58S/T, A92T were detected too. The proportion of infections caused by HCV-1b strains that are potentially resistant both to interferon and NS5a inhibitors was 10% (10/30).

Conclusion. Testing of HCV-1b infected patients for background resistance profile could be a useful tool to prevent the choosing of initially ineffective treatment regimen.

Key words: Hepatitis C virus (HCV), drug resistance, RAS, genetic polymorphism.

Введение

Вирус гепатита С (ВГС) – социально значимая инфекция, для которой отсутствует специфическая иммунопрофилактика. Благодаря препаратам прямого действия (ППД) последнего поколения, при лечении пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) удается достичь устойчивого вирусологического ответа (УВО) более чем в 95% случаев [1].

Неудачи терапии, по-видимому, обусловлены сочетанием нескольких неблагоприятных факторов, одним из которых является феномен лекарственной резистентности ВГС. Анализ Европейской базы данных по резистентности к ППД продемонстрировал, что в 83% случаев отсутствия УВО в участках генома вируса, кодирующих белки мишени для ППД, обнаруживались 1 или несколько aa-замен, ассоциированных с лекарственной резистентностью (Resistance Associated Substitution, RAS) [2]. Наибольшее клиническое значение продемонстрировали RAS ВГС, связанные с резистентностью к ингибиторам белка NS5a (даклатасвир, ледипасвир, омбитасвир и элбасвир), являющимся препаратами первой линии [3].

На данный момент в Российской Федерации (РФ) для лечения ХГС зарегистрирован только один ингибитор NS5a – даклатасвир (применяющийся в сочетании с ингибитором NS3 асунапревиром или ингибитором NS5b софосбувиром), к тому же отсутствует государственная программа доступной терапии ХГС на основе ППД, что негативно сказывается на охвате лечением, величина которого составляет не более 1,7% [4].

Комбинированная терапия пегилированным интерфероном (ПЕГ-ИНФ) и рибавирином по-прежнему является актуальным, а иногда и единственно доступным видом терапии. В нашей стране на долю субтипа ВГС 1b (ВГС-1b), хуже поддающегося интерферонотерапии по сравнению с другими генотипами, приходится около 55% случаев инфицирования ВГС [5]. Показано, что замены аминокислот (aa) Q/H70R и M91L в капсидном белке (core) ВГС-1b ассоциированы с низкой частотой достижения УВО при лечении препаратами ИНФ, а также с повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [6]. Стоит отметить, что, в отличие от замен Q/H70R, клиническая значимость которых была неоднократно доказана, данные по 91 aa позиции носят весьма противоречивый характер [7]. Ранее нами было показано, что распространенность полиморфизмов R70Q/H в core ВГС-1b, циркулирующих на территории РФ, составляет 31,2% и достоверно превышает аналогичные показатели в европейских странах [8].

Цель исследования – определение распространенности в РФ потенциально резистентных к ингибиторам NS5a изолятов ВГС-1b, а также ва-

риантов вируса, несущих одновременно мутации, связанные с резистентностью к ИНФ и ППД.

Материалы и методы

В исследование были включены сыворотки крови от 123 пациентов с ВГС-инфекцией, ранее не получавших терапию ингибиторами NS5a: 83 образца от пациентов с ХГС из Гепатологического центра Инфекционной больницы № 1 г. Москвы, собранные в 2008, 2009 и 2011 гг., а также 40 образцов от позитивных по РНК ВГС пациентов токсико-реанимационного отделения Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, собранные в 2014 г. Из выборки 2014 г. 30 образцов сывороток крови также были использованы для амплификации последовательностей core ВГС-1b и последующей оценки частоты встречаемости aa-замен R70Q/H и L91M в этом белке.

РНК вируса выделяли с помощью наборов QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Германия), MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (Roche Applied Science, Mannheim, Германия) и Sileks MagNA («Sileks», Россия), согласно протоколам производителей. Определение РНК ВГС проводили во всех образцах сывороток крови методом полимеразной цепной реакции, совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с использованием праймеров к наиболее консервативному участку вирусного генома – 5'-нетранслируемой области (5'-НТО). Условия первого раунда ОТ-ПЦР были следующими: обратная транскрипция при 42°C – 60 мин, 94°C – 5 мин, затем 35 циклов ПЦР – денатурация при 94°C – 30 с, отжиг при 55°C – 30 с и удлинение цепи при 72°C – 45 с. Праймеры: 5' – ctg-tga-gga-act-act-gtc-tt – 3' (внешний, прямой), 5' – tat-cag-gca-gta-cca-saa-gg – 3' (внешний, обратный). Продукт первой ПЦР амплифицировали во втором раунде ПЦР при тех же условиях. Праймеры: 5' – ttc-acg-cag-aaa-gcg-tct-ag – 3' (внутренний, прямой), 5' – acc-saa-cac-tac-tcg-gct-ag – 3' (внутренний, обратный). Полученный продукт ПЦР величиной 207 нт определяли в электрофорезе в агарозном геле (2%) в ТВЕ.

Обратную транскрипцию и амплификацию проводили с помощью наборов Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit и Fast Start High Fidelity PCR System (Roche Applied Science, Германия) по протоколам производителя.

Для фрагмента core условия амплификации первого раунда ПЦР были следующими: 94°C – 5 мин, затем 35 циклов: денатурация при 94°C – 45 с, отжиг при 55°C – 45 с и удлинение цепи при 72°C – 90 с, финальная элонгация 72°C – 7 мин. Праймеры: 5' – gct-agc-cga-gta-gtg-ttg-gg – 3' (внешний, прямой), 5' – acc-agt-tca-tca-tca-tat-uss – 3' (внешний, обратный). Продукт первой

ПЦР амплифицировали во втором раунде ПЦР при тех же условиях. Праймеры: 5' – gaa-agg-cct-tgt-ggt-act-gc – 3' (внутренний, прямой), 5' – ttc-atc-atc-ata-ttc-cat-gcca – 3' (внутренний, обратный). Размер полученного фрагмента составлял 1048 нт.

Для фрагмента NS5a условия амплификации первого раунда ПЦР были следующими: 94°C – 2 мин, затем 35 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг при 56°C – 30 с, далее удлинение цепи при 72°C – 2 мин, финальная элонгация 72°C – 7 мин. В связи с тем, что последовательность белка NS5a ВГС имеет высокую гетерогенность, подбор праймеров для амплификации данного фрагмента проводился на основании элаймента геномных последовательностей ВГС 1 генотипа, циркулирующего на территории РФ, представленных в GenBank. Используемые праймеры были подобраны к наиболее консервативным участкам NS5a ВГС: 5' – arg-agr-ctn-cau-car-tgg-at – 3' (внешний, прямой), 5' – crc-chg-tcc-ang-wrt-arg-ac – 3' (внешний, обратный). Продукт первой ПЦР амплифицировали во втором раунде ПЦР при тех же условиях, за исключением температуры отжига праймеров – 50°C. Праймеры: 5' – gau-rtu-tgg-gac-tgg-ath-tg – 3' (внутренний, прямой), 5' – ctc-acv-gtn-gac-cad-gac-s – 3' (внутренний, обратный). Размер полученного фрагмента составлял 1292 нт.

Все полученные продукты амплификации вырезали из геля и выделяли из агарозы с помощью набора QIA quick Gel Extraction kit (QIAGEN, Hilden, Германия). Первичную нуклеотидную последовательность определяли на автоматическом секвенаторе 3500 Genetic Analyzer (ABI, Foster City, США) с использованием набора Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit.

Для выравнивания последовательностей и определения порядка aa-позиций использовали референсный штамм H77 субтипа ВГС 1a (GenBank AF011753). Анализ всех нуклеотидных и предсказанных аминокислотных последовательностей ВГС выполняли с помощью программного обеспечения MEGA 7.0.18. Оценку частоты встречаемости клинически значимых замен и RAS в aa-позициях core 70 и 91, а также NS5a 28, 29, 30, 31, 32, 58, 62, 92 и 93 проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel.

Результаты и обсуждение

Из 123 образцов, положительных по РНК ВГС-1b, амплифицировать фрагмент NS5a удалось в 75,6% образцов (n=93). Неудачи амплификации NS5a, по-видимому, были обусловлены высоким уровнем полиморфизма последовательностей, кодирующих NS5a, по сравнению с 5'-НТО областью, использовавшейся для детекции инфекции и участком core, использовавшимся для определения генотипа ВГС.

Перечень клинически значимых RAS NS5a, поиск которых был выполнен для 93 российских последовательностей ВГС-1b, был сформирован на основании последних рекомендаций Европейской ассоциации по изучению печени [1]. Полученные показатели частоты выявления RAS NS5a ВГС-1b приведены в таблице 1.

Таблица 1

Частота выявления RAS NS5a среди отечественных вариантов ВГС-1b, полученных от пациентов, ранее не получавших терапию ППД

Частота выявления NS5a RAS ВГС-1b*		
RAS	%	ППД [9]
L28M	1,1%	ЭЛБ
R30Q	7,5%	ДАК, ОМБ, ЭЛБ
L31M	5,4%	ДАК, ЛЕД, ЭЛБ, ОМБ, ВЕЛ
P58S	4,4%	ДАК, ОМБ
P58T	1,1%	ВЕЛ
A92T	1,1%	ЛЕД, ОМБ
Y93H	5,4%	ДАК, ЛЕД, ЭЛБ, ОМБ, ВЕЛ

*При расчете показателей частоты выявления учитывали суммарно последовательности, содержащие мутацию в aa-позиции, и последовательности, содержащие смесь вариантов (дикий тип и мутация). Жирным шрифтом выделены наиболее значимые мутации, с которыми связано >10% случаев неудачи терапии при определенном субтипе ВГС [3]. ДАК – дактасвир, ОМБ – омбитасвир, ЭЛБ – элбасвир, ЛЕД – ледипасвир, ВЕЛ – велпатасвир.

В общей сложности доля штаммов, несущих в белке NS5a те или иные RAS, составила 22,6% (21/93). В 10,8% случаев были выявлены замены L31M и Y93H, связанные с устойчивостью к большинству ингибиторов NS5A, а также менее значимые с клинической точки зрения замены L28M, R30Q, P58S/T, A92T.

Все проанализированные последовательности NS5a ВГС содержали в себе только по одной RAS, за исключением 3 изолятов ВГС-1b, несущих одновременно 2 замены: R30Q + Y93H, P58T + Y93Y и A92T + Y93H.

Одновременное исследование фрагмента core и NS5a ВГС-1b было доступно для 30 из 93 пациентов. Из 30 человек 3 являлись носителями вариантов ВГС-1b, имеющими одновременно несколько

лекарственно-резистентных мутаций в участках core и NS5a: у 1 пациента было выявлено сочетание core [R70Q + L91M] + NS5a [R30Q + Y93H]; у второго – core [R70H + L91M] + NS5a R30Q; у третьего пациента – core L91M + NS5a L31M (табл. 2). Выявленные у этих пациентов замены в NS5a связаны с устойчивостью сразу к нескольким ППД: R30Q – с резистентностью к даклтасвиру, омбитасвиру и элбасвиру; L31M и Y93H – с резистентностью к даклтасвиру, ледипасвиру, омбитасвиру, велпатасвиру и элбасвиру. Таким образом, частота выявления вариантов ВГС-1b, потенциально резистентных одновременно к ИФН и ингибиторам NS5a, составила 10% (3/30).

В своем исследовании мы сосредоточились на анализе последовательностей ВГС-1b, так как это наиболее часто встречающийся субтип ВГС на территории РФ [5], к тому же его наличие служит показанием к проведению терапии с использованием ППД по причине невысокой частоты УВО при назначении ИФН [10].

Основной целью данного исследования являлось определение распространенности aa-замен в белке NS5a ВГС-1b среди нелеченных пациентов до начала широкого внедрения ППД в клиническую практику – то есть создание «нулевой точки» для последующего мониторинга возможного распространения этих полиморфизмов на фоне широкого применения ингибиторов NS5a. Именно полиморфизмы в NS5a, связанные с лекарственной устойчивостью, представляют особый интерес с точки зрения накопления в популяции. Показано, что полиморфизмы в NS5a, возникшие во время противовирусной терапии, не исчезают

после окончания курса препарата и могут сохраняться в вирусном квазивиде на протяжении нескольких лет после неудавшейся терапии и, следовательно, могут распространяться в человеческой популяции [11 – 13]. Кроме того, поскольку интерферонотерапия ХГС сохраняет свою актуальность в силу малой доступности ППД, задачей нашего исследования было установить долю пациентов, инфицированных штаммами ВГС-1b, потенциально резистентными как к ингибиторам NS5a, так и к препаратам ИФН.

Распространенность некоторых полиморфизмов в NS5a может различаться в зависимости от географического региона [14 – 16]. Полученные нами данные о распространенности наиболее значимых полиморфизмов в NS5a ВГС-1b, расположенных в aa-позициях 31 и 93, свидетельствуют об их относительной редкости среди российских штаммов ВГС. Доля этих вариантов среди российских нелеченных пациентов с ВГС-1b составила 10,8%, что не превышает аналогичные показатели в Северной Америке, Европе и Китае [17 – 19].

Ранее нами было показано, что почти каждый третий человек, инфицированный ВГС-1b в РФ, имеет мутантный вариант вируса по aa-позиции 70 белка core, а значит, является носителем вируса потенциально устойчивого к терапии препаратами ИФН и обладает повышенным риском развития ГЦК. Сравнительный анализ отечественных изолятов ВГС и трех географических регионов мира (Европа, Азия, Северная Америка) показал, что варианты R70Q/H среди субтипа 1b встречаются в РФ чаще, чем на территории близлежащих европейских стран. Северная Америка является

Таблица 2

Результаты выявления полиморфизмов в core и NS5a ВГС

№ образца	возраст пациента	пол пациента	aa замены в core	aa замены в NS5a	№ образца	возраст пациента	пол пациента	aa замены в core	aa замены в NS5a
1	26	м	R70Q + L91M	R30Q + Y93H	16	39	м	L91M	—
2	33	ж	R70H + L91M	R30Q	17	33	м	L91M	—
3	27	м	L91M	L31M	18	60	м	L91M	—
4	41	м	R70H + L91M	—	19	28	ж	L91M	—
5	35	м	R70Q + L91M	—	20	33	м	L91M	—
6	38	м	R70Q + L91M	—	21	26	м	L91M	—
7	46	м	R70Q + L91M	—	22	33	м	L91M	—
8	38	ж	R70Q + L91M	—	23	28	м	L91M	—
9	33	м	R70Q + L91M	—	24	28	м	L91M	—
10	81	ж	R70Q + L91M	—	25	31	м	L91M	—
11	24	м	R70Q	—	26	25	м	L91M	—
12	33	м	R70Q	—	27	65	м	—	—
13	45	м	L91M	—	28	36	м	—	—
14	38	м	L91M	—	29	24	м	—	—
15	28	м	L91M	—	30	38	м	—	—

Розовым цветом выделены клинически значимые aa-замены. Серым цветом выделены замены в белке core, клиническая значимость которых, по литературным данным, носит противоречивый характер. Зеленым цветом выделен дикий тип аминокислоты в исследуемых позициях.

единственным регионом, где частота встречаемости мутации Q70R оказалась гораздо выше, чем в РФ и в остальных регионах мира. Мутация M91L представлена в большей части штаммов ВГС-1b, циркулирующих в мире, за исключением Азии, где aa-лейцин (L) является доминирующей для позиции 91 [8].

В настоящем исследовании доля лиц, инфицированных штаммами ВГС-1b, потенциально резистентными одновременно к препаратам ИНФ и ингибиторам NS5a, составила 10%, при этом выявленные замены в NS5a связаны с резистентностью сразу к нескольким ППД. Учитывая небольшую выборку в данном пилотном исследовании, было бы опрометчиво говорить о широком распространении одновременной резистентности к ИНФ и ППД, однако существование такого явления продемонстрировано. Очевидно, полученные данные свидетельствуют в пользу целесообразности предварительного исследования профиля резистентности ВГС-1b перед назначением терапии для предотвращения выбора заведомо неэффективного препарата.

Очевидным ограничением данного исследования является включение в него последовательностей ВГС, выделенных только на территории Московского региона, что не позволяет экстраполировать полученные данные на остальные географические области России. С другой стороны, последовательности ВГС, выделенные в мегаполисе с большим числом приезжего населения, могут достоверно отражать генетическое разнообразие вируса в стране в целом. Так, исследование генетического разнообразия ВГС в нескольких крупных городах Китая продемонстрировало, что такие мегаполисы могут являться местом концентрации разных генотипов и штаммов ВГС [20].

Заключение.

Полученные данные о распространенности полиморфизмов в core и NS5A ВГС-1b, связанных с лекарственной устойчивостью, составляют «нулевую точку» в изучении распространенности данных мутаций, поскольку получены до внедрения в широкую практику терапии ХГС с применением ППД, но в момент времени, когда схемы на основе ИНФ уходят из практики. Следующим очевидным шагом является определение распространенности данных мутаций через несколько лет после широкого применения ППД. Эти исследования позволят оценить, насколько определенные замены в core и NS5a дают преимущество ВГС в сохранении и распространении вируса в условиях проведения противовирусной терапии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-30039).

Литература

1. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018 // Journal of hepatology. — 2018. pii: S0168-8278(18):31968-8.
2. Vermehren J. et al. Retreatment of patients who failed DAA-combination therapies: real-world experience from a large hepatitis C resistance database // Journal of Hepatology. — 2016. — Т. 64. — №. 2. — С. S188.
3. Wyles D. L. Resistance to DAAs: When to Look and When It Matters // Current HIV/AIDS Reports. — 2017. — Т. 14. — №. 6. — С. 229-237.
4. Никитин, И. Г. Экономическое бремя хронического гепатита С в России / И.Г. Никитин, Л.Д. Попович, Е.Г. Потапчик // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2015. — №. 6. — С. 9–13.
5. Petruzziello A. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: an up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes // World Journal of Gastroenterology. — 2016. — Т. 22. — №. 34. — С. 7824.
6. Akuta N. et al. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy // Intervirology. — 2005. — Т. 48. — №. 6. — С. 372-380.
7. El-Shamy A., Hotta H. Impact of hepatitis C virus heterogeneity on interferon sensitivity: an overview // World Journal of Gastroenterology: WJG. — 2014. — Т. 20. — №. 24. — С. 7555.
8. Kichatova V. S. et al. Frequency of Interferon-Resistance Conferring Substitutions in Amino Acid Positions 70 and 91 of Core Protein of the Russian HCV 1b Isolates Analyzed in the T-Cell Epitopic Context // Journal of immunology research. — 2018. — Т. 2018.
9. Sorbo M. C. et al. Hepatitis C virus drug resistance associated substitutions and their clinical relevance: Update 2018 // Drug Resistance Updates. — 2018.
10. Медицинская технология определения фармакоэкономически оправданной тактики лечения больных ХГС, инфицированных генотипом 1 ВГС, с учетом «портрета пациента». Фармакоэкономический калькулятор / Н.Д. Ющук [и др.]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 64 с.
11. Krishnan P. et al. Long-term follow-up of treatment-emergent resistance-associated variants in NS3, NS5A and NS5B with paritaprevir/r, ombitasvir-and dasabuvir-based regimens // Journal of Hepatology. — 2015. — Т. 62. — С. S220.
12. Lahser F. et al. Interim analysis of a 3-year follow-up study of NS5A and NS3 resistance-associated substitutions after treatment with grazoprevir-containing regimens in participants with chronic HCV infection // Antiviral therapy. — 2018.
13. Wyles D. et al. Long-term persistence of HCV NS5A resistance associated substitutions after treatment with the HCV NS5A inhibitor, ledipasvir, without sofosbuvir // Antivir Ther. — 2017.
14. Hernandez D. et al. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors // Journal of Clinical Virology. — 2013. — Т. 57. — №. 1. — С. 13-18.
15. Krishnan P. et al. Resistance analysis of baseline and treatment-emergent variants in hepatitis C virus genotype 1 in the AVIATOR study with paritaprevir-ritonavir, ombitasvir, and dasabuvir // Antimicrobial agents and chemotherapy. — 2015. — Т. 59. — №. 9. — С. 5445-5454.
16. Krishnan P. et al. Analysis of hepatitis C virus genotype 1b resistance variants in Japanese patients treated with paritaprevir-ritonavir and ombitasvir // Antimicrobial agents and chemotherapy. — 2016. — Т. 60. — №. 2. — С. 1106-1113.

17. Zeuzem S. et al. NS5A resistance-associated substitutions in patients with genotype 1 hepatitis C virus: prevalence and effect on treatment outcome // *Journal of hepatology*. — 2017. — Т. 66. — №. 5. — С. 910-918.

18. Li Z. et al. Prevalence of hepatitis C virus-resistant association substitutions to direct-acting antiviral agents in treatment-naïve hepatitis C genotype 1b-infected patients in western China // *Infection and drug resistance*. — 2017. — Т. 10. — С. 377.

19. Hernandez D. et al. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors // *Journal of Clinical Virology*. — 2013. — Т. 57. — №. 1. — С. 13-18.

20. Qi Y. et al. Subtype distribution of Hepatitis C virus in Jiangsu, China // *Journal of medical virology*. — 2016. — Т. 88. — №. 3. — С. 498-505.

References

1. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018; pii: S0168-8278(18)31968-8. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.026.

2. Vermehren J., Susser S., Dietz J., et al. Retreatment of patients who failed DAA-combination therapies: real-world experience from a large hepatitis C resistance database. *J Hepatol*. 2016. 64 (2): S188.

3. Wyles D. L. Resistance to DAAs: When to Look and When It Matters. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2017; 14 (6): 229-237. doi: 10.1007/s11904-017-0369-5.

4. Nikitin I.G., Popovich L.D., Potapchik E.G. Ekonomicheskoe bremya hronicheskogo gepatita S v Rossii [The economic burden of chronic hepatitis C in Russia]. *Epidemiology and infectious diseases*. Current items. 2015. 6: 9-13.

5. Petruzzello A., Marigliano S., Loquercio G., et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World J Gastroenterol*. 2016; 22 (34): 7824-40. doi: 10.3748/wjg.v22.i34.7824.

6. Akuta N., Suzuki F., Sezaki H., et al. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology*. 2005; 48 (6): 372-80. doi: 10.1159/000086064.

7. El-Shamy A., Hotta H. Impact of hepatitis C virus heterogeneity on interferon sensitivity: an overview. *World J Gastroenterol*. 2014 Jun 28; 20 (24): 7555-69. doi: 10.3748/wjg.v20.i24.7555.

8. Kichatova V.S., Kyuregyan K.K., Soboleva N.V., et al. Frequency of Interferon-Resistance Conferring Substitutions in Amino Acid Positions 70 and 91 of Core Protein of the Russian HCV 1b Isolates Analyzed in the T-Cell Epitopic Context. *J Immunol Res*. 2018 Feb 7; 2018: 7685371. doi: 10.1155/2018/7685371.

9. Sorbo M.C., Cento V., Di Maio V.C., et al. Hepatitis C virus drug resistance associated substitutions and their clinical relevance: Update 2018. *Drug Resist Updat*. 2018 Mar; 37: 17-39. doi: 10.1016/j.drug.2018.01.004.

10. Jushhuk N.D., et al. Medicinskaya tehnologiya opredeleniya farmakoekonomicheskoi opravdannoï taktiki lecheniya bolnih HGS, inficirovannih genotipom 1 VGS, s uchedom «portreta pacienta». Farmakoekonomicheskii kalkulyator [Medical technology for determining the pharmaco-economically justified tactics of treatment of patients with HCV, infected with genotype 1 of HCV, taking into account the "portrait of the patient". Pharmacoeconomic calculator] GEOTAR-Media, 2017. — 64 p

11. Krishnan P., Tripathi R., Schnell G., et al. Long-term follow-up of treatment-emergent resistance-associated variants in NS3, NS5A and NS5B with paritaprevir/r, ombitasvir- and dasabuvir-based regimens. *J Hepatol* 2015; 62: S220-S220.

12. Lahser F., Galloway A., Hwang P., et al. Interim analysis of a 3-year follow-up study of NS5A and NS3 resistance-associated substitutions after treatment with grazoprevir-containing regimens in participants with chronic HCV infection. *Antivir Ther*. 2018 Jul 24. doi: 10.3851/IMP3253.

13. Wyles D., Mangia A., Cheng W., et al. Long-term persistence of HCV NS5A resistance associated substitutions after treatment with the HCV NS5A inhibitor, ledipasvir, without sofosbuvir. *Antivir Ther*. 2018; 23 (3): 229-238. doi: 10.3851/IMP3181.

14. Hernandez D., Zhou N., Ueland J., et al. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors. *J Clin Virol*. 2013 May; 57 (1): 13-8. doi:10.1016/j.jcv.2012.12.020.

15. Krishnan P., Tripathi R., Schnell G., et al. Resistance analysis of baseline and treatment-emergent variants in hepatitis C virus genotype 1 in the AVIATOR study with paritaprevir-ritonavir, ombitasvir, and dasabuvir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Sep; 59 (9): 5445-54. doi: 10.1128/AAC.00998-15.

16. Krishnan P., Schnell G., Tripathi R., et al. Analysis of hepatitis C virus genotype 1b resistance variants in Japanese patients treated with paritaprevir-ritonavir and ombitasvir // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Dec 7; 60 (2): 1106-13. doi: 10.1128/AAC.02606-15.

17. Zeuzem S., Mizokami M., Pianko S., et al. NS5A resistance-associated substitutions in patients with genotype 1 hepatitis C virus: Prevalence and effect on treatment outcome. *J Hepatol*. 2017 May; 66 (5): 910-918. doi: 10.1016/j.jhep.2017.01.007.

18. Li Z., Chen Z.W., Li H., et al. Prevalence of hepatitis C virus-resistant association substitutions to direct-acting antiviral agents in treatment-naïve hepatitis C genotype 1b-infected patients in western China. *Infect Drug Resist*. 2017 Oct 31; 10: 377-392. doi: 10.2147/IDR.S146595.

19. Hernandez D., Zhou N., Ueland J., et al. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors. *J Clin Virol*. 2013 May; 57 (1): 13-8. doi: 10.1016/j.jcv.2012.12.020.

20. Qi Y., Chen Q., Hao F., et al. Subtype distribution of Hepatitis C virus in Jiangsu, China. *J Med Virol*. 2016 Mar; 88 (3): 498-505. doi: 10.1002/jmv.24356.

Авторский коллектив:

Кичатова Вера Сергеевна — научный сотрудник отдела изучения вирусных гепатитов научно-исследовательского центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, младший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова; тел.: 8(495)945-70-82, e-mail: vera_kichatova@mail.ru

Карлсен Анастасия Андреевна — научный сотрудник отдела изучения вирусных гепатитов научно-исследовательского центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова; тел.: 8(495)945-70-82, e-mail: karlsen12@gmail.com

Исаева Ольга Владиславовна — ведущий научный сотрудник отдела изучения вирусных гепатитов научно-исследовательского центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, к.м.н.; тел.: 8(495)945-70-82, e-mail: isaeva.06@mail.ru

Солонин Сергей Александрович — старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, к.м.н.; тел.: 8(495)620-12-49, e-mail: solonin@yahoo.com

Малинникова Елена Юрьевна — заведующая кафедрой вирусологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, д.м.н.; тел.: 8(499)458-95-30, e-mail: malinacgb@mail.ru

Кюрегян Карен Каренович — руководитель отдела изучения вирусных гепатитов научно-исследовательского центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, д.б.н., профессор РАН; тел.: 8(495)945-70-82, e-mail: karen-kyuregyan@yandex.ru

Михайлов Михаил Иванович — руководитель научно-исследовательского центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, заведующий лабораторией вирусных гепатитов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН; тел.: 8(495)945-50-15, e-mail: michmich2@yandex.ru