

УДК [616.98:578.828]:615.015.8(476)

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ МУТАЦИЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1, ЗНАЧИМЫХ
ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА, У ПАЦИЕНТОВ
БЕЗ ОПЫТА ЛЕЧЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ (2022–2024 гг.)**

Бунас А.С., Гасич Е.Л.

Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Установлено генетическое разнообразие и лекарственная устойчивость ВИЧ-1 к препаратам антиретровирусной терапии среди 332 пациентов с впервые поставленным диагнозом ВИЧ-инфекция в 2022–2024 гг., до начала лечения. Результаты показали доминирование под-подтипа А6 (95,8 %), присутствие под-подтипа А1 (0,3 %), подтипа В (1,2 %) и циркулирующих рекомбинантных форм CRF02_AG (0,3 %), CRF03_A6B (0,6 %) и CRF63_02A6 (1,8 %). Среди мутаций лекарственной устойчивости превалировала мутация K103N (10,8 %). Было выявлено 23 молекулярных кластера передачи ВИЧ-1, в четырех из них отмечена передача лекарственно устойчивых вариантов, имеющих мутацию K103N, в одном – K103N и M184V.

Ключевые слова: ВИЧ-1; генетическая изменчивость; мутации лекарственной устойчивости; кластерный анализ.

Введение. По данным с февраля по март 2025 г. в Республике Беларусь зарегистрировано 180 случаев ВИЧ-инфекции, показатель заболеваемости по сравнению с аналогичным периодом 2024 г. снизился на 13,1% [1]. Однако несмотря на это, ВИЧ-1 остается одной из важных проблем общественного здравоохранения. С 2018 г. в Республике Беларусь реализуется стратегия универсального назначения антиретровирусной терапии (АРТ) всем пациентам с вновь диагностированной ВИЧ-инфекцией независимо от клинической стадии заболевания и уровня CD4+ лимфоцитов. Данный подход соответствует современным международным рекомендациям – «лечение как профилактика» (Treatment as Prevention, TasP), а эпидемиологический мониторинг показывает эффективность стратегии, демонстрируя снижение заболеваемости ВИЧ-инфекцией, уменьшение показателей смертности среди людей, живущих с ВИЧ, сокращение числа случаев вертикальной передачи инфекции.

В то же время расширение охвата АРТ сопровождается увеличением частоты встречаемости лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ-1 [2]. Это приводит к повышению частоты случаев неэффективности лечения и необходимости смены схем терапии, к распространению первичной лекарственной устойчивости (ЛУ) среди пациентов, начинающих АРТ. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) осуществила систематический обзор и метаанализ исследований и материалов

конференций для оценки влияния повышения доступа к АРТ на уровне первичной ЛУ, в результате в 70 % (21 из 30) проанализированных исследований был установлен уровень первичной ЛУ к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ), превышающий 10 %. Высокие показатели устойчивости, наблюдаемые в разных возрастных и ключевых группах, показали необходимость внедрения в клиническую практику схем АРТ на основе ингибиторов интегразы второго поколения – таких как долутегра-вир [3]. В соответствии с данными рекомендациями в 2022 г. в Республике Беларусь был обновлен клинический протокол по ведению пациентов с ВИЧ-инфекцией, предусматривающий замещение схем АРТ с ННИОТ эфавиренцем и невирапином на схемы, включающие долутегра-вир, в качестве схем первой линии терапии [4].

Формирование ЛУ ВИЧ-1 сложный многоэтапный процесс. Несмотря на то, что мутации лекарственной устойчивости могут возникать спонтанно в результате ошибок, совершаемых обратной транскриптазой вируса, их отбор и закрепление происходит под воздействием селективного давления антиретровирусных препаратов. Кроме того, одним из факторов, определяющих вероятность развития ЛУ, является генетический барьер лекарственного средства – количественная характеристика, отражающая число необходимых мутаций для ее формирования.

Лекарственные средства АРТ с низким генетическим барьером, к которым в том числе относят ННИОТ эфавиренц и невирапин, снижают или теряют эффективность после возникновения 1–2 аминокислотных замен. В свою очередь лекарственные средства с высоким генетическим барьером (бустированные ритонавиром ингибиторы протеазы или ингибиторы интегразы второго поколения) требуют появления больше мутаций для развития ЛУ. Помимо основных мутаций ЛУ важную роль в ее развитии играют компенсаторные, или вторичные мутации. Их наличие не приводит к значительной потере восприимчивости ВИЧ-1 к лекарственным средствам, однако может усиливать влияние основных мутаций, а также восстанавливать фитнес вируса, снизившийся в результате их присутствия. Дополнительной проблемой является и перекрестная резистентность, обусловленная сходством механизма действия некоторых лекарственных средств в пределах одного класса, из-за чего возникновение ЛУ к одному лекарственному средству снижает восприимчивость к другим препаратам того же класса [5].

Для надзора за распространенностью первичной резистентности разработан список мутаций SDRM (Surveillance Drug Resistance Mutation), одобренный ВОЗ. Эти мутации важны для эпидемиологического надзора, не полиморфны, связаны с развитием ЛУ ВИЧ-1 у пациентов, принимающих терапию (выявлены с частотой не менее 0,5 %), и встречаются во всех подтипах группы М. На текущий момент в списке SDRM включено 93 мутации ЛУ к ингибиторам протеазы или ингибиторам обратной транскриптазы и 24 мутации к ингибиторам интегразы [6; 7].

Для изучения распространения ВИЧ-1 и его ЛУ-вариантов используют новые инструменты, одним из них является кластерный анализ. Анализ основан на оценке генетического расстояния между последовательностями, применим к большим наборам данных и позволяет выявить группы, в которых происходит быстрая передача ВИЧ. Кластерный анализ позволяет выявить как молекулярные сети передачи ВИЧ-1, так и распространение лекарственно-устойчивых вариантов вируса.

Цель работы. Оценка генетического разнообразия, мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы и обратной транс-

криптазы ВИЧ-1 и анализ распространения его лекарственно-устойчивых вариантов на основе молекулярных кластеров среди пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией в 2022–2024 гг.

Материалы и методы. В исследование включено 332 образца РНК ВИЧ-1, выделенной из плазмы крови пациентов с ВИЧ-инфекцией, проживающих на территории Республики Беларусь. Критерии включения в исследование: возраст более 18 лет, отсутствие опыта АРТ либо длительный перерыв в АРТ (более трех месяцев), дата поступления материала с января 2022 по декабрь 2024 г.

Экстракция вирусной РНК проводилась с использованием набора РИБО-преп производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, Российская Федерация). Генотипирование по участку *gag-pol* осуществляли с помощью тест-системы для субтипирования и выявления мутаций резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим секвенированием продуктов амплификации «Бел ВИЧ-1-резистентность-субтип» производства РЦГЭиОЗ (Минск, Республика Беларусь).

Секвенирование по Сэнгеру выполняли на капиллярном генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (Applied Biosystems, США). Для биоинформационного анализа использовалось программное обеспечение SeqA и SeqScape v.3.0. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью онлайн-ресурса HIVAlign с применением скрытых марковских моделей, с последующей ручной коррекцией в программе AliView версии 1.28.

Определение генетического варианта ВИЧ-1 выполнено при помощи инструмента COMET HIV-1 и филогенетического анализа (IQ-TREE v.2.2.0, ML, bootstrap 1000, GTR G + I). Визуализация филогенетического дерева осуществлена в онлайн-инструменте iTOL v.7.2.

Прогнозируемый уровень и мутации лекарственной устойчивости, а также распространенность мутаций лекарственной устойчивости, важных для эпидемиологического надзора, установили при помощи базы данных Лекарственной устойчивости ВИЧ Стэнфордского университета.

Для идентификации и визуализации кластеров использовали онлайн-инструмент MicrobeTrace v2.0 (для расчета генетической дистанции использовали модель TN93, максимальное пороговое значение составило 0,015).

Результаты и их обсуждение

Характеристика исследуемой выборки

В исследуемой когорте гендерное распределение пациентов составило: 44,3 % ($n = 147$) женщин и 55,7 % ($n = 185$) мужчин. Географически преобладали образцы из Минской области (31,6 %, $n = 105$). При разделении ре-

спондентов на возрастные группы было установлено, что 34,9 % ($n = 116$) приходились на возрастную группу 60 лет и старше.

Данные эпидемиологического анамнеза показали, что в 73,5 % ($n = 244$) заражение произошло гетеросексуальным путем. Парентеральный путь передачи через инъекционное употребление наркотиков определен в 12,0 % ($n = 40$), гомосексуальный путь передачи – в 6,3 % ($n = 21$). Путь инфицирования 8,1 % ($n = 27$) пациентов не установлен. Характеристика исследуемой группы, включая географическое распределение образцов по регионам и половозрастной состав пациентов, представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Характеристика пациентов с ВИЧ-инфекцией по демографическим и эпидемиологическим показателям

	Область							
	Брест	Гомель	Гродно	Минск	Минск (город)	Могилев	Витебск	Всего
Всего	47	50	21	105	60	26	23	332
	14,2 %	15,1 %	6,3 %	31,6 %	18,1 %	7,8 %	6,9 %	
Мужчины (n, %)	24	26	13	59	35	13	15	185
	7,2 %	7,8 %	3,9 %	17,8 %	10,5 %	3,9 %	4,5 %	55,7 %
Женщины (n, %)	23	24	8	46	25	13	8	147
	6,9 %	7,2 %	2,4 %	13,9 %	7,5 %	3,9 %	2,4 %	44,3 %
Возраст (лет)								
18–35	12	14	2	27	14	5	4	78
	3,6 %	4,2 %	0,6 %	8,1 %	4,2 %	1,5 %	1,2 %	23,5 %
36–47	7	22	6	33	13	11	4	96
	2,1 %	6,6 %	1,8 %	9,9 %	3,9 %	3,3 %	1,2 %	28,9 %
48–59	8	8	4	8	11	-	3	42
	2,4 %	2,4 %	1,2 %	2,4 %	3,3 %		0,9 %	12,7 %
>60	20	6	9	37	22	10	12	116
	6,0 %	1,8 %	2,7 %	11,1 %	6,6 %	3,0 %	3,6 %	34,9 %
Путь передачи								
Прием инъекционных наркотиков (n, %)	1	5	1	13	10	8	2	40
	0,3 %	1,5 %	0,3 %	3,9 %	3,0 %	2,4 %	0,6 %	12,0 %
Половой (гомосексуальный) (n, %)	1	1	2	2	11	1	3	21
	0,3 %	0,3 %	0,6 %	0,6 %	3,3 %	0,3 %	0,9 %	6,3 %
Половой (гетеросексуальный) (n, %)	43	42	17	71	36	17	18	244
	13,0 %	12,7 %	5,1 %	21,4 %	10,8 %	5,1 %	5,4 %	73,5 %
Не установлен (n, %)	2	2	1	19	3	—	—	27
	0,6 %	0,6 %	0,3 %	5,7 %	0,9 %			8,1 %
Группа риска								
Нет (n, %)	34	38	17	74	34	16	17	230
	10,2 %	11,4 %	5,1 %	22,3 %	10,2 %	4,8 %	5,1 %	69,3 %
Лица, употребляющие инъекционные наркотики (n, %)	2	5	1	14	12	8	2	44
	0,6 %	1,5 %	0,3 %	4,2 %	3,6 %	2,4 %	0,6 %	13,3 %

Генетические варианты ВИЧ-1, циркулирующие в Республике Беларусь

Генетический анализ выявил доминирование под-подтипа А6 среди вариантов ВИЧ-1 на территории Республики Беларусь. Данный под-подтип выявлен в 95,8 % ($n = 318$) последовательностей. Прочие генетические варианты встречались значительно реже: так, на долю подтипа В пришлось 1,2 % ($n = 4$), подподтипа А1 – 0,3 % ($n = 1$). Выявлено три циркулирующих рекомбинантных формы: CRF02_AG (0,3 %), CRF03_A6B (0,6 %) и CRF63_02A6 (1,8 %), результаты подтверждают устойчивое преобладание под-подтипа А6 ВИЧ-1 на территории Республики Беларусь (рис. 1).

Распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1

Анализ распространенности основных мутаций ЛУ к лекарственным средствам инги-

биторов обратной транскриптазы, нуклеозидных (НИОТ) и нуклеозидных (ННИОТ) ингибиторов обратной транскриптазы показал, что 48,8 % последовательностей ВИЧ-1 содержали как минимум одну мутацию ЛУ к любому из трех классов лекарственных средств, 3,0 % – к любому из ингибиторов обратной транскриптазы. Любая основная мутация ЛУ к ингибиторам протеазы выявлена в 0,3 %, компенсаторная – в 3,3 % последовательностей, к НИОТ и ННИОТ в 11,7 % и 19,6 % последовательностей соответственно.

Частота встречаемости основных мутаций к ингибиторам протеазы и НИОТ была относительно низкой. Так, аминокислотная замена M46I, возникающая у пациентов без опыта лечения в 0,1–0,3 % случаев в зависимости от подтипа ВИЧ-1, обнаружена у одного пациента (0,3 %). С частотой 0,3–1,5 % встречались такие компенсаторные мутации, как K20T, L33F,

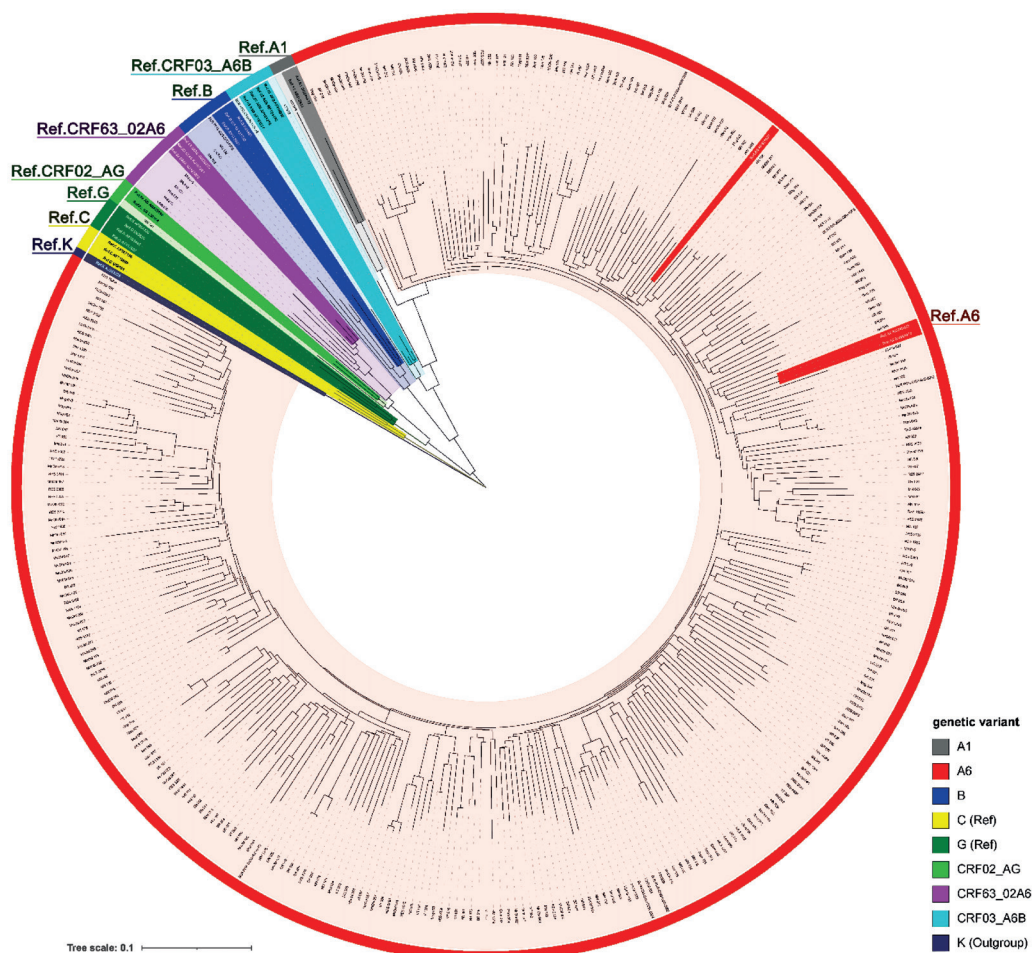


Рис. 1. Филогенетическое дерево циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 в Республике Беларусь в 2022–2024 гг.

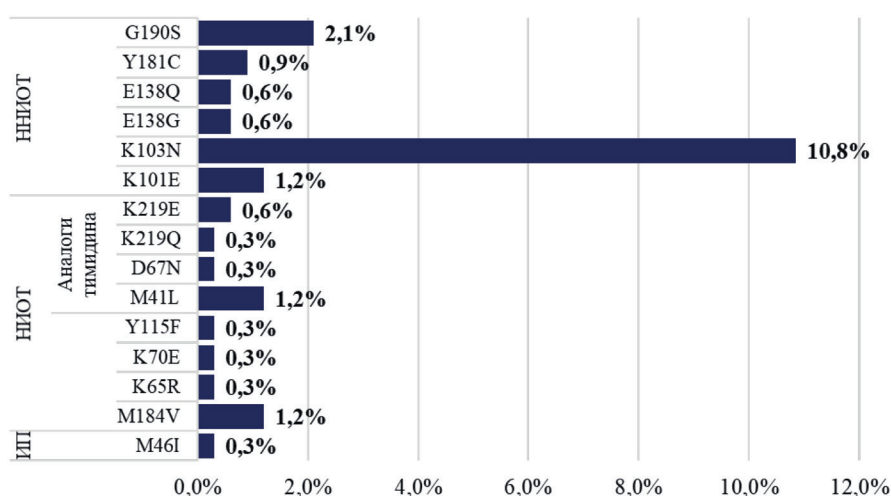


Рис. 2. Распространенность основных мутаций ЛУ к ингибиторам протеазы, нуклеозидным и ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы ВИЧ-1

K43T, Q58E и G73D. Среди основных аминокислотных замен, обуславливающих развитие ЛУ к НИОТ, чаще встречалась замена ЛУ к аналогам тимидина M41L (1,2 %) и замена M184V, снижающая восприимчивость ВИЧ-1 к ламивудину и эмтрицитабину более чем в 200 раз, а также связанная со снижением репликативной способности вируса *in vitro* и *in vivo*.

Основная мутация K103N, приводящая к снижению восприимчивости ВИЧ-1 к ННИОТ невирапину и эфавиренцу в 50 и 20 раз соответственно, выявлена в 10,8 % последовательностей. Данная мутация входит в список мутаций, важных для эпидемиологического надзора за распространением лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Аминокислотная замена G190S, выявленная в 2,1 % последовательностей, также связана со снижением чувствительности ВИЧ-1 к эфавиренцу и невирапину более чем в 50 раз (рис. 2).

Проведенный нами анализ распространенности мутаций ЛУ из списка SDRM (слежение за передающейся лекарственной устойчивостью) показал, что 16,9 % последовательностей содержали как минимум одну мутацию, среди которых 0,3 % – к ингибиторам протеазы, 4,2 % – к НИОТ, 14,2 % – к ННИОТ. В 1,8 % последовательностей отмечено присутствие SDRM одновременно к НИОТ и ННИОТ. Наиболее распространенной, как и в случае с основными мутациями ЛУ, была аминокислотная замена K103N (10,8 %). Данные о распространенности аминокислотных замен из данного списка представлены на рис. 3.

Молекулярные сети передачи ВИЧ-1

Построение молекулярных сетей передачи ВИЧ-1 осуществлено с использованием значений генетической дистанции, расчет был проведен для 332 последовательностей участка гена *pol*, кодирующего протеазу и обратную транскриптазу. Порог генетической дистанции составил 0,015 (1,5 %). Все последовательности принадлежали под-подтипу A6. Визуализация кластеров в онлайн-программе MicroBeTrase показала, что 35 (10,5 %) последовательностей сформировали 23 кластера, из них в 5 наблюдалась передача мутаций лекарственной устойчивости из списка SDRM (рис. 4).

Кластер 1 сформирован тремя последовательностями. Две из них получены от пациентов мужского и женского пола, проживающих в Минской области, одна – от пациента мужского пола из Витебской области. Все три пациента были инфицированы ВИЧ-1 в результате внутривенного введения инъекционных наркотиков. В кластере отмечена передача SDRM-мутации K103N, связанная с развитием ЛУ к ННИОТ эфавиренцу и невирапину.

Кластеры 2–4 включали по две последовательности каждый, все пациенты инфицированы в результате гетеросексуального контакта. Кластер 2 был образован последовательностями ВИЧ-1 пациентов мужского и женского пола, проживающих в Гомельской области. Кластер 3 – последовательностями, полученными от пациентов мужского пола, проживающих на территории Брестской области. В кластер

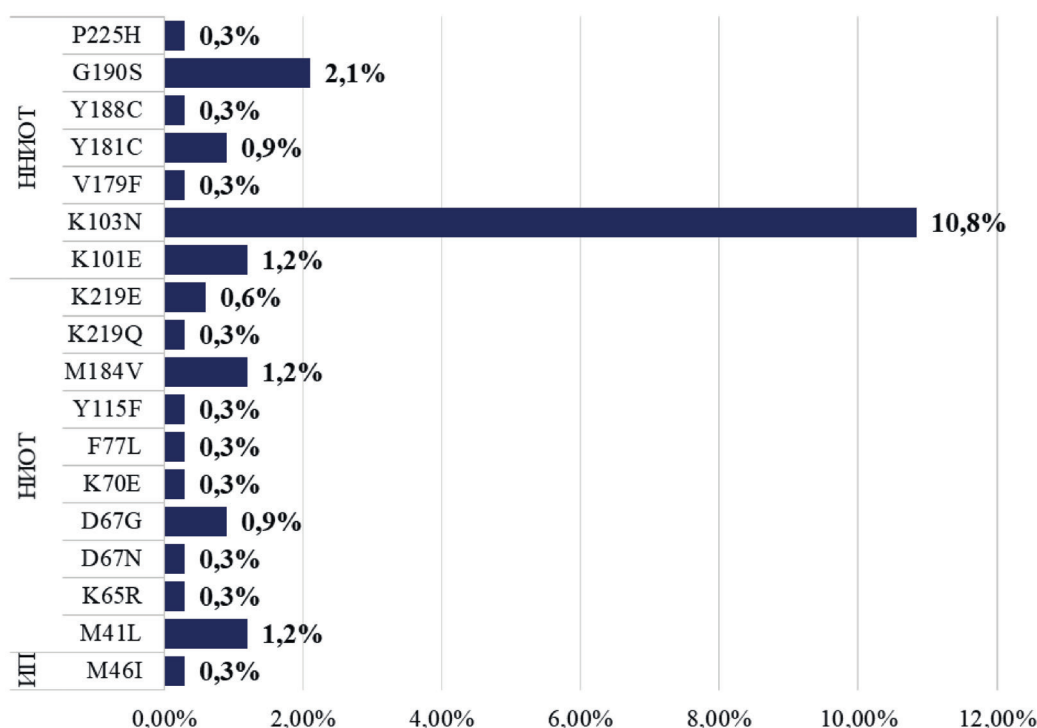


Рис. 3. Распространенность мутаций ЛУ, важных для эпидемиологического надзора

4 вошли последовательности ВИЧ-1 от пациентов женского пола, проживающих в Гомельской области. Учитывая путь передачи, в кластерах 3 и 4 высока вероятность наличия промежуточных звеньев, не включенных в данное исследование. В кластерах также наблюдалась передача мутации K103N, кроме того в кластере 4 происходила передача SDRM мутации к НИОТ ламивудину и эмтрицитабину M184V.

Кластер 5 был образован пятью последовательностями, все из них получены от пациентов мужского пола, проживающих в разных регионах Республики Беларусь: Гомельской, Гродненской и Минской областях, а также в Минске. Путем передачи ВИЧ-инфекции был гомосексуальный контакт, за исключением пациента из Гомельской области, который был инфицирован в результате гетеросексуального контакта. Как и в случае с кластерами 3 и 4, такое расхождение может свидетельствовать о наличии других пациентов в цепи передачи инфекции, последовательности ВИЧ-1 которых не были получены и включены в исследование. В данном кластере также происходила передача мутации K103N.

Закключение. В исследовании охарактеризовано генетическое разнообразие и распростра-

ненность основных мутаций лекарственной устойчивости. Изучена передача мутаций, важных для эпидемиологического надзора, в молекулярных кластерах ВИЧ-1 у пациентов, начинающих терапию, в Республике Беларусь с 2022 по 2024 г.

Генетический анализ выявил доминирование подтипа A6 (95,8 %), что подтверждает его преобладание в регионе. Среди основных мутаций лекарственной устойчивости наиболее распространена мутация K103N (10,8 %), снижающая чувствительность к ННИОТ эфавиренцу и невирапину в 20 и 50 раз соответственно, другие основные мутации (K101E, G190S, Y181C) встречались реже (0,6–2,1 %). Аминокислотные замены, связанные с устойчивостью к ингибиторам протеазы, представлены единичной заменой (M46L – 0,3%), к НИОТ их частота не превышала 1,2 % (M41L, M184V).

Впервые идентифицированы кластеры, характеризующие случаи передачи ЛУ вариантов, имеющих мутации из списка SDRM, среди ВИЧ-инфицированных лиц без опыта приема АРВ-препаратов: K103N (кластеры 1, 2, 3, 5) связана с развитием ЛУ к ННИОТ – эфавиренцу и невирапину, M184V (кластер 4) – ЛУ к НИОТ ламивудину и эмтрицитабину.

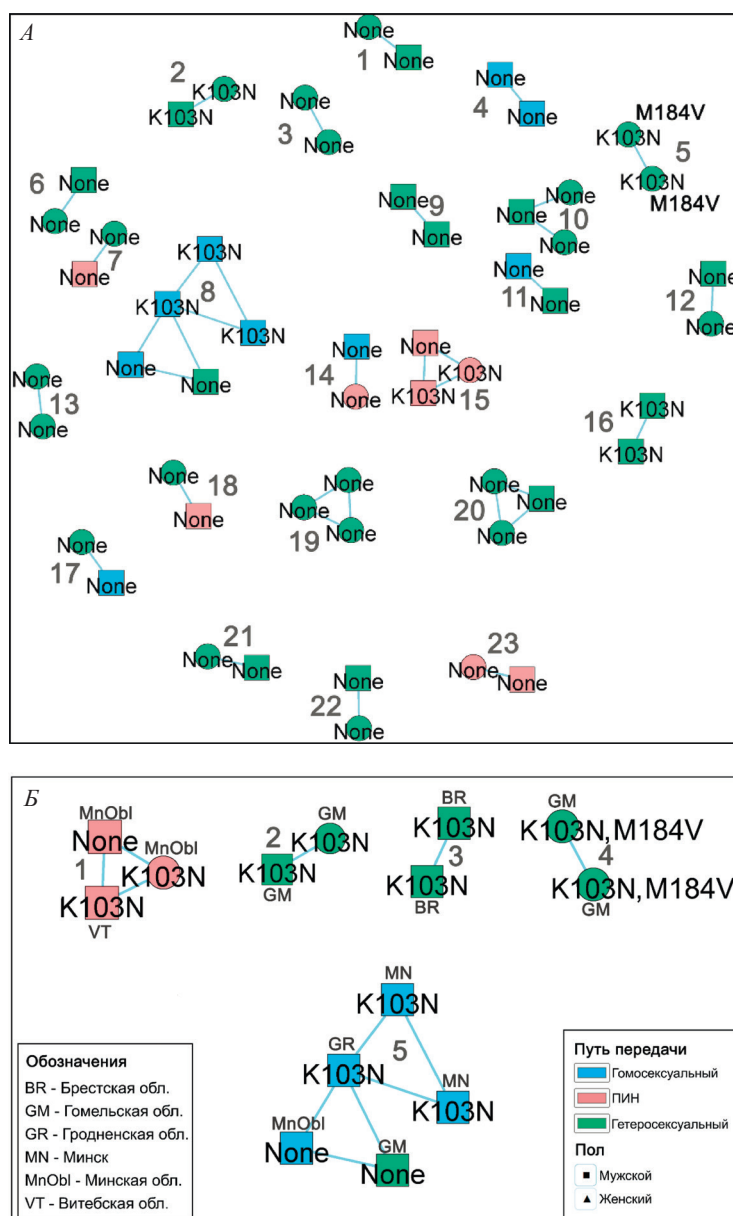


Рис. 4. Кластерный анализ передачи мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1: А – Кластеры, сформированные последовательностями под-подтипа А6 ВИЧ-1; Б – Кластеры, в которых наблюдалась передача SDRM мутаций

Данные подчеркивают важность методов молекулярной эпидемиологии для выявления случаев первичной лекарственной устойчивости и слежения за передачей лекарственно устойчивых вариантов ВИЧ-1. Выявление

и анализ кластеров передачи ВИЧ-1 будет способствовать снижению числа новых случаев ВИЧ-инфекции и улучшит эффективность антиретровирусной терапии в перспективе.

Список цитированных источников

1. ЭПИДСИТУАЦИЯ ПО ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ПО СОСТОЯНИЮ НА 1 МАРТА 2025 ГОДА. – URL: <https://mrcge.by/index.php/news/1369-epidsituatsiya-po-vich-infeksii-v-respublike-belarus-po-sostoyaniyu-na-1-marta-2025-goda> – дата обращения: 02.06.2025).
2. Global HIV Antiretroviral Drug Resistance: A Perspective and Report of a National Institute of Allergy and Infectious Diseases Consultation / C. Godfrey, M. C. Thigpen, K. W. Crawford [и др.] // The J. of Infectious Diseases. – 2017. – Т. 216, № suppl_9. – С. S798–S800.

3. Clinical Impact of Pretreatment Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance in People Initiating Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor–Containing Antiretroviral Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis / S. Bertagnolio, L. Hermans, M. R. Jordan [и др.] // *The J. of Infectious Diseases*. – 2020. – Т. 224, № 3. – С. 377–388.
4. Клинический протокол «Оказание медицинской помощи пациентам с ВИЧ-инфекцией». – URL: https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/CProtokol/КП_Оказание_медпомощи_пациентам_с_ВИЧ-инфекцией_пост_МЗ_25.07.2022_73.pdf
5. Santos, A.F. HIV Genetic Diversity and Drug Resistance / A.F. Santos, M.A. Soares // *Viruses*. – 2010. – Т. 2, № 2. – С. 503–531.
6. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update / D.E. Bennett, R.J. Camacho, D. Otelea [et al.] // *PLOS ONE*. – 2009. – Vol. 4, № 3. – P. e4724.
7. Integrase strand transfer inhibitor (INSTI)-resistance mutations for the surveillance of transmitted HIV-1 drug resistance / P.L. Tzou, S.-Y. Rhee, D. Descamps [и др.] // *J Antimicrob Chemother*. – 2019. – Т. 75, № 1. – С. 170–182.

PREVALENCE OF HIV-1 SURVEILLANCE DRUG RESISTANCE MUTATIONS AMONG TREATMENT-NAÏVE PATIENTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS (2022–2024)

¹A.S. Bunas, ¹E.L. Gasich

¹*State Institution Republican Center of Hygiene, Epidemiology & Public Health, Minsk, Republic of Belarus*

Genetic diversity and HIV-1 drug resistance profiles were characterised among 332 treatment-naïve individuals newly diagnosed with HIV between 2022 and 2024. The analysis revealed predominance of sub-subtype A6 (95.8 %), with minor representation of sub-subtype A1 (0.3 %), subtype B (1.2 %), CRF02_AG (0.3 %), CRF03_A6B (0.6 %), and CRF63_02A6 (1.8 %). Among drug resistance mutations, K103N showed the highest prevalence (10.8 %). Molecular analysis identified twenty-three HIV-1 transmission clusters, including four clusters containing drug-resistant variants with K103N mutation and one cluster formed by sequences carrying both K103N and M184V mutations.

Keywords: HIV-1; genetic diversity; drug resistance mutations; cluster analysis.