

ВОЗМОЖНЫЕ КОЛЛИЗИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ВАКЦИНАЦИИ

Е.П. Харченко

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Антитела (АТ), особенно естественные, проявляют полиспецифичность не только из-за свойственной им конформационной динамичности. С помощью компьютерного анализа исследовано распространение среди поверхностных белков ДНК- и РНК-содержащих вирусов, вызывающих наиболее распространенные инфекции у человека, идентичных и гомологичных пептидов. Выявлено, что каждый вирусный белок содержит фрагменты, гомологичные фрагментам других вирусных белков, что позволяет предполагать наличие пептидного континуума родства белков (ПКРБ) вирусов. В числе возможных проявлений ПКРБ вирусов вклад его в полиреактивность и аутореактивность АТ, и, следовательно, иммунологические подходы идентификации вирусов нельзя рассматривать как высоко надежные из-за высокой вероятности перекрестных реакций. Существование ПКРБ вирусных белков исключает возможность существования 100%-ной специфичности иммунодиагностикомов для идентификации вирусов. Из-за ПКРБ коллизии с иммунодиагностикой могут возникать как в случае идентификации самого вируса, так и при идентификации циркулирующих в организме АТ к вирусу. Кроме того, ПКРБ может служить причиной гетерологичного иммунитета и, соответственно, тяжелого течения инфекции. Специальный компьютерный анализ пептидного родства нуклеопротеина (НП) вируса гриппа А с различными белками человека позволил обнаружить у НП, помимо описанного ранее для него общего мотива с рецептором гипокретина 2, пептиды, гомологичные таковым в мелатониновом и глутаматном рецепторах и в трех белках ионных каналов. Обнаружение пептидного родства НП с этими белками человека позволяет полагать, что вызванный прививкой противогриппозной вакцины Pandemrix (GlaxoSmithKline) в период пандемии гриппа 2009–2010 гг. всплеск нарколепсии у детей и подростков может быть обусловлен образованием АТ не только к пептиду с общим для НП и рецептора гипокретина 2 мотивом, но и к этим новым выявленным пептидам НП, гомологичным к другим белкам. При иммунном ответе на инфекцию или вакцину, как известно, образуются АТ ко множеству преимущественно иммунодоминантных эпитопов. Уменьшить и даже избежать риски осложнений вакцинаций возможно, выполнив предварительный компьютерный анализ на наличие в белках вакцинальных вирусов эпитопов, гомологичных таковым в белках человека, и особенно преклинический анализ специфичности индуцируемых вакциной АТ на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека.

Ключевые слова: компьютерный анализ, вирусные белки, гомология, иммунодиагностика, вакцинация, вирус гриппа А.

THE POSSIBLE COLLISIONS IN VIRUS INFECTION IMMUNODIAGNOSTICS AND VACCINATION

Kharchenko E.P.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Antibodies (Ab), especially natural, display multiple specificity not only due to intrinsic conformational dynamics. With computational analysis the distribution of identical and homologous peptides has been studied in surface proteins from RNA and DNA viruses of widely distributed infections. It was established that each virus protein shared

Адрес для переписки:

Харченко Евгений Петрович
194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, 44,
ИЭФБ им. И.М. Сеченова РАН.
Тел./факс: 8 (812) 552-70-31 (служебн.); 8 904 338-22-80 (моб.).
E-mail: neuro.children@mail.ru

Contacts:

Eugene P. Kharchenko
194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44,
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry.
Phone/Fax: +7 (812) 552-70-31 (office); +7 904 338-22-80 (mobile).
E-mail: neuro.children@mail.ru

Библиографическое описание:

Харченко Е.П. Возможные коллизии в иммунодиагностике вирусных инфекций и вакцинации // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-157-164

Citation:

Kharchenko E.P. The possible collisions in virus infection immunodiagnosics and vaccination // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-157-164

the fragments homologous to other virus proteins that allowed to propose the existence of the peptide continuum of the protein relationship (PCPR). Possible manifestations of PCPR are multiple reactivity and autoreactivity in Ab and therefore it is not possible to consider the immune methods of virus identification as high reliable because of crossing interactions. The PCPR excludes the existence of 100% specificity in immune tests for virus identification. Immunodiagnostic collisions may occur either in identification of virus itself or identification of Ab to viruses. Also PCPR may be responsible for heterologous immunity and consequently the infection associated with severe pathology. The comparative analysis of peptide relationship of H1N1 influenza virus nucleoprotein and human proteins found out, beyond early described its common motif with human hypocretin receptor 2, peptides homologous to those in melanotonin and glutamate receptors and three ion channels. It allows to propose that the sleep disorder narcolepsy associated with Pandemrix vaccination (an adjuvanted, influenza pandemic vaccine) and also with infection by influenza virus during the 2009 A(H1N1) influenza pandemic may be determined not only by Ab to the peptide motif common to influenza nucleoprotein and hypocretin receptor but also Ab to melanotonin and glutamate receptors and ion channels. Decreasing and even avoiding risks of complications from vaccination may be feasible by means of a computer analysis of vaccine proteins for the occurrence of epitopes homologous to the human protein those and particularly by an analysis of Ab profiles induced by vaccine using microarrays with the large number of human protein antigens.

Key words: *computer analysis, viral proteins, homology, immunodiagnostics, vaccination, influenza virus A.*

Как известно, иммунодиагностические методы основаны на взаимодействии антигенов (АГ) с антителами (АТ). В клинической практике идентификация компонентов вируса осуществляется с помощью «специфических» (стандартных) АТ, а идентификацию АТ к вирусу выполняют с помощью соответствующих вирусных препаратов.

Обязательными характеристиками иммунодиагностического теста являются специфичность и чувствительность. Оба показателя определяются специфичностью АТ и, соответственно, уникальностью АГ. Независимо от их источника, общим свойством АТ являются полиреактивность и аутореактивность, особенно в случае естественных АТ [9]. Еще 30 лет назад было признано, что и моноклональные АТ всегда полиспецифичны [13]. Для более тонкого анализа специфичности АТ уже разработаны диагностические панели, содержащие в качестве АГ до 10 000 разных белков [7]. Соответственно, возникает вопрос: обусловлена ли полиаутореактивность АТ только их конформационной мобильностью, или она определяется также свойствами самих белков, с которыми АТ наиболее часто взаимодействуют как с источниками АГ? Эта проблема особенно остро стоит в случае иммунодиагностики вирусных инфекций.

Замечательной особенностью эволюционной иерархии всех живых организмов и сопутствующих им вирусов является единство механизмов их белок-синтезирующего аппарата и принципов структурной организации самих белков. Примечательно, что реализованное в эволюции многообразие белковых последовательностей существенно меньше потенциально возможного. Принципиально важным моментом в механизмах возникновения разнообразия белков является то, что в числе основных способов увеличения размеров и числа белков оказались генные дубликации и мозаичные комбинации, причем большинство генов белков являются разорванными и составленными из разного числа

экзонов и интронов [2]. Сопоставление первичных структур белков различных организмов показало, что они обнаруживают блочное родство; то есть их последовательности родственны не по всей длине, а лишь по отдельным протяженным блокам, причем разветвленная сеть блочного родства охватывает белки, глубоко различающиеся по своим функциям. Это дало нам основание ввести понятие пептидного континуума родства белков (ПКРБ) и рассмотреть возможные его проявления [1].

Исходя из универсальности принципов организации белков, можно предположить существование ПКРБ и среди вирусных белков, что может приводить к неподозреваемым ранее ошибкам в иммунодиагностике природы вирусных инфекций. Другим возможным проявлением ПКРБ может быть возникновение аутоиммунного заболевания при инфекции, обусловленное наличием в белках инфицирующего вируса родственных белкам хозяина пептидных фрагментов. Индукция иммунного ответа на вирус ведет к появлению в организме АТ, способных распознавать и блокировать, соответственно, те белки хозяина, которые содержат родственные белкам вируса пептидные фрагменты. Этот сценарий патогенеза аутоиммунитета возник в результате вакцинации против пандемии гриппа 2009–2010 гг. Прививка вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline) обернулась всплеском частоты нарколепсии у детей и подростков в разных странах. Сопоставление характеристик разных вакцин показало существование возможной связи возникновения нарколепсии с высоким содержанием в вакцине Pandemrix (GlaxoSmithKline) нуклеопротеина (НП) вируса гриппа и образованием к нему АТ, перекрестно реагировавших с рецептором гипокретина (орексина) 2. Последний содержит в своей внеклеточной петле мотив, присутствующий и в составе НП [3].

Поэтому цель настоящего исследования состояла в выявлении с помощью компьютерного

анализа блочного родства белков (то есть ПКРБ) среди разных вирусов, которое может быть источником сложностей и ошибок при идентификации вирусов методами, основанными на использовании иммунологических принципов. Так как противогриппозная вакцинация осуществляется в мире ежегодно, охватывая значительную часть населения нашей планеты, был предпринят также сравнительный анализ родства НП с другими белками человека, чтобы выяснить дополнительные возможные риски противогриппозной вакцинации, связанные с присутствием в НП других антигенных детерминант, родственных белкам человека, АТ к которым могли бы соучаствовать в аутоиммунных нарушениях.

Методы

Для компьютерного анализа были использованы последовательности поверхностных белков из 19 РНК- и ДНК-содержащих вирусов: вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1), вирус гриппа А, гепатитов А, В и С, кори, паротита, краснухи, полиомиелита, клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Денге и Эбола, бешенства, цитомегаловирус, аденовирус, вирус папилломы, вирус простого герпеса, респираторно-синцитиальный вирус.

Родственные фрагменты в белках вирусов устанавливали как по наличию в них протяженных идентичных блоков длиной не менее 6 аминокислот (рис. 1), так и гомологичных фрагментов длиной в 10 аминокислот (декапептиды), имеющих не менее 7 позиций идентичных аминокислот (рис. 2). Названия вирусных белков в таблицах приводятся по сигнатуре, приводимой в <http://viralzone.expasy.org>. Для компьютерного анализа пептидного родства НП вируса гриппа А/CALIFORNIA/08/2009(H1N1) с белками человека были использованы последовательности 10 200 белков человека, охватывающие все ткани и органы, клеточные органеллы и межклеточное вещество, ферменты путей синтеза и метаболизма. Поиск родства осуществляли по пептидным фрагментам длиной в 12 аминокислот. Последовательности фрагментов признавались родственными при наличии у них не менее 8 идентичных позиций. Источником первичных структур белков служили доступные в Интернете базы данных (www.ncbi.nlm.nih.gov, www.nextprot.org, <http://viralzone.expasy.org>).

Результаты

Примеры выявленных идентичных и гомологичных последовательностей в белках разных пар вирусов представлены на рисунках 1 и 2. Обнаружение протяженных идентичных последовательностей (рис. 1) в белках близкородственных вирусов, как это имеет место, например, для

вирусов рода *Flavivirus* (вирус желтой лихорадки, вирус лихорадки Денге, вирус клещевого энцефалита) было предсказуемым. Неожиданным оказалось наличие длинных идентичных фрагментов в белках, соответственно, у вируса кори и вируса паротита, вируса Эбола и вируса полиомиелита, а также у цитомегаловируса и вируса папилломы. Как и следовало ожидать, встречаемость гомологичных фрагментов в белках разных вирусов многократно превосходит таковую для идентичных фрагментов. (На рис. 2 представлены только примеры пар декапептидов вирусных белков с не менее 8 позициями идентичных аминокислот.)

Наличие гомологичных пептидов среди вирусных белков не зависело от природы генома вирусов. Поскольку каждый из исследованных вирусных белков, как правило, содержал декапептиды, гомологичные таковым нескольких белков других вирусов, то это дает основание предполагать существование ПКРБ вирусов, которое можно было бы схематично представить в виде графа, узлами которого являются (точки на графе) сами вирусные белки. Каждый узел (белок) в графе может быть идентифицирован длиной (L) белка либо его первичной структурой. Соединяющие узлы графа ребра указывают на наличие у них родственных пептидов, а числовые значения N над ребрами (на рис. 3 в качестве примера условно представлены N только на 3 ребрах) отражают число таких родственных пептидов у соответствующей пары вирусных белков. Полезность такого представления ПКРБ вирусов в виде математического объекта в компьютерном исполнении заключается не только в наглядности, но и в том, что оно позволяет прогнозировать сложную сеть возможных перекрестных реакций АТ при иммунной диагностике, с одной стороны, и предвидеть возможности развития иммунопатологии или же перекрестных защитных реакций организма — с другой стороны [1].

Анализ существования родства белков вируса гриппа, ограниченный данным сообщением только НП, показал наличие в нем фрагментов, родственных фрагментам разных белков человека. Из большого множества выявленных гомологичных пар на рисунке 4 представлены лишь фрагменты некоторых рецепторов и ионного канала, так как частично их молекулы в клетках нервной системы обращены во внеклеточное пространство и поэтому доступны для взаимодействия с АТ. С выявлением пептидного родства НП с другими белками человека наличие в НП общего мотива с рецептором гипокретина 2 не является в контексте ПКРБ уникальным, что порождает, соответственно, вопрос: почему этот мотив оказался иммунодоминантным и какие другие иммунные эпитопы сопутствуют ему как иммунодоминантные при вакцинации?

A A L G V A T A A Q V T A A A L G V A T A A Q I T A	(111–123) белок слияния, вирус паротита (122–134) белок слияния, вирус кори
A T N P L V A T N P L V	(51–56) поверхностный белок VP1, вирус полиомиелита (128–133) поверхностный белок VP40, вирус Эбола
I S T S E T T S K N I S T S E T T Y K N	(38–47) мембранный белок, цитомегаловирус (374–383) главный капсидный белок, вирус папилломы
D R G W G N G C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус желтой лихорадки (98–111) белок E, вирус Денге
D R G W G N H C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус клещевого энцефалита (98–111) белок E, вирус Денге
D R G W G N H C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус клещевого энцефалита (98–111) белок E, вирус желтой лихорадки

Рисунок 1. Пары вирусных белков с идентичными фрагментами

Обсуждение

Оценивая результаты выполненного анализа, можно утверждать, что они подкрепляют нашу гипотезу о существовании ПКРБ среди организмов различных ступеней эволюционной иерархии [1] и детализируют его реализацию в пределах вирусов. Обсуждение ПКРБ среди вирусов возможно, по крайней мере, в двух аспектах. Первый из них связан с возникновением и формированием ПКРБ вирусов, второй — с возможными проявлениями ПКРБ вирусов и медицинскими его приложениями.

По поводу формирования ПКРБ вирусов следует заметить, что если от прокариот до организмов высших уровней эволюционной иерархии наследование от особи к особи реализуется через ДНК, то в случае вирусов природа позволила себе фантазировать по части выбора для них генетического материала (кольцевые и линейные, фрагментарные, односпиральные, двуспиральные и частично двуспиральные формы РНК и ДНК). И по сей день мы не располагаем данными о путях возникновения такого разнообразия геномов вирусов. Можно лишь полагать, что наблюдаемое в эволюционной иерархии эукариот

соответствие размеров экзонов в разорванных генах функциональным доменам белков дает основание считать, что белки представляют собой наборы фрагментов с различными функциями, которые эволюция по непонятным пока правилам собирает как одно структурно-функциональное целое [2].

Что касается возможных проявлений ПКРБ вирусов и медицинских его приложений, то прежде всего ПКРБ следует рассматривать как фактор, который может обуславливать полиреактивность и аутореактивность АТ, и, следовательно, иммунологические подходы к идентификации вирусов нельзя относить к высоко надежным из-за высокой вероятности возможных перекрестных реакций. 100%-ная специфичность иммунного теста в принципе недостижима, что отчасти объясняет все большее распространение идентификации вирусов по их геномам на основе использования полимеразной цепной реакции, хотя и этот подход не гарантирует безошибочной идентификации. Об ошибочности идентификации вируса как возбудителя инфекционной болезни можно заподозрить в случае расхождения клинической картины, специфично вызываемой определенным вирусом, и ре-

L L G V G S A I A S L Y G V G S S I A S	(141–150) белок FG, респираторный синцитиальный вирус человека (319–328) белок E2, вирус гепатита С
K P K K K P T I K P K P Q K K P V I K P	(193–202) белок MGP, респираторный синцитиальный вирус человека (375–384) пентон, аденовирус С
V P W I S D T P Y R V P W I S N T T Y R	(173–182) белок VP3, вирус гепатита А (168–177) белок VP3, полиовирус
I S T S E T T Y K N I S T S E T T S K N	(374–383) главный капсидный белок Р, вирус папилломы (38–47) мембранный белок М, цитомегаловирус

Рисунок 2. Пары вирусных белков с гомологичными фрагментами

зультатом иммунологической идентификации вируса. Коллизии с иммунодиагностикой могут возникать как в случае идентификации самого вируса, так и при идентификации циркулирующих в организме АТ к вирусу, поскольку проявление полиспецифичности последних дополняется аутореактивностью, что продемонстрировано особенно убедительно на примере широко нейтрализующих АТ к вирусу иммунодефицита человека [6, 14, 17].

Исследованная нами встречаемость линейных протяженных идентичных и гомологичных последовательностей в белках дает основание объяснить прежде всего полиреактивность и аутореактивность тех АТ, которые узнают линейные эпитопы. В случае же конформационных эпитопов, которые формируются участием нескольких сайтов пространственной структуры белка, узнавание их АТ происходит по коротким фрагментам. Распространенность идентичных коротких пептидов среди большинства белков общеизвестна, чем и объясняется еще большая непредсказуемость диапазона полиреактивности АТ, узнающих конформационные эпитопы. Использование диагностических панелей, содержащих в качестве АГ до 10 000 разных белков, позволило выявить высокую перекрестную реактивность АТ, охватывающую функционально различные белки, иммунная связность которых даже отдаленно не казалась возможной [7]. Скрининг перекрестной иммунной реактивности белков на таких панелях позволяет получать близкие к истинным показатели чувствительности и специфичности используемого иммунологического теста. Можно надеяться, что в будущем будут разработаны и аналогичные микропанели с наборами белков различных вирусов.

Не застрахованы от коллизий полиреактивности АТ и нанотехнологические диагностикумы, основанные на выявлении индикаторной молекулы, транспортируемой и связываемой с мишенью посредством АТ. В иммунологической практике всегда следует иметь в виду, что

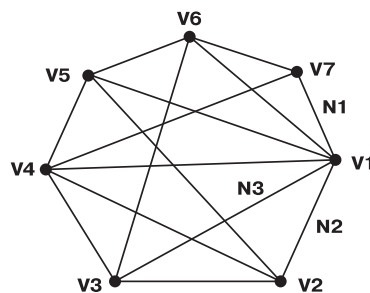


Рисунок 3. Схематичное представление в виде графа пептидного континуума родства вирусных белков

моноклональность АТ не есть синоним моноспецифичности АТ. Кроме того, как и АТ, белки, предстающие в качестве источника их АГ, подвержены конформационным изменениям в процессе их взаимодействия с АТ.

Помимо коллизий с идентификацией вируса, ПКРБ может служить причиной гетерологичного иммунитета, под которым понимается феномен реактивации вторым, неродственным вирусом Т-клеток памяти, генерированным в ответ на ранее перенесенную инфекцию другим (первым) вирусом. Этот феномен первоначально был выявлен и охарактеризован на серии хорошо контролируемых исследований вирусных инфекций у мышей. Позднее продемонстрирована его потенциальная значимость в патогенезе вирусных инфекций и у человека, в частности, при анализе пациентов, зараженных вирусом гепатита С [16]. Феноменами ПКРБ и гетерологичного иммунитета, возможно, обуславливается более тяжелое протекание инфекций вирусом кори, паротита, Эпштейна–Барр и других, возникших в более позднем возрасте. Участие гетерологичного иммунитета и ПКРБ можно заподозрить при болезнях с высокой вариабельностью патологии (туберкулез, гепатиты), при болезнях, вызываемых вирусами из групп, содержащих генетически родственные человечес-

R R S G A A G A A V K G	(174–185) НП (A/California/08/2009(H1N1))
M L S G A A G A A R R G	(1–12) кислоточувствительный ионный канал 4
K S C L P A C V Y G L A	(273–284) НП (A/California/08/2009(H1N1))
N S C L N A I V Y G L L	(300–311) рецептор мелатонина, тип 1B
G S T L P R R S G A A G	(169–180) НП (A/California/08/2009(H1N1))
T S T L P R N S G A G A	(856–867) глутаматный рецептор 1
E L I L Y D K E E I R R	(107–118) НП (A/California/08/2009(H1N1))
E L E D E N K E E I R R	(583–594) α-2 субъединица потенциал-зависимого Ca-канала
T R A L V R T G M D P R	(151–162) НП (A/California/08/2009(H1N1))
T R G L S R T S M K P R	(512–523) α-субъединица Na-канала, тип 5

Рисунок 4. Пары гомологичных фрагментов НП вируса гриппа и белков человека

кие патогены (семейства флавивирусов, папилломавирусов, пикорнавирусов), при вирусных инфекциях, связанных с генерацией мутантов (epitope-escape mutants), например, вирус гепатита С и ВИЧ; у пожилых людей, которые часто подвергаются инфекциям из-за снижения числа Т-наивных клеток и увеличенного количества Т-клеток памяти к ранее перенесенным инфекциям. Гетерологичный иммунный ответ может также обуславливать отторжение трансплантатов и предрасположенность к возникновению аутоиммунных болезней при перенесении некоторых инфекций. В частности, он может разрушить пул Т-клеток памяти, изменить сложность Т-клеточного репертуара, изменить паттерны Т-клеточной иммунодоминантности, привести к селекции вариантов вирусных эпитопов, избегающих иммунное узнавание, изменить патогенез вирусной инфекции и специфику ее протекания, изменить необходимость в определенных цитокинах для контроля инфекции [10, 11, 12, 16].

Как частное проявление гетерологичного иммунитета можно рассматривать известный феномен первородного греха, проявляющийся в том, что при вторичных инфекциях (например, при повторяющихся сезонных эпидемиях гриппа) быстро мутирующими вирусами реактивируемые ими кросс-реагирующие Т-клетки памяти к предшествующей инфекции обладают низкой аффинностью к вирусу вторичной инфекции. Эти Т-клетки обладают слабой антивирусной активностью, но активно высвобождаемые ими цитокины ведут к усилению инфекционного процесса и воспаления.

Эпидемиологические данные по проявлению гетерологичного иммунитета при вакцинации детей показали, что живые вакцины, подобно живой вакцине BCG или аттенуированной коревой вакцине, имели протективный эффект, снижая заболеваемость и смертность от неродственных патогенов, что, возможно, было связано со снижением чувствительности к инфекциям. Напротив, убитая вакцина против дифтерии, столбняка и коклюша ассоциировалась с вредными эффектами, как, например, с увеличением смертности от возбудителей, неродственных патогенам вакцины. Искоренение оспы послужило для ВОЗ обоснованием прекратить иммунизацию против нее, поскольку эта иммунизация генерировала очень сильные гетерологичные иммунные реакции. Однако наблюдения сельских местностей Гвинеи-Бисау показали, что наличие вакцинальных рубцов от оспенной вакцинации ассоциировалось с большим уровнем выживаемости среди взрослых. По-видимому противооспенная вакцинация снижала риск астмы и злокачественной меланомы. В Дании противооспенная вакцинация снизила число госпитализаций по поводу инфекционных заболеваний [4]. Эти эффекты противооспенной вакцинации, возможно, обусловлены тем, что вирус оспы яв-

ляется среди вирусов человека самым крупным и поэтому содержит в контексте описываемого ПКРБ вирусов наиболее представительный репертуар иммунных эпитопов, родственных таковым у разных вирусов, и вызывает сложный гетерологичный иммунный ответ. В этой связи нельзя не согласиться с мнением экспертов ВОЗ, признавших, что вакцины могут иметь гетерологичные (положительные и отрицательные) и неспецифические эффекты. Наши знания особенно недостаточны по динамике острых Т-клеточных ответов и образованию Т-клеток памяти на коинфекции, при одновременном введении нескольких вакцин или комбинированных вакцин. Прошедшие после открытия гетерологичного иммунитета два десятилетия еще более утвердили наши представления о распространенности в организме кросс-реактивных Т-клеток к неродственным патогенам, влияющих на протективный иммунитет и иммунопатологию и способных уменьшить эффективность вакцин из-за иммунодоминантного сдвига нежелательного ответа Т-клеток. Иммунный ответ на каждый новый патоген влияет на частоту, активность и распределение Т-клеток памяти к предшествующим инфекциям [4].

Помимо коллизий иммунодиагностики вирусов, связанных с существованием в эволюционной иерархии организмов ПКРБ и соответственно иммуноэпитопного континуума родства белков [1], сама структурно-функциональная организация иммунной системы служит источником трудностей при идентификация АТ к вирусу посредством вирусных препаратов. Как известно, АТ, представленные 5 классами иммуноглобулинов (Ig), синтезируются разными линиями В-клеток и их индукция реализуется различными механизмами. В противоположность В2-клеткам, осуществляющим тимус-зависимый (иммуногенный) синтез Ig с более высокой специфичностью и переключение синтеза с IgM на IgG, В1-клетки секретируют преимущественно IgM без гипермутирования зародышевых генов Ig, а сам синтез Ig является спонтанным и конститутивным и независимым от Т-клеток, что обусловило их название как естественные АТ (ЕА). Особенность ЕА — полиспецифичность и аутореактивность. Экспериментально показано соучастие аутореактивного репертуара ЕА в клеточном гомеостазе организма, противостоянии патогенам и патологических процессах.

Первоначально исследование ЕА было сосредоточено главным образом на преобладающем среди них IgM и им объяснялись многочисленные эффекты ЕА. Новые данные о IgG и IgA ЕА свидетельствуют о том, что их роль в эффектах ЕА нельзя игнорировать. Тестирование специфичности IgG ЕА выявило их взаимодействие с более чем 1000 белками, зависимость состава IgG ЕА от возраста, пола и имеющегося патологического состояния. Пациенты с болезнью

Альцгеймера, болезнью Паркинсона и рассеянным склерозом имели статистически значимое снижение IgA EA по сравнению с контрольными лицами того же возраста и пола. Профиль сывороточных IgG аутоАТ уникален для каждого индивидуума и удивительно стабилен во времени. Количество, разнообразие и явная эволюционная консервативность профиля IgG аутоАТ предполагает существование у них определенной нераспознанной функции [7].

Полиреактивность и аутореактивность EA простирается как на белки самого человеческого организма, так и на вирусы. Примером последнего служит выявление в крови пуповины здоровых новорожденных (от здоровых родителей) EA, распознающих пептид из второй консервативной области gp120 ВИЧ-1 [15]. Помимо самой иммунодиагностики ВИЧ-1, выявленный факт побуждает шире рассмотреть механизмы защиты организма от ВИЧ. Ныне EA рассматриваются в числе участников первой линии обороны хозяина против инфекции. Стимуляция Toll-подобных рецепторов сильно влияет на их титры в циркуляции [5]. Уникальность их состава будет обуславливать особенности резистентности каждого индивидуума к инфекционным патогенам, среди которых отсутствие у некоторых лиц заражения при половом контакте с ВИЧ-пораженным субъектом и контроль над ВИЧ у контроллеров. Вполне возможно, что, помимо известного сочетания вирусной, генетической и иммунологической составляющих в естественном контроле за ВИЧ-инфекцией [8], у контроллеров принимают участие и EA, распознающие иммунные эпитопы поверхностных белков ВИЧ.

В контексте ПКРБ, обнаружение АТ к определенному вирусу у пациентов с развившимся аутоиммунным заболеванием настораживает относительно возможной связи этих АТ с патогенезом заболевания, поскольку у вирусных белков и белков организма могут быть сходные иммуоэпитопы и индуцированные АТ к вирусу могут провоцировать развитие аутоиммунного заболевания. Иллюстрацией развития такого сценария служит упомянутая выше резко повышенная частота возникновения нарколепсии в ряде стран Европы у детей и подростков, привитых при пандемии гриппа вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline). При параллельном использовании при пандемии вакцины Focetria (Novartis Vaccines) случаи нарколепсии были редкими. Обе вакцины были получены к штаммам пандемии гриппа 2009 г. Различия их заключались в том, что вторая вакцина, по сравнению с первой, содержала низкие количества НП вируса гриппа. Анализ показал, что НП вируса гриппа и внеклеточная петля рецептора человеческого гипокретина 2 содержат фрагменты со сходным мотивом, соответственно YDKEEIRRIWR и YDDEEFLRYLWR, и АТ к рецептору гипокретина 2, перекрестно связывавшиеся с пеп-

тидным фрагментом НП, выявлялись в сыворотках нарколептических пациентов, имевших в анамнезе вакцинацию Pandemrix. В сыворотках ненарколептических субъектов, вакцинированных Focetria, АТ к НП практически не выявлялись. Это дало основание сделать вывод, что связь нарколепсии с вакцинацией Pandemrix, вероятно, обусловлена высоким содержанием в вакцине НП и соответствующим иммунным ответом на него [3].

Однако чаще всего патогенез патологического состояния формируется сочетанием разных во времени и пространстве механизмов, и выявленное в данном исследовании наличие в НП вируса гриппа фрагментов, гомологичных таковым глутаматного и мелатонинового рецепторов и ионных каналов, подводит к вопросу: являются ли АТ к YDKEEIRRIWR в НП единственными виновниками нарколепсии, ибо невозможно отвергнуть участие глутаматного и мелатонинового рецепторов в физиологических механизмах бодрствования и засыпания, как и образование АТ к гомологичным к ним фрагментам НП при вакцинации. Гуморальный иммунный ответ на инфекционный агент обычно полиспецифичен и направлен против нескольких иммунодоминантных эпитопов. Наши знания о феномене иммунодоминантности пока еще слишком скудны, и поэтому последствия вакцинации трудно предсказуемы. Нарколепсия, возможно, не единственное тревожное последствие вакцинации, и ее выявление способствовало, по видимому, легкость ее клинического распознавания, не требующего каких-либо специальных методов обследования.

Несомненно, состав вакцин будет влиять на спектр иммунодоминантных эпитопов и характер иммунного ответа, как и способы иммунизации и генетические особенности иммунизируемых субъектов, в числе которых состав гаплотипов их главных комплексов гистосовместимости. Уменьшить и даже избежать риски осложнений вакцинаций возможно, проводя превентивный компьютерный анализ белков вакцинальных вирусов на наличие в них эпитопов, гомологичных таковым в белках человека, и — особенно — преклинический анализ специфичности индуцируемых вакциной АТ на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека. На современном этапе развития научных технологий, когда возникли возможности многомерного анализа, позволяющего единовременно обозреть большие множества объектов, мы выявляем новые сложные феномены, которые ранее казались редкими либо исключительными случаями, и должны предьявлять более строгие критерии для идентификации вирусов и вырабатываемых к ним АТ и к сертификации вакцин.

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что поверхностные белки РНК- и ДНК-

вирусов содержат в своих последовательностях идентичные и гомологичные друг другу фрагменты, образуя ПКРБ вирусов, который может служить источником перекрестных иммунных взаимодействий и исключает возможность существования 100%-ной специфичности иммунодиагностикумов для идентификации вирусов. ПКРБ человека и вирусов может быть источником осложнений вакцинаций из-за возможности индуцирования к разным эпитомам ви-

русных белков АТ, перекрестно реагирующих с белками человека, что продемонстрировано на примере НП вируса гриппа А.

Благодарности

Автор благодарит д-ра С.С. Ахмеда (S.S. Ahmed, Novartis Vaccines, Italy) за возможность познакомиться с данными по анализу причин поствакцинальной нарколепсии.

Список литературы/References

1. Харченко Е.П. Иммуноэпитопный континуум родства белков и полиреактивность и аутореактивность антител // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 4. С. 335–346 [Kharchenko E.P. Immune Epitope continuum of the protein relationships, poly- and autoreactivity of antibodies] *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 4, pp. 335–346. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346 (In Russ.)
1. Харченко Е.П. Эволюционные аспекты оценки возможного числа и источников белковых регуляторов в организме // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1988. Т. 24. С. 240–249. [Kharchenko E.P. Evolutionary aspects of evaluation of possible number and sources of protein regulators in the organism. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii = Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 1989, vol. 25, no. 2, pp. 176–181. (In Russ.)]
2. Ahmed S.S., Volkmut W., Duca J., Corti L., Pallaoro M., Pezzicoli A., Karle A., Rigat F., Rappuoli R., Narasimhan V., Julkunen I., Vuorela A., Vaarala O., Nohynek H., Pasini F.L., Montomoli E., Trombetta C., Adams C.M., Rothbard J., Steinman L., Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.*, 2015, vol. 7, no. 294:ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354
3. Gil A., Kenney L.L., Mishra R., Watkin L.B., Aslan N., Selin L.K. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2015, vol. 109, no. 1, pp. 62–69. doi: 10.1093/trstmh/tru198
4. Gunti S., Messer R.J., Xu C., Yan M., Coleman W.G., Peterson K.E., Hasenkrug K.J., Notkins A.L. Stimulation of Toll-like receptors profoundly influences the titer of polyreactive antibodies in the circulation. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5:15066. doi: 10.1038/srep15066
5. Haynes B.F., Moody M.A., Alam M., Bonsignori M., Verkoczy L., Ferrari G., Gao F., Tomaras G.D., Liao H.X., Kelsoe G. Progress in HIV-1 vaccine development. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, vol. 134, pp. 3–10. doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.025
6. Nagele E.P., Han M., Acharya N.K., DeMarshall C., Kosciuk M.C., Nagele R.G. Natural IgG autoantibodies are abundant and ubiquitous in human sera, and their number is influenced by age, gender, and disease. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 4:e60726. doi: 10.1371/journal.pone.0060726
7. Poropatch K., Sullivan D.J. Jr. Human immunodeficiency virus type I long-term non-progressors: the viral genetic and immunological basis for disease non-progression II. *J. Gen. Virol.*, 2011, vol. 92, pt. 2, pp. 247–268. doi: 10.1099/vir.0.027102-0
8. Rothstein T.L., Griffin D.O., Holodick N.E., Quach T.D., Kaku H. Human B-1 cells take the stage. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2013, vol. 1285, pp. 97–114. doi: 10.1111/nyas.12137
9. Selin L.K., Wlodarczyk M.F., Kraft A.R., Nie S., Kenney L.L., Puzone R., Celada F. Heterologous immunity: immunopathology, autoimmunity and protection during viral infections. *Autoimmunity*, 2011, vol. 44, pp. 328–347. doi: 10.3109/08916934.2011.523277
10. Sharma S., Thomas P.G. The two faces of heterologous immunity: protection or immunopathology. *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 95, pp. 405–416. doi: 10.1189/jlb.0713386
11. Shen Z.T., Nguyen T.T., Daniels K.A., Welsh R.M., Stern L.J. Disparate epitopes mediating protective heterologous immunity to unrelated viruses share peptide-MHC structural features recognized by cross-reactive T cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 191, no. 10, pp. 5139–5152. doi: 10.4049/jimmunol.1300852
12. Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Front Immunol.*, 2014, vol. 5:593. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593
13. Verkoczy L., Diaz M., Holl T.M., Ouyang Y.B., Bouton-Verville H., Alam S.M., Liao H.X., Kelsoe G., Haynes B.F. Autoreactivity in an HIV-1 broadly reactive neutralizing antibody variable region heavy chain induces immunologic tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, pp. 181–186. doi: 10.1073/pnas.0912914107
14. Vujčić A.D., Gemović B., Veljković V., Glisic S., Veljković N. Natural autoantibodies in healthy neonatals recognizing a peptide derived from the second conserved region of HIV-1 gp120. *Vojnosanit Pregl.*, 2014, vol. 71, no. 4, pp. 352–361.
15. Welsh R.M., Che J.W., Brehm M.A., Selin L.K. Heterologous immunity between viruses. *Immunol. Rev.*, 2010, vol. 235, no. 1, pp. 244–266. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00897.x
16. Yang G., Holl T.M., Liu Y., Li Y., Lu X., Nicely N.I., Kepler T.B., Alam S.M., Liao H.X., Cain D.W., Spicer L., VandeBerg J.L., Haynes B.F., Kelsoe G. Identification of autoantigens recognized by the 2F5 and 4e10 broadly neutralizing HIV-1 antibodies. *J. Exp. Med.*, 2013, vol. 210, no. 2, pp. 241–256. doi: 10.1084/jem.20121977

Автор:

Харченко Е.П., д.б.н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

Author:

Kharchenko E.P., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.01.2016
Отправлена на доработку 20.01.2016
Принята к печати 25.02.2016

Received 11.01.2016
Revision received 20.01.2016
Accepted 25.02.2016