

2020

ИНФЕКЦИЯ и ИММУНИТЕТ



РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ

О ЖУРНАЛЕ

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

АРХИВЫ

ОБЪЯВЛЕНИЯ



Журнал является официальным изданием Российского научного общества иммунологов.

ISSN 1028-7221

Основан в 1996 г.

Периодичность: 4 раза в год

Главный редактор: академик РАН В.А. Черешнев

Включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и

[Читать далее](#)



Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Редакционный совет

Рецензирование

Этика публикаций

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 23, № 1 (2020)

Скачать выпуск [PDF](#)



ЮБИЛЕЙ

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ С ГЛУБОЧАЙШИМ ПОЧТЕНИЕМ И БЛАГОДАРНОСТЬЮ ОТ ИМЕНИ ВСЕХ ИММУНОЛОГОВ РОССИИ И СТРАН БЫВШЕГО СОВЕТСКОГО СОЮЗА ПОЗДРАВЛЯЕТ ОСНОВОПОЛОЖНИКА ИММУНОЛОГИИ В НАШИХ СТРАНАХ РЭМА ВИКТОРОВИЧА ПЕТРОВА, БЕССМЕННОГО ПОЧЕТНОГО ПРЕЗИДЕНТА РНОИ, С ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫМ 90-ЛЕТИИМ ЮБИЛЕЕМ!

статья Редакционная

[PDF \(RUS\)](#)

7-8 2

[Аннотация](#) ▾

ОБЗОРЫ

[САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ?](#)

Н. С. Асфандиярова

[PDF \(RUS\)](#)

9-18 13

[Аннотация](#) ▾

[ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АКНЕ](#)

А. Г. Румянцев, О. М. Демина, Е. В. Райкина

[PDF \(RUS\)](#)

19-26 7

[Аннотация](#) ▾

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

[ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА](#)

[Том 22, № 1 \(2019\)](#)

[TCR-МУТАЦИИ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ](#)

[Том 22, № 1 \(2019\)](#)

[ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДИОНА, Poly\(I:C\), ДАЛАРГИНА НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА YERSINIA PESTIS EV НИИЭГ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ](#)

[Том 23, № 1 \(2020\)](#)

[САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ?](#)

[Том 23, № 1 \(2020\)](#)

[ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА СМЕРТИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ](#)

[Том 21, № 1 \(2018\)](#)

- Электронная редакция
- Подача статей online
- Проверка рукописей на АНТИПЛАГИАТ

- Online-версия журнала
- DOI для каждой публикации
- Весь архив в PDF-формате
- Поиск статей по ключевым словам, авторам, заглавиям

«Российский иммунологический журнал» входит в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science

СЕВЕРО-ЗАПАДНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ РЕГИОНАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕРГОЛОГОВ
И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ (СПб РО РААКИ)

ИНФЕКЦИЯ и ИММУНИТЕТ

апрель–июнь

2020, том 10

№ 2

Журнал издается при участии Отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов,
микробиологов и паразитологов по Санкт-Петербургу и Ленинградской области

Главный редактор

Тотолян Арт А. д.м.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
зав. лабораторией молекулярной иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Мокроусов И.В. д.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

- Апт А.С.** д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики Центрального НИИ туберкулеза, Москва, Россия
Барбенто Л. д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, директор Института Пастера в Лаосе, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков
болезней, Вьентьян, Лаос
Гинцбург А.Л. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ,
Москва, Россия
Дозо Ч. д.б.н., профессор, директор Национального научно-исследовательского центра — Института имени Арманда Фраппьера,
Квебек, Канада
Лаврентьев И.Н. д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА,
Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, директор Института Пастера Туниса, Тунис
Львов Д.К. д.м.н., профессор, академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии
имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Мануссакис М. директор Института Пастера Греции, Афины, Греция
Медуницин Н.В. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Научного центра экспертизы
средств медицинского применения, Москва, Россия
Михайлов М.И. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова;
зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов, Москва, Россия
Найденски Х. д.м.н., профессор, директор Института микробиологии им. Стефана Ангелоффа, зав. отделом инфекционной микробиологии,
София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, первый заместитель председателя Комитета Государственной Думы по образованию и науке,
Москва, Россия
Покровский В.В. д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель Федерального НИЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, Москва, Россия
Сантони А. зам. директора по научной работе Института Пастера в Риме, профессор иммунологии и иммунопатологии отдела молекулярной
медицины Университета Сapienza в Риме, Рим, Италия
Симбирцев А.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России,
Санкт-Петербург, Россия
Тотолян Артем А. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела молекулярной
микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Фрейдлин И.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института
экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Хайтов Р.М. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии
ФМБА России, Москва, Россия
Черешнев В.А. д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
Шпигель А. д.м.н., профессор, директор Института Пастера Мадагаскара, Антананариву, Мадагаскар

Редакционный совет

- Алешкин В.А.** д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия
- Бухарин О.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия
- Вишневский Б.И.** д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия
- Долгушин И.И.** д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия
- Зверев В.В.** д.б.н., профессор, академик РАН, директор НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
- Зуева Л.П.** д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
- Кафтырева Л.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Кашкин К.П.** д.м.н., профессор, академик РАН, профессор кафедры иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования МЗ РФ, Москва, Россия
- Кубарь О.И.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Малеев В.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора Центрального НИИ эпидемиологии, зав. отделом инфекционной патологии, Москва, Россия
- Нарвская О.В.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Савичева А.М.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Сельков С.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Тец В.В.** д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
- Харит С.М.** д.м.н., профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
- Чекнев С.Б.** д.м.н., зам. директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, зав. лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия
- Шкарин В.В.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Нижегородской государственной медицинской академии, зав. кафедрой эпидемиологии, Нижний Новгород, Россия

Ответственный секретарь: Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

Редактор перевода: Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Выпускающий редактор: Мурадян А.Я., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор электронной версии: Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Учредители

Северо-Западное отделение медицинских наук

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Санкт-Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов

Журнал зарегистрирован Управлением Федеральной службы по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций по Санкт-Петербургу и Ленинградской области

Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78-00578 от 26 апреля 2010 г.

Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78-00910 от 24 июня 2011 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-64788 от 02 февраля 2016 г.

Электронная версия журнала: www.iimmun.ru и www.elibrary.ru

С 2012 года журнал «Инфекция и иммунитет» входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

С 2014 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory

С 2016 года включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

С 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

С 2017 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Scopus

Адрес редакции:

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: (812) 233-08-58.

Издательство НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteur.org.ru

Типография ООО «Аллегро»

196084, Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, 28.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Russian Journal of Infection and Immunity

(Infektsiya i immunitet)

April–June

2020, volume 10

No. 2

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists for St. Petersburg and Leningrad Region

Editor-in-chief

Areg A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg, Russian Federation

Deputy editor-in-chief

Igor V. Mokrousov PhD, MD (Biology), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Russian Federation

Members of editorial board

Alexander S. Apt	PhD, MD (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation
Luis Barbeito	PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Montevideo, Director, Montevideo, Uruguay
Paul Brey	PhD, MD (Biology), Professor, Institute Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos
Charles M. Dozois	PhD, MD (Biology), Professor, INRS – Institute Armand Frappier, Director, Quebec, Canada
Alexander L. Gintsburg	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
Irina N. Lavrentieva	PhD, MD (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation
Yuri V. Lobzin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Director, St. Petersburg, Russian Federation
Hechmi Louzir	Professor, Institute Pasteur de Tunis, Director, Tunis, Tunisia
Dmitry K. Lvov	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation
Menelaos N. Manoussakis	Hellenic Pasteur Institute, Director, Athens, Greece
Nikolai V. Medunitsyn	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation
Michael I. Michailov	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Microbiology and Virology, Moscow, Russian Federation
Hristo Najdenski	PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Stephan Angeloff, Director; Department of Infectious Microbiology, Head, Sofia, Bulgaria
Gennadiy G. Onishchenko	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, First Deputy Chairman of the State Duma Committee on Education and Science, Moscow, Russian Federation
Vadim V. Pokrovskiy	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Director, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation
Angela Santoni	PhD, Professor, Institute Pasteur-Fondation Cenci Bolognetti, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy
Andrei S. Simbirtsev	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation
Artem A. Totolian	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Microbiology, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
Irina S. Freidlin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
Rahim M. Khaitov	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation
Valery A. Chereshnev	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Director, Yekaterinburg, Russian Federation
Andre Spiegel	PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Madagascar, Director, Antananarivo, Madagascar

Members of editorial council

Vladimir A. Aleshkin	PhD, MD (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
Oleg V. Bukharin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Scientific Director, Orenburg, Russian Federation
Boris I. Vishnevsky	PhD, MD (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation
Ilja I. Dolgushin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, President, Moscow, Russian Federation
Vitaly V. Zverev	PhD, MD (Biology), Professor, RAS Full Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation, Director; I.M. Sechenov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russian Federation
Ludmila P. Zueva	PhD, MD (Medicine), Professor, I.I. Mechnikov North-West State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, St. Petersburg, Russian Federation
Lidiia A. Kaftyreva	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation
Kirill P. Kashkin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Professor of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation
Olga I. Kubar	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
Victor V. Maleev	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Adviser of the Director, Moscow, Russian Federation
Olga V. Narvskaya	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation
Alevtina M. Savicheva	PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation
Sergei A. Selkov	PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation
Viktor V. Tets	PhD, MD (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology and Virology, St. Petersburg, Russian Federation
Susanna M. Kharit	PhD, MD (Medicine), Professor, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation
Sergei B. Cheknev	PhD, MD (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation
Vyacheslav V. Shkarin	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Assistant editor: Natalia V. Rakitianskaia (St. Petersburg)

Translation editor: Dmitrii V. Isakov (St. Petersburg)

Copy editor: Aram Ya. Muradyan (St. Petersburg)

Online version editorial manager: Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

Founders

North-West Regional Branch of Medical Sciences
Saint Petersburg Pasteur Institute

Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists, St. Petersburg Regional Branch (SPb RAACI)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology
and Mass media in Saint Petersburg and Leningrad region
Certificate of registration PI no. TU 78-00578 from April, 26, 2010
Certificate of registration PI no. TU 78-00910 from June, 24, 2011

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media
Certificate of registration PI no. FS 77-64788 from February, 02, 2016

Electronic version: www.iimmun.ru and www.elibrary.ru

Since 2012, the Infection and Immunity journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Comission of the Russian Ministry of Education and Science

Since 2014 the Infection and Immunity journal is included into international Ulrich's Periodicals Directory database

Since 2016 included in Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science

Since 2016 the Russian Journal of Infection and Immunity is included in Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

Since 2017 the Russian Journal of Infection and Immunity is included into international Scopus database

Editorial Office
197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Tel.: (812) 233-08-58.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute
197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone/fax: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteur.org.ru

Produced at the Allegro Printing House
196084, Russian Federation, St. Petersburg,
Koli Tomchaka str., 28.
Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 18.05.2020. Print format 60 x 90 1/8.
Offset printing. Printed sheets 25.
Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i imunitet
© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2020
© St. Petersburg Pasteur Institute, 2020
© SPb RAACI, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Страница главного редактора	209
Передовая статья	
Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю.	
РОЖДЕННАЯ В УХАНЕ: УРОКИ ЭПИДЕМИИ COVID-19 В КИТАЕ	210
Обзоры	
Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В.	
ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И СОВРЕМЕННАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ КОРОНАВИРУСОВ (<i>NIDOVIRALES: CORONAVIRIDAE</i>)	221
Исихак Ф.А., Хамад М.А., Мустафа Н.Г.	
COVID-19: ОБНОВЛЕННЫЙ ВЗГЛЯД	247
Смирнов В.С., Тотолян Аргет А.	
ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	259
Топтыгина А.П.	
ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЕ ИММУННЫЕ ОТВЕТЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ	269
Колбин А.С.	
РАННЯЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С COVID-19	277
Кубарь О.И.	
ЭТИЧЕСКИЙ КОММЕНТАРИЙ К COVID-19	287
Оригинальные статьи	
Маркушин С.Г., Ахматова Н.К., Столпникова В.Н., Акопова И.И., Ртищев А.А., Калиниченко Е.О.	
ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИМИ МУТАНТАМИ ВИРУСА ГРИППА	295
Жилинская И.Н.	
МИМИКРИЯ В БЕЛКАХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ РЯДА БЕЛКОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА	305
Сахарнов Н.А., Уткин О.В., Филатова Е.Н., Князев Д.И., Кулова Е.А., Преснякова Н.Б.	
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ АПОПТОЗА И ВЫЖИВАНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ДЕТЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ТЕЧЕНИЯ ВГЧ-6-ИНФЕКЦИИ	315
Кныш С.В., Маркелова Е.В., Симакова А.И., Карапулов А.В.	
ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ НЕЙРОПЕПТИДОВ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА	329
Зурочка В.А., Забков О.И., Добринина М.А., Гриценко В.А., Давыдова Е.В., Чукичев А.В., Забокрицкий Н.А., Сарапульцев А.П., Зурочка А.В.	
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР	338
Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Дубар Э., Сенюта Н.Б., Лихтенштейн А.В., Петров С.В.	
ПОЛИМОРФИЗМ ОНКОГЕНА LMP1 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ РОССИИ, ТАТАР И СЛАВЯН, И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ	347
Абабий И.И., Данилов Л.А., Манюк М.К., Абабий П.И., Гинда С.С., Трофимчук М.Г., Костинов М.П., Поддубиков А.В.	
ЗНАЧЕНИЯ МИКРОБНОЙ ФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ В РАЗВИТИИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ	359

Краткие сообщения

Нестерова И.В., Митропанова М.Н., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Халтурина Е.О. ЛОКАЛЬНАЯ ИНТЕРФЕРОНОКОРРЕКТИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ РАСЩЕЛИНАМИ ГУБЫ И НЕБА С ВОЗВРАТНЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ	368
Сонис А.Г., Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Ерешенко А.А., Игнатова Н.К., Кузьмичева В.И., Бородина И.А., Ненайкин С.С. ХАРАКТЕРИСТИКА НАПРЯЖЕННОСТИ ПРОТИВОКОРЕВОГО ИММУНИТЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА	375
Рубис Л.В. РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА К КОРИ У ЛИЦ В ВОЗРАСТЕ СТАРШЕ 35 ЛЕТ	381

Методы

Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Лисаков А.Н., Сидоров А.В., Зверев В.В., Осокина О.В., Строева А.Д. ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА VARICELLA-ZOSTER	387
Правила для авторов	397
Авторский указатель	400
Предметный указатель	400

CONTENTS

Editor-in-chief page 209

Lead article

Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu.

BORN IN WUHAN: LESSONS FROM COVID-19 EPIDEMIC IN CHINA 210

Reviews

Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V.

HISTORY OF INVESTIGATION AND CURRENT CLASSIFICATION OF CORONAVIRUSES

(NIDOVIRALES: CORONAVIRIDAE) 221

Isihak F.A., Hamad M.A., Mustafa N.G.

COVID-19: AN UPDATED REVIEW 247

Smirnov V.S., Totolian Areg A.

INNATE IMMUNITY IN CORONAVIRUS INFECTION 259

Toptygina A.P.

HETEROLOGOUS IMMUNE RESPONSES IN HEALTH AND DISEASE 269

Kolbin A.S.

AN EARLY ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF MEDICINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS

WITH COVID-19 277

Kubar O.I.

ETHICAL COMMENTS ON COVID-19 287

Original articles

Markushin S.G., Akhmatova N.K., Stolpnikova V.N., Akopova I.I., Rtishchev A.A., Kalinichenko E.O.

EXAMINING IMMUNE ARMS IN MICE IMMUNIZED WITH SITE-SPECIFIC INFLUENZA VIRUS MUTANTS 295

Zhilinskaya I.N.

MIMICRY BETWEEN RESPIRATORY VIRUS PROTEINS AND SOME HUMAN IMMUNE PROTEINS 305

Sakharnov N.A., Utkin O.V., Filatova E.N., Knyazev D.I., Kulova E.A., Presnyakova N.B.

**EXPRESSION ANALYSIS OF APOPTOTIC AND SURVIVAL GENES IN BLOOD LEUKOCYTES
OF CHILDREN WITH VARIOUS FORMS OF HHV-6 INFECTION** 315

Knysh S.V., Markelova E.V., Simakova A.I., Karaulov A.V.

NEUROPEPTIDE SYSTEM PARAMETERS IN ACUTE HERPES ZOSTER 329

Zurochka V.A., Zabkov O.I., Dobrynina M.A., Gritsenko V.A., Davydov E.V., Chukichev A.V., Zabokritskii N.A., Sarapultsev A.P., Zurochka A.V.

**CLINICAL DIAGNOSTIC CRITERIA OF EFFICIENCY FOR COMBINED ETIOPATHOGENETIC THERAPY
IN PATIENTS WITH CHRONIC EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION** 338

Gurtsevitch V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Dubar E., Senyuta N.B., Lichtenstein A.V., Petrov S.V.

**EPSTEIN–BARR VIRUS LMP1 ONCOGENE POLYMORPHISM IN TATAR AND SLAVIC POPULATIONS
IN RUSSIAN FEDERATION IMPACTING ON SOME MALIGNANT TUMOURS** 347

Ababii I.I., Danilov L.A., Maniuc M.K., Ababii P.I., Ghinda S.S., Trofimciuc M.G., Kostinov M.P., Poddubikov A.V.

**A ROLE OF OROPHARYNGEAL MICROBIOTA IN DEVELOPING ACUTE AND CHRONIC DISEASES
OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT** 359

Short communications

Nesterova I.V., Mitropanova M.N., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Khalturina E.O.

- THE LOCAL INTERFERON-CORRECTIVE THERAPY IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFT LIP AND PALATE,
SUFFERING FROM THE RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS** 368

Sonis A.G., Gusyakova O.A., Gilmiyarova F.N., Ereshchenko A.A., Ignatova N.K., Kuzmicheva V.I.,
Borodina I.A., Nenjakin S.S.

- PATTERN OF RESILIENT AGE-RELATED MEASLES IMMUNITY** 375

Rubis L.V.

- A SURVEY OF EXAMINING HERD MEASLES IMMUNITY IN ADULTS OVER 35 YEARS OLD** 381

Methods

Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V.V., Osokina O.V., Stroeva A.D.

- PRACTICAL ASPECTS ON IDENTIFICATION, CULTIVATION AND CHARACTERISTICS
OF VARICELLA- ZOSTER VIRUS ISOLATES** 387

- Instructions to Authors** 397

- Author index** 400

- Subject index** 400

Уважаемые коллеги и читатели журнала «Инфекция и иммунитет»!

Перед вами выпуск журнала, подготовленный в период, когда внимание ученых всех стран направлено на изучение нового коронавируса SARS-CoV-2, а также на разработку средств диагностики, препаратов для профилактики и лечения инфекции, получившей название COVID-19. Подавляющее большинство публикаций данного номера посвящено различным вирусным инфекциям, и, конечно, особое место среди них занимают публикации на наиболее злободневную тему последних месяцев — COVID-19.

Передовая статья «Рожденная в Ухане: уроки эпидемии COVID-2019 в Китае» А.В. Семенова и Н.Ю. Пшеничной представляет особый интерес, поскольку авторы поделились личным опытом, приобретенным в ходе работы в Китае в феврале 2020 года в составе международной делегации экспертов ВОЗ. В четырех обзорах подробно обсуждаются история изучения коронавирусов и их действующая классификация, механизмы проникновения вируса в клетку человека, некоторые аспекты взаимодействия вируса и иммунной системы человека, а также приведен анализ официально зарегистрированных (по состоянию на начало апреля 2020 года) медицинских технологий, изучаемых для профилактики и лечения COVID-19 в разных странах. Особое место занимает статья, посвященная этическим вопросам, которые ставят перед всеми странами настоящая эпидемия.

Учитывая актуальность проблемы, мы планируем освещать ее и в последующих номерах нашего журнала.

Главный редактор журнала
«Инфекция и иммунитет»,
академик РАН, д.м.н., профессор



Аршаг А. Тотолян

РОЖДЕННАЯ В УХАНЕ: УРОКИ ЭПИДЕМИИ COVID-19 В КИТАЕ

А.В. Семенов^{1,2}, Н.Ю Пшеничная^{3,4}¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия²ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия³ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Минздрава России, Москва, Россия⁴ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. В статье приводится оценка эпидемии COVID-19 в Китае, которую можно разделить на несколько этапов. Несмотря на прозрачность в информировании мировой общественности, здравоохранение страны на первом этапе развития эпидемии оказалось не готово к быстрому росту числа больных с вирусной пневмонией, меры инфекционного контроля осуществлялись не в полной мере, что также привело к большому числу случаев инфицирования среди медицинских работников. Социально уязвимые группы населения не обращались своевременно, в том числе, и по материальным причинам, за медицинской помощью. На втором этапе одновременно с ограничительными мерами, введенными государством произошла перезагрузка всей системы здравоохранения: стало осуществляться бесплатное оказание медицинской помощи пациентам с COVID-19 и обеспечение строжайших мер инфекционного контроля, многоуровневое отслеживание контактов с помощью IT-технологий, организовано многократное наращивание мощности госпиталей. Совместными усилиями министерств, средств массовой информации, социальных сетей и волонтерских движений была обеспечена беспрецедентная социальная мобилизация населения. Безукоснительное выполнение всего комплекса мер, направленных на борьбу с эпидемией, позволило взять на третьем этапе ее под жесткий контроль и практически ликвидировать, спустя 2,5 месяца. Ответные меры Китая на эпидемию COVID-19 могут быть полезны другим странам, в борьбе с текущей пандемией и в подготовке к ответу на биологические угрозы в будущем.

Ключевые слова: COVID-19, эпидемическая кривая, Китай, коронавирус, SARS-CoV-2, контроль над эпидемией.

BORN IN WUHAN: LESSONS FROM COVID-19 EPIDEMIC IN CHINA

Semenov A.V.^{a,b}, Pshenichnaya N.Yu.^{c,d}^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation^b Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation^c National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation^d Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 epidemic curve in China can be divided into several stages. Despite transparency in informing the world public about clusters of undiagnosed viral pneumonia, the country's health care at the first stage of the epidemic was not ready to provide adequate and rapid response for a fast increase in the number of patients with COVID-19, infection control measures were not fully implemented, which also led to a large number of nosocomial cases of infection among medical workers and patients. Socially vulnerable groups of the population did not refer for medical assistance in a timely manner due to the lack of the disease danger understanding and also in connection with the high cost for them of medical aid. At the second stage, simultaneously with the restrictive measures introduced by the government, the entire health care system was rebooted: free medical care for patients with COVID-19 was provided and the strictest infection

Адрес для переписки:

Семенов Александр Владимирович
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 233-20-92.
E-mail: alexvsemenov@gmail.com

Contacts:

Alexander V. Semenov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-20-92.
E-mail: alexvsemenov@gmail.com

Библиографическое описание:

Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю. Рожденная в Ухане: уроки эпидемии COVID-19 в Китае // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 210–220.
doi: 10.15789/2220-7619-BIW-1453

Citation:

Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu. Born in Wuhan: lessons from COVID-19 epidemic in China // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 210–220. doi: 10.15789/2220-7619-BIW-1453

© Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-BIW-1453>

control measures were implemented, multi-level contact tracking system using IT technologies was organized, and the capacity of hospitals was increased many times. Through the joint efforts of ministries, mass media, social networks and volunteer movements, an unprecedented social mobilization of the population was achieved. Strict implementation of the entire set of measures aimed at fighting the epidemic allowed to take it under strict control at the third stage and practically eliminate the epidemic after 2,5 months. China's response to the COVID-19 epidemic can be useful to other countries, in fighting the current pandemic and in preparing for a response to biological threats in the future.

Key words: COVID-19, epidemic curve, SARS-CoV-2, China, epidemic control and response, coronavirus.

Спустя почти 20 лет после возникшей в китайской провинции Гуандун эпидемии тяжелого острого респираторного синдрома (TOPC, англ. SARS), вызванного коронавирусом SARS-CoV и распространившегося тогда далеко за пределы Китайской Народной Республики (КНР), человечество столкнулось с последствиями новой, еще более мощной вспышки неизвестного ранее инфекционного заболевания. Начавшись в г. Ухань — столице провинции Хубэй КНР, эта вспышка достаточно быстро приобрела общенациональные, а вскоре и общемировые масштабы, официально получив 6 марта 2020 г. статус пандемии [3]. Возбудителем заболевания оказался новый вариант коронавируса, названный впоследствии коронавирусом острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2). В ответ на эпидемию новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в КНР были предприняты беспрецедентные меры, основанные, отчасти, на уроках прошлой эпидемии SARS. Возникшая ситуация позволила оценить потенциал мобилизационных возможностей страны, новые технологии, направленные на сдерживание распространения заболевания, а также извлечь уроки на будущее, внеся соответствующие корректизы в планы подготовки к пандемии.

В основу предлагаемой вниманию читателей статьи положен опыт собственной работы авторов в составе объединенной технической миссии ВОЗ–КНР в феврале 2020 г. в Китае, а также данные научных публикаций, посвященных описанию эпидемии COVID-19 и SARS. Проведен анализ эпидемического процесса COVID-19, мер, направленных на предотвращение и контроль эпидемии в КНР.

Пандемия SARS-CoV-2 стала событием, оказавшим глубочайшее влияние на национальные и мировые системы здравоохранения, а также на экономические, политические и культурные аспекты жизни населения всех континентов.

Во время эпидемии SARS в Китае данные о кластерах атипичной пневмонии, возникавших с ноября 2002 по январь 2003 г. в районных школах г. Гуанчжоу провинции Гуандун долго не предавались гласности. Впервые они стали доступны мировой общественности только 10 февраля 2003 г., когда на сайте ProMED-mail появилось сообщение о случаях атипичной пневмонии в Гуанчжоу. Первоначально эту информацию обнаружил в учительском чате преподаватель школы из Калифорнии. Он переслал

Nearly 20 years after the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) pandemic caused by the SARS-CoV coronavirus in the Chinese province of Guandun, a much more powerful pandemic hit the whole world. Starting in Wuhan, the capital of the Hubei province, the epidemic quickly gained national and then worldwide scale, turning into a pandemic by March 6, 2020 [3]. The PRC has taken unprecedented measures in response to the epidemic of a new coronavirus infection, based, in part, on the past SARS epidemic lessons. The current pandemic made it possible to assess the potential of the country's mobilization opportunities, new technologies aimed at curbing the spread of the disease, and also to draw lessons for the future, allowing appropriate corrections to be made in plans for preparing for the pandemic.

The article is based on the experience of the authors' own work as part of the WHO–China joint technical mission in China in February 2020, as well as scientific publications on the description of the COVID-19 epidemic and SARS. The analysis of the epidemic process COVID-19, measures aimed at preventing and controlling the epidemic in China.

The pandemic of new coronavirus classified as SARS-CoV2 was an event that had a profound impact not only on national and world health systems, but also on the economic, political and cultural aspects of the lives of all continent's citizens.

During the SARS pandemic in China, data on atypical pneumonia clusters that began in the period of November 2002 — January 2003 in district schools in Guangzhou were not made public for a long time. For the first time, they became available to the world public only on February 10, 2003, when a message about SARS in Guangzhou appeared on the ProMED-mail site. Initially, this information was discovered in a teacher's chat by a school teacher from California. He sent the information to a familiar epidemiologist, who, in turn, sent it to ProMED-mail [14].

At that time, 300 sick people and 5 dead were already registered in the province. On February 11, in response to a request from WHO (immediately following the release of ProMED-mail), the Ministry of Health of China announced that it was investigating the outbreak and that the situation was under control. 02/14/2003 China CDC also confirmed that "contrary to rumors, the situation is under control". And on February 21, a 64-year-old doctor from Guangzhou province who was treating patients with SARS symptoms went to the Metropol Hotel in Hong Kong and infected 16 other hotel guests, which subse-

сведения знакомому эпидемиологу, который, в свою очередь, отправил их в ProMED-mail [9].

На тот момент в провинции уже было зарегистрировано 300 заболевших и 5 умерших. 11 февраля, в ответ на немедленно последовавший после выпуска ProMED-mail запрос ВОЗ, Министерство здравоохранения Китая сообщило, что оно занимается расследованием этой вспышки и ситуация находится под контролем. 14.02.2003 г. CDC Китая также подтвердило, что «вопреки слухам, ситуация под контролем». 21 февраля 64-летний врач из г. Гуанчжоу, лечащий пациентов с симптомами ОРВИ, отправился в Гонконг, остановился в отеле «Метрополь» и инфицировал 16 других гостей отеля, что впоследствии привело к распространению инфекции в 29 странах мира, заражению более 100 медработников и развитию глобальной эпидемии SARS. Таким образом, несвоевременное информирование о ситуации, представлявшей угрозу здоровью населения в международном масштабе, привело к полной неготовности стран и отсутствию настороженности у медработников.

В отличие от ситуации 2003 года, информацию о COVID-19 органы здравоохранения КНР сразу сделали открытой для мирового сообщества, что позволило властям многих стран мира своевременно принять меры и подготовить собственные системы здравоохранения к борьбе с заболеванием.

Хронология развития эпидемии COVID-19 в КНР была следующей. 30 декабря 2019 г. Уханьский муниципальный комитет по здравоохранению распространил сообщение особой важности, содержащее информацию о случаях заболевания пневмонией неизвестной этиологии, которые регистрировались в течение месяца в стационарах г. Уханя. На 30 декабря 2019 г. в больницах находилось 27 больных, имевших рентгенологические и томографические признаки интерстициальной пневмонии, которые обычно наблюдаются при вирусном поражении легких. У всех пациентов в дебюте заболевания отмечалась лихорадка выше 38°C, лейкопения, лимфопения, у некоторых развивался острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). На фоне антибиотикотерапии в течение 3–5 дней существенного улучшения состояния не отмечалось. Сначала считали, что первые случаи заболевания были связаны с посещением или торговлей на Уханском рынке морепродуктов, где осуществлялась продажа диких живых и только что убитых животных [2, 10, 14]. В последствии выяснилось, что случаи атипичной пневмонии регистрировались еще с начала декабря 2019 года, за 1–2 недели до вспышки пневмонии, связанной с рынком морепродуктов, и никакой эпидемиологической связи с ним не имели [4].

Сообщалось также о внутрисемейных и внутрибольничных случаях инфицирования, в том числе среди медицинских работников [2, 5].

sequently led to the spread of infection in 29 countries of the world, infection of more than 100 health workers and development of SARS pandemics. Thus, untimely reporting of a situation that poses a threat to public health at the international level has led to the complete unpreparedness of countries and the lack of alertness among health workers.

In contrast to the situation in 2003, the PRC public health authorities immediately made information about the epidemic of the new coronavirus infection (COVID-19) accessible and transparent to everyone. For many countries around the world, such information has made it possible to take timely measures and to prepare national healthcare system as much as possible for COVID-19 control.

The COVID-19 epidemic development in China chronology was as follows. December 30, 2019 Wuhan Municipal Health Committee. (Wuhan, Hubei Province, PRC) distributed a message of special importance containing information about cases of unknown etiology pneumonia, which have been sequentially recorded within a month in hospitals in Wuhan. On December 30, 2019, there were 27 patients in the hospitals who had radiological and tomographic signs of interstitial pneumonia, which are usually observed with viral damage of the lungs. In the disease debut, everyone had a fever over 38,0°C; leukopenia, lymphopenia, some developed acute respiratory distress syndrome (ARDS). Against the background of antibiotic therapy, the condition did not improve significantly within 3–5 days. At first, it was believed that the first cases of the disease were associated with visiting or trading in the Wuhan seafood market, where wild live and freshly killed animals were sold [2, 15, 19]. Later it turned out that cases of COVID-19 were recorded since the beginning of December 2019, 1–2 weeks before the outbreak of pneumonia associated with the seafood market, and had no epidemiological connection with it [7].

Intra-family and nosocomial cases of infection have also been reported, including some cases amongst medical workers [2, 9].

At the beginning of January 2020, the epidemic in China began to rapidly gain momentum, spreading to all the provinces of the republic and beyond, reaching a maximum on February 4, when 3884 people were confirmed the diagnosis COVID-19 within only one day. After this date, daily morbidity rates began to decline steadily (fig. 1). The exception was February 12 and 13 (14,108 and 5090 cases were recorded, respectively). Starting from this dates for several days more in Wuhan the diagnosis was made for patients as a final only on the basis of clinical and radiological/tomographic data, without laboratory confirmation of SARS-CoV-2 RNA PCR presence.

A significant contribution to the increase of the incidence rate was made by COVID-19 cases among medical workers. In 422 medical institutions since the beginning of the epidemic as of February 11, 2020, 1716 laboratory-confirmed cases were detected among physicians, of which 5 were fatal [17]. In Wuhan

В начале января 2020 года эпидемия в Китае начала быстро набирать обороты, распространившись на все провинции республики и за ее пределы, достигнув максимума 4 февраля, когда в течение только одних суток диагноз был подтвержден у 3884 человек. С этого момента показатели ежедневной заболеваемости стали неуклонно снижаться (рис. 1). Исключение составили 12 и 13 февраля (зарегистрировано 14 108 и 5090 случаев соответственно). С 4 февраля в течение нескольких дней в г. Ухань этот диагноз ставился пациентам как окончательный только на основании клинических и рентгенологических/томографических данных, без лабораторного подтверждения.

Существенный вклад в рост заболеваемости внесли случаи COVID-19 у медицинских работников. В 422 медицинских учреждениях с начала эпидемии по состоянию на 11 февраля 2020 г. выявлено 1716 лабораторно подтвержденных случаев среди медиков, из них 5 летальных [12]. В Ухане было зарегистрировано 64% случаев, в провинции Хубэй — 23,3%, в остальных провинциях КНР — 12,7% (рис. 2). Всего на начало февраля в Китае заразилось около 0,001% населения.

Резкому перелому хода эпидемии способствовали жесткие ограничительные меры, введенные государством, экстренная всеобъемлющая диверсификация всех медицинских ресурсов и наращивание дополнительного медицинского потенциала, введения жесткого инфекционного контроля не только в ЛПУ, но и на транспорте, во всех общественных местах, а также беспрецедентная социальная мобилизация населения [15].

Став местом зарождения эпидемии, Китай, в то же время первым смог переломить характер развития эпидемического процесса и ликвидировать в стране эпидемию COVID-19.

Меры по предотвращению возникшей ситуации были приняты быстро, начиная с ранних стадий в г. Ухане и других ключевых областях провинции Хубэй, до полного контроля над те-

64% of cases were reported, 23.3% in other districts of Hubei province, and 12.7% in the rest provinces of China (fig. 2).

A sharp turnaround in the epidemic, despite the fact that only about 0.001% of total population was infected in China at the beginning of February, was reached by strong restrictive measures introduced by the Government, urgent comprehensive diversification of all medical resources and building up additional medical potential, and introducing strict infection control not only in hospitals, but also in transport, in all public places, as well as an unprecedented social mobilization of the population [20].

Having become the birthplace of the epidemic, China, at the same time, was the first to turn the tide of the epidemic process development and became close to COVID-19 epidemic elimination in the country.

Prevention and control measures were taken quickly from the early epidemic stages in Wuhan and other key areas of Hubei Province to full control of the current national epidemic. This was mainly done in three stages, and two important events can be used to identify several stages.

Epidemic Prevention and Control Phase One

Firstly, information on the pneumonia clusters on January 9, 2020 of the epidemic was quickly brought to the WHO attention [21]. In a press release, WHO noted that “Chinese scientists conducted a preliminary determination of new coronavirus detected in a patient who was hospitalized with pneumonia in Wuhan performing complete sequencing of the virus’s genes using an isolate from a single positive patient sample. The preliminary identification of a new virus in a short period of time is a notable achievement and demonstrates China’s increased potential to combat new outbreaks”.

Secondly, on January 20, a new coronavirus infection was included in the mandatory report on class B infectious diseases and borderline quarantine infectious diseases, as a result of which COVID-19 began to be monitored and quarantined at transport hubs in accordance with the law. This marked the transi-

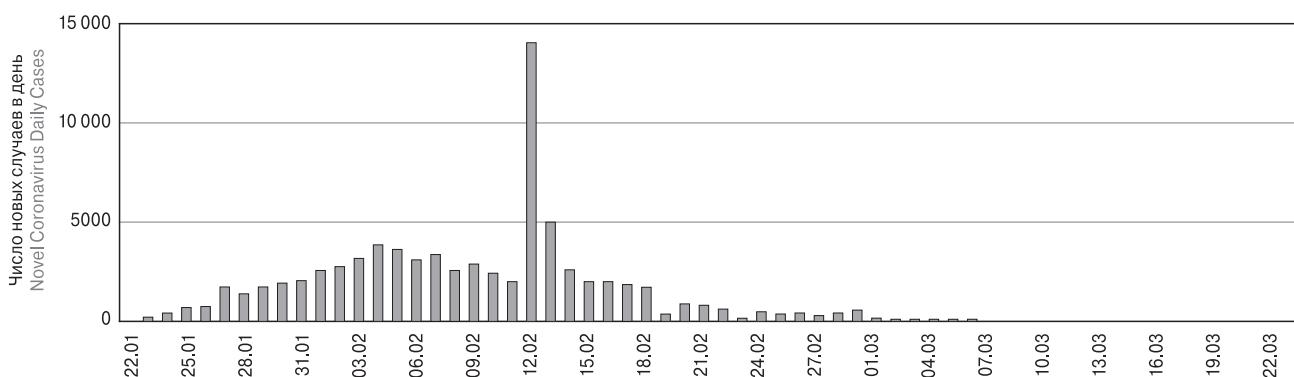


Рисунок 1. Эпидемическая кривая заболеваемости COVID-19 в КНР (по данным сайта www.worldometers.info)

Figure 1. COVID-19 morbidity epidemic curve in China (according to www.worldometers.info [<https://www.worldometers.info/coronavirus/country/china>])

кущей национальной эпидемией. В основном это было сделано в три этапа, которые разграничены между собой двумя важными событиями, одно из которых завершило первый этап, а другое стало границей, отметившей переход от второго этапа борьбы с эпидемией к третьему.

Первый этап мер по предотвращению и контролю над эпидемией

Во-первых, информация о кластерах пневмонии 9 января 2020 года была своевременно доведена до сведения ВОЗ [16]. В своем пресс-релизе ВОЗ отметила, что «китайские ученые провели предварительное определение нового коронавируса, выявленного у госпитализированного с пневмонией пациента в г. Ухань, выполнив полное секвенирование генов вируса, используя изолят из одного положительного образца пациента. Предварительная идентификация нового вируса за короткий промежуток времени является заметным достижением и демонстрирует возросший потенциал Китая в борьбе с новыми вспышками».

Во-вторых, 20 января новая коронавирусная инфекция была включена в обязательный отчет об инфекционных заболеваниях класса В и карантинных инфекционных заболеваниях по-границного уровня, в результате чего COVID-19 начал подвергаться мониторингу и карантину на транспортных узлах. Это ознаменовало переход от первоначального частичного контроля к всестороннему принятию различных мер контроля в соответствии с законом. 23 января 2020 года правительство КНР ввело строгие меры социального дистанцирования и ограничения движения сначала в Ухане, где возникла вспышка, а затем и в других регионах. Протоколы

перешли от начальной частичной контрольной меры к полному применению различных мер в соответствии с законом. На 23 января 2020 года Китайское правительство ввело строгие меры социального дистанцирования и ограничения движения сначала в Ухане, где возникла вспышка, а затем и в других регионах. Протоколы перешли от начальной частичной контрольной меры к полному применению различных мер в соответствии с законом. На 23 января 2020 года Китайское правительство ввело строгие меры социального дистанцирования и ограничения движения сначала в Ухане, где возникла вспышка, а затем и в других регионах. Протоколы

Thirdly, the State Council of the People's Republic of China issued on February 8, 2020, "A notice on streamlining work on the resumption of production and the resumption of labor at enterprises," which states that China's work to control national defense has entered the stage of nationwide priority on prevention epidemics and combating them for the comprehensive restoration of normal socio-economic operations.

At an early stage of the outbreak the main strategy focused on preventing the export of cases from Wuhan and other priority areas of Hubei Province and preventing the import of cases to other provinces. These measures helped to control the source of infection and prevent its further transmission and spread. A response mechanism was initiated with the participation of many sectors in joint prevention and control. Markets selling animal products were closed and efforts were made to identify pathogens. The entire genome of the COVID-19 virus was transferred to WHO. The protocols for diagnosis and treatment, epidemiological surveillance, epidemiological investigation, close contact and laboratory tests were formulated, and appropriate surveillance activities and epidemiological studies were carried out. Diagnostic test kits were developed, and wildlife and livestock markets were subjected to rigorous surveillance and control.

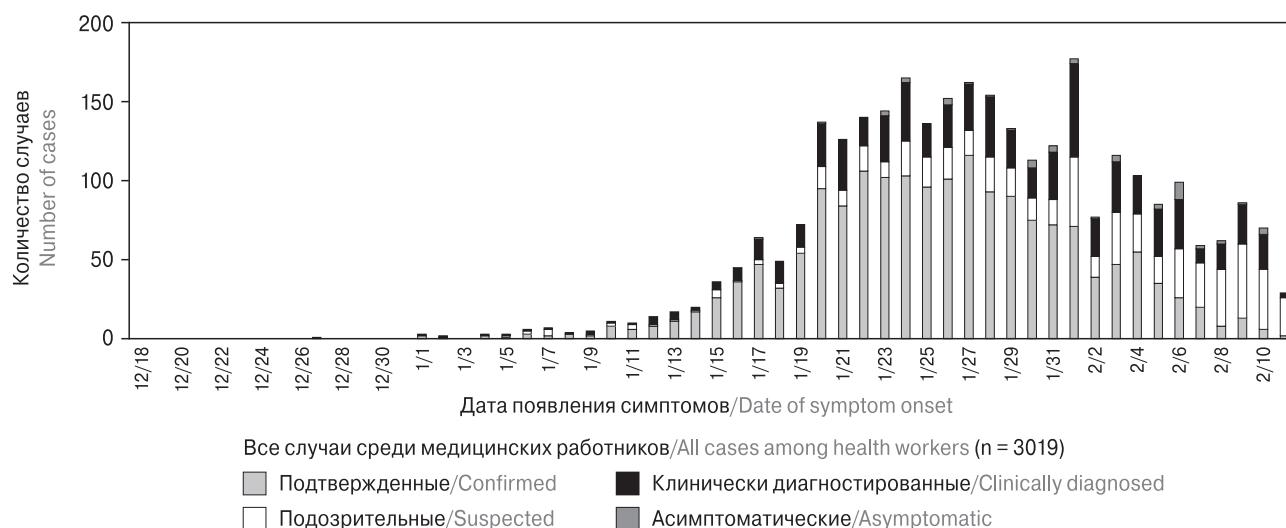


Рисунок 2. Число случаев заболевания у медицинских работников во время эпидемии COVID-19 в КНР по состоянию на 11.02.20 [17]

Figure 2. The number of cases in health workers in COVID-19 epidemic in China as of 02/11/20 [17]

по диагностике и лечению, а также по профилактике и контролю эпидемий были улучшены, а изоляция и лечение больных были усилены. Принятые меры практически незамедлительно сказались на эпидемической кривой, которая пошла вниз уже с начала февраля 2020 года.

В-третьих, Государственный совет КНР, издал 8 февраля 2020 г. «Уведомление об упорядочивании работ по возобновлению производства и возобновлению труда на предприятиях», в котором отмечается, что работа Китая по контролю за национальной обороной вступила в стадию общенационального приоритета вопросов по предотвращению эпидемий и борьбы с ними для комплексного восстановления нормальных социально-экономических операций.

На ранней стадии вспышки основной стратегией было предотвращение вывоза случаев из Ухани и других приоритетных областей провинции Хубэй и предотвращении ввоза случаев в другие провинции, что способствовало контролю источника инфекции и предотвращению дальнейшей ее передачи и распространения. Механизм противодействия эпидемии и реагирования на угрозу ее распространения был запущен при участии многих секторов экономики, государственных структур, волонтерских движений, участвовавших в совместной профилактике и контроле распространения заболевания. Рынки, торгующие продуктами животного происхождения, были закрыты и предприняты меры для выявления патогенных микроорганизмов. Последовательности всего генома вируса COVID-19 были переданы в ВОЗ. Были сформулированы протоколы диагностики и лечения, эпидемиологического надзора, эпидемиологического расследования, ведения тесных контактов и лабораторных испытаний, а также были проведены соответствующие надзорные мероприятия и эпидемиологические исследования. Были разработаны наборы для диагностического тестирования, а рынки дикой природы и живой птицы были подвергнуты строгому надзору и контролю.

Второй этап мер по предотвращению и контролю над эпидемией

На следующем этапе основной стратегией было снижение интенсивности эпидемии и замедление роста заболеваемости. Произошла перезагрузка всей системы здравоохранения: стало осуществляться бесплатное оказание медицинской помощи пациентам с COVID-19, обеспечивались строжайшие меры инфекционного контроля, введено многоуровневое отслеживание контактов с помощью IT-технологий, организовано многократное нарашивание мощности госпиталей. В Ухане и других приоритетных областях провинции Хубэй основное внимание уделялось активному лечению пациентов, сни-

The second stage of measures to prevent and control the epidemic

At the next stage the main strategy was to reduce the epidemic intensity and slow down the incidence increase. The entire health care system was rebooted: medical care for patients with COVID-19 was provided free of charge and strict infection control measures were provided, multi-level contact tracing using IT technologies, multiple capacity building of hospitals was organized, in Wuhan and other priority areas of Hubei province active treatment of patients, reducing mortality and preventing the removal of patients. In other provinces, emphasis was placed on the prevention of entry, the suppression of the spread of infection, and joint prevention and control. At the national level wildlife markets were closed and wildlife breeding facilities were not only closed, but also isolated.

Measures have been taken to ensure that all cases are cured and close contacts are placed under isolated medical supervision. The measures taken included the extension of Spring Festival weekend, the control of movement on roads and the introduction of an examination of citizens' movement validity at temporary and permanent checkpoints in order to reduce the socially insignificant movement of people, as well as to cancel mass events and gathering of citizens, associated with the risk of spread of infection. Information on the epidemic and measures to prevent and control it was regularly published. Strengthening public relations and public health education was also accompanied by a coordinated distribution of medical supplies and goods, the construction of new hospitals, the use of reserved beds the edges of which were redistributed to ensure the treatment of all cases; efforts were made to maintain a stable supply of essential goods and prices to ensure the smooth operation of society.

A significant event in the turn of the COVID-19 epidemic was the fact that on January 22, 2020, after understanding the outbreak severity, the National Health Safety Administration and the Ministry of Finance issued a notification guaranteeing that the medical expenses of all patients with confirmed COVID-19 will be subsidized by the Government. This policy was later extended to all suspicious cases [13]. Removing the catastrophic medical expenses of low-income groups removed financial barriers for patients with confirmed and suspected cases of COVID-19, allowed them to immediately seek medical help, and also protected them from serious financial expenses.

During the COVID-19 epidemic in the PRC it was necessary for citizens to voluntarily and simultaneously implement and assist the government's initiative to isolate the virus spreading such as keeping the social distance, staying at home, washing hands frequently, etc. It should be noted the unprecedented social mobilization of the population, clearly and rigorously complying with all the prescribed quarantine measures: universal hygiene of the hands, constant wearing of masks when leaving the apartment/house, strict adherence to restrictions on movement around the city.

жению смертности и предотвращению вывоза больных. В других провинциях акцент делался на предотвращении ввоза, пресечении распространения инфекции, совместной профилактике и контроле. На национальном уровне рынки дикой природы были закрыты, а помещения для разведения диких животных не только закрыты, но и изолированы.

Были принятые меры для обеспечения того, чтобы все больные с COVID были вылечены, а тесные контакты были поставлены под изолированное медицинское наблюдение. Принятые меры включали в себя продление выходных дней в честь Весеннего праздника, контроль и проверка обоснованности передвижения граждан, досмотр на временных и постоянных контрольно-пропускных пунктах, с тем чтобы уменьшить социально малозначимое перемещение людей, а также отменить массовые мероприятия и сбор граждан, связанные с риском распространения инфекции. Информация об эпидемии и мерах профилактики и борьбы с ней регулярно публиковалась. Усиление связи с общественностью и санитарное просвещение населения сопровождалось также координированным распределением предметов и товаров медицинского назначения, строительством новых больниц, использованием зарезервированных коек. Кроме того были перераспределены соответствующие помещения, чтобы обеспечить лечение всех случаев COVID-19; были предприняты усилия для поддержания стабильного предложения товаров первой необходимости и цен на них, чтобы обеспечить бесперебойную работу общества.

Существенным событием в переломе эпидемии COVID-19 стало то, что 22 января 2020 года, после осознания серьезности вспышки, Национальное управление безопасности здравоохранения и Министерство финансов выпустили уведомление, гарантировавшее, что медицинские расходы всех пациентов, у которых подтвержден COVID-19, будут субсидироваться правительством. Эта политика была позже распространена на все подозрительные случаи [8]. Снятие с малообеспеченных слоев населения катастрофических для них медицинских расходов устранило финансовые барьеры для пациентов с подтвержденными и подозреваемыми случаями COVID-19, позволило им незамедлительно обращаться за медицинской помощью, а также защитило от серьезных финансовых трат.

Во время эпидемии COVID-19 в КНР было чрезвычайно важно и необходимо добровольное и одновременное соблюдение гражданами правительственные мер по нераспространению вируса, таких как социальное дистанцирование, пребывание дома, частое мытье рук и т.д. Следует отметить беспрецедентную социальную мобилизацию населения, четко и неукоснительно соблюдавшего все предписанные меры карантина: повсеместное соблюдение гигиены рук, постоянно

In the social mobilization through the popular social media platforms in China (WeChat, QQ, Weibo, etc.), the “we-government” platform also took part to coordinate the volunteer movement and feedback exchange with/from government agencies, allowing them to instantly evaluate public reaction to government decisions. Employees of the «Internet government» platform have shown that if most people adhere to hygiene rules proposed by the government that interrupt the COVID-19 spreading and actively ask others to follow these rules by exchanging information on social networking platforms, the distribution of COVID-19 is successfully controlled [10, 16].

The media and social networks constantly informed the public about specific recommendations on how to sterilize hands or put on and take off masks. Due to informing the population about the course of the epidemic and the measures taken by government structures was transparent and timely there were no panic statements, groundless slogans and intimidation. Informing the population was carried out in public transport, supermarkets, pharmacies, medical institutions, hotels and other public places. The delivery services for food and medicine and the evacuation of household waste worked perfectly. Upon entering all public places non-contact thermometry was performed. It should be noted that residents of China in large cities mainly live in condominiums with a fenced area. At the entrance to such a residential quarter thermometry was also carried out, taking into account all incoming and outgoing from it. Entrance and exit was carried out strictly according to passes of different colors, depending on the reason for movement. Volunteers worked in each condominium conducting thermometry of people who are in home quarantine and providing their vital needs.

Epidemic Prevention and Control Phase Three

At the final stage, the activities focused on reducing the number of cases carefully monitoring the epidemic and achieving a balance between prevention and control of the epidemic and sustainable economic and social development with a single command, highly qualified leadership and the implementation of science-based policies. In Wuhan and other priority areas of Hubei Province the focus has been on treating patients and interrupting transmission with emphasis on concrete steps to take appropriate measures to test, receive and treat patients. An approach based on risk assessment and prevention was adopted with differentiated measures of prevention and control for different regions. Relevant measures have been strengthened in the areas of epidemiological investigation, case management and epidemic prevention in high-risk public places. All sequentially taken measures, as a result, allowed the PRC to successfully deal with the epidemic and remove the national quarantine on March 25.

At all stages of the epidemic response there was a clear coordination of the ministries and departments

янное ношение масок при выходе из квартиры/дома, строгое соблюдение режима ограничений передвижения по городу.

В социальной мобилизации через популярные платформы социальных медиа в Китае (WeChat, QQ, Weibo и др.) также принимала участие платформа «интернет-правительства» (wegovernement) для координации волонтерского движения и обратной связи с государственными структурами, позволяющая моментально оценить реакцию общества на решения правительства. Сотрудниками платформы «интернет-правительства» было показано, что если большинство людей придерживаются предложенных правительством правил гигиены, прерывающих пути распространения COVID-19, и активно просят других следовать этим правилам, обмениваясь информацией на платформах социальных сетей, распространение COVID-19 успешно контролируется [6, 11].

СМИ и социальные сети проводили постоянное информирование населения о правилах обработки рук, надевания и снятия масок. Своевременно, без панических заявлений, беспочвенных лозунгов и устрашений, населению сообщалось о ходе эпидемии, мерах, принимаемых правительственными структурами. Актуальная информация транслировалась в общественном транспорте, супермаркетах, аптеках, медицинских учреждениях, отелях и других общественных местах. Четко работали службы доставки продуктов и медикаментов, эвакуации бытовых отходов. При входе во все общественные места проводилась бесконтактная термометрия. Следует отметить, что жители КНР в крупных городах, в основном, живут в кондоминиумах с огороженной территорией. При входе в такой жилой квартал также проводилась термометрия, учет всех входящих и выходящих из него. Вход и выход осуществлялся строго по пропускам разного цвета в зависимости от причины передвижения. В каждом кондоминиуме работали волонтеры, проводившие термометрию лиц, находящихся на домашнем карантине, и обеспечивавшие их жизненные потребности.

Третий этап мер по предотвращению и контролю над эпидемией

На заключительном этапе мероприятия были сосредоточены на сокращении числа кластеризованных групп случаев, тщательном контроле эпидемии и достижении баланса между профилактикой и контролем эпидемии и устойчивым экономическим и социальным развитием, с единым командованием, высококвалифицированным руководством и реализацией политики, основанной на научных данных. В Ухане и других приоритетных областях провинции Хубэй основное внимание уделялось лечению пациентов и прекращению передачи инфекции, с акцентом на кон-

involved in the work to eliminate the COVID-19 epidemic. Interagency coordination has become one of the priorities of Chinese authorities. The operational headquarters was created in the early days of the epidemic and coordinated the activities of the Ministry of Health, the Center for Disease Control, the Ministry of Science and Technology, the Ministry of Forestry and Natural Resources, the Ministry of Internal Affairs, the Ministry of Transport and Communications and other ministries and departments involved in the epidemic elimination.

Development and application of new technologies in epidemic control activities

During the epidemic, advanced computer technologies were urgently developed and put into practice. In particular, the use of big-data analysis systems and artificial intelligence was used to strengthen contact tracking and management of priority (high-risk) population groups. Relevant medical insurance policies were transferred to the mode of “paying for medical insurance regardless of the place of issue and the amount of insurance coverage”.

All provinces supported Wuhan and the most affected areas in Hubei Province to quickly curb the disease spread and ensure timely treatment. More than 42,000 doctors and nurses were mobilized to help local health professionals. Medical and social services were provided with mobilized for help and appropriately organized groups of volunteers, who patronize people at risk who are in quarantine, as well as resolve emergency situations for other groups of the population, who worked in a targeted and comprehensive way.

The work of enterprises and organizations resumed in stages and by parties. Also, normal social activity in the country was gradually restored. Disease prevention knowledge is being popularized to improve literacy and public health skills. A comprehensive emergency research program is underway in the development of diagnostics, drugs and vaccines determining the characteristics of the course of diseases and identifying the source of the virus.

At the moment when China was confronted with the COVID-19 epidemic there were no therapeutic agents that reasonably claimed etiotropic based on in vivo and in vitro studies. Initially clinicians turned to the methods of therapy used for SARS therapy, also used for MERS (in the absence of any clinical efficacy data) — ribavirin, interferon alfa and beta, oseltamivir, lopinavir/ritonavir. In parallel, an urgent search for drugs that violate the process of virus penetration into the cell and its replication mechanism began [8]. Along with experimental work in China, more than 100 clinical trials were simultaneously launched to evaluate the effectiveness of the antiviral therapy COVID-19, including intranasal alpha interferons, ribavirin, lopinavir/ritonavir, arbidol, chloroquine phosphate, sofosbuvir, remdesivir, interferon- β 1b convalescents, monoclonal antibodies, etc. Their results should be known soon [5, 11].

крайние шаги по реализации соответствующих мер при тестировании, приеме и лечении пациентов. Подход, основанный на оценке риска и профилактике, был принят с дифференцированными мерами профилактики и контроля для разных регионов. Соответствующие меры были усилены в области эпидемиологического расследования, ведения случаев заболевания и предотвращения эпидемий в общественных местах высокого риска. Все последовательно принятые меры, в итоге, позволили КНР успешно справиться с эпидемией и 25 марта снять национальный карантин.

На всех этапах противодействия эпидемии существовала четкая координация министерств и ведомств, вовлеченных в работу по ликвидации эпидемии COVID-19. Межведомственная координация стала одной из приоритетных задач китайских властей. Оперативный штаб был создан в первые дни эпидемии и координировал действия Министерства здравоохранения, Центра по контролю за заболеваемостью, Министерства науки и технологий, Министерства лесного хозяйства и природных ресурсов, Министерства внутренних дел, Министерства транспорта и связи и других министерств и ведомств, участвовавших в работе по ликвидации эпидемии.

Разработка и применение новых технологий в мероприятиях по контролю над эпидемией

В ходе эпидемии были экстренно разработаны и внедрены в практику передовые компьютерные технологии. В частности, использованы системы анализа больших данных (big data) и искусственный интеллект, для усиления отслеживания контактов и управления приоритетными группами населения. Соответствующие полисы медицинского страхования были переведены в режим «оплаты медицинского страхования вне зависимости от места выдачи и суммы страхового покрытия».

Все провинции оказали поддержку Ухани и наиболее пораженным районам в провинции Хубэй, чтобы быстро обуздить распространение болезни и обеспечить своевременное лечение заболевших. Было мобилизовано более 42 000 врачей и медицинских сестер на помощь специалистам местной системы здравоохранения. В помощь медицинским и социальным службам предоставлялись мобилизованные для помощи и соответствующим образом организованные группы волонтеров, осуществлявшие патронаж людей из групп риска, находящихся в карантине, а также помогавшие решить другие проблемы (в том числе и проблемы, возникавшие экстренно у всех групп граждан). Обученные и тренированные волонтеры работали комплексно и профессионально, что говорит о высоком уровне подготовки участников волонтерского движения.

Also as soon as possible efforts were made to create PCR test systems, their accelerated development and production in order to provide all provinces of China with diagnostic kits [4]. During the January 2020 it was possible not only to develop 8 diagnostic kits but also to expand their production with a capacity up to 1,650,000 tests per week. During the period from January to March 2020, it was possible to develop and begin production of both quick tests based on the ICA technology and ELISA tests for serological screening and assessment of collective immunity of convalescents and contact persons [4, 6].

Discussion

In the context of an epidemic or pandemic the clear, efficient and transparent interaction of interdepartmental structures and the axis “the whole government — the whole society” is of particular importance.

Outbreak financial protection matters. At the initial stage of COVID-19 epidemic in the PRC out-of-pocket expenses created a significant financial burden for low-income, socially vulnerable groups of the population that already had severe clinical symptoms, even for those covered by the social health insurance system.

Social mobilization of the population plays a paramount role in controlling the epidemic. Social networks can be a useful channel for people with good Internet literacy, but for those who do not have access to the Internet, especially among older people. Broad information coverage is required both through the media and social networks.

In addition, timely treatment also depends on the effective functioning of communities. Lack of community capacity and social mobilization in remote subsidized areas and regions may be another key vulnerability for providing timely care to patients.

In addition to directly affecting the health of vulnerable populations, the epidemic will inevitably have long-term socio-economic consequences for both the people and the communities in which they live. For example, it is believed that the outbreak of cholera in London in 1854 still has negative economic consequences for some areas and the city [1].

The epidemic has seriously affected the livelihoods of vulnerable groups living in poor areas. Quarantine led to the breakdown of transmission chains of infection, but also brought serious economic damage, especially to small businesses. Reduced income, in turn, will harm future health [12]. Comprehensive support is needed from the state for vulnerable small businesses to minimize the future negative consequences of the impact of the COVID-19 epidemic on the nation health [18].

Further research is needed both in relation to the evolution, epidemiology of the virus, the pathogenesis of COVID-19, the improvement of diagnostic methods, the development of etiotropic therapy and COVID-19 prevention. Careful analysis is the key to understanding all the social and economic conse-

Работа предприятий и организаций возобновлялась поэтапно и партиями. Также постепенно восстанавливается нормальная социальная деятельность в стране. Осуществляется популяризация знаний о профилактике заболеваний с целью повышения уровня медицинской грамотности и поддержания навыков общественного здравоохранения. Проводится комплексная программа научных исследований в области чрезвычайных ситуаций, разработки средств диагностики, лечения и профилактики, определение особенностей течения заболеваний и выявление источника вируса.

Обсуждение

В условиях эпидемии и пандемии особое значение имеет четкое, оперативное и открытое взаимодействие межведомственных структур и оси «все правительство — все общество».

Важное значение во время вспышек имеет финансовая защита. На начальном этапе эпидемии COVID-19 в КНР расходы из собственного кармана создавали существенное финансовое бремя для малообеспеченных, социально-язвимых групп населения уже имевших выраженную клиническую симптоматику, даже для тех, кто был охвачен системой социального медицинского страхования.

Социальная мобилизация населения играет первостепенную роль в контроле над эпидемией. Социальные сети могут быть полезным каналом для людей с хорошей интернет-грамотностью, но для тех, у кого нет доступа к Интернету, особенно среди пожилых людей. Необходим широкий информационный охват как через СМИ, так и через социальные сети.

Кроме того, своевременное лечение также зависит от эффективной работы сообществ. Отсутствие потенциала сообщества и социальной мобилизации в удаленных дотационных районах и регионах, могут быть еще одним ключевым уязвимым местом для оказания своевременной помощи пациентам.

Помимо непосредственного воздействия на здоровье уязвимых групп населения, эпидемия неизбежно будет иметь долгосрочные социально-экономические последствия как для людей, так и для сообществ, в которых они живут. Например, считается, что вспышка холеры в Лондоне в 1854 году все еще имеет негативные экономические последствия для некоторых районов и города [1].

Эпидемия серьезно затронула источники средств к существованию уязвимых групп на-

quences of the epidemic and the development of optimal preparation and response plans aimed at preventing future epidemics and pandemics.

Conclusions

Clear interaction between ministries and departments, government and society, strong restrictive measures, social mobilization of the population and tracking contacts using new computer technologies, as well as ensuring the state all medical expenses during the epidemic, play a key role in its elimination. Equally important for mitigating the epidemic effects is government support for the most vulnerable sectors of the population and small business structures.

селения, проживающих в бедных районах. Карантин привел к разрыву цепочек передачи инфекции, но принес и серьезный экономический урон, в особенности малому бизнесу. Сокращение доходов, в свою очередь, нанесет ущерб будущему здоровью [7]. Необходима всесторонняя поддержка со стороны государства уязвимых структур малого бизнеса для минимализации будущих негативных последствий влияния эпидемии COVID-19 на здоровье нации [13].

Необходимо продолжение научных исследований эволюции, эпидемиологии вируса SARS-CoV-2, патогенеза COVID-19, совершенствование методов диагностики, разработке этиотропной терапии и профилактике COVID-19. Немаловажными являются также анализ социальных и экономических последствий эпидемии и разработка оптимальных планов подготовки и ответных действий, направленных на предотвращение эпидемий и пандемий будущего.

Выходы

Четкое взаимодействие между министерствами и ведомствами, а также между правительством и обществом, строгие ограничительные меры, социальная мобилизация населения и отслеживание контактов с использованием новых компьютерных технологий, а также обеспечение государством всех медицинских расходов в период эпидемии играют ключевую роль в ее ликвидации. Немаловажное значение для смягчения последствий эпидемии имеет поддержка государством наиболее уязвимых слоев населения и структур малого бизнеса.

Список литературы/References

1. Ambrus A., Field E., Gonzalez R. Loss in the time of cholera: long-run impact of a disease epidemic on the urban landscape. *Am. Econom. Rev.*, 2020, vol. 110, no. 2, pp. 475–525. doi: 10.1257/aer.20190759
2. Chan J.F.W., Yuan S., Kok K.H., To K.K.W., Chu H., Yang J., Tsui H.W. A familial of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*, 2020. doi: 10.1093/infdis/jiaa077
3. Cucinotta D., Vanelli M. WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomed.*, 2020, vol. 91, no. 1, pp. 157–160. doi: 10.23750/abm.v9Ii1.9397
4. Diagnosis and treatment protocol for novel coronavirus pneumonia (Trial Version 6, Revised). *The General Office of National Health Commission* 18 February 2020, 13p.
5. Elfiky A. Sofosbuvir can inhibit the newly emerged coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *China* (1/20/2020).
6. Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S., Tan Y.Y., Chen S.D., Jin H.J., Tan K.S., Wang D.Y., Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med. Res.*, vol. 7, no. 1: 11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0
7. Kon W., Agarwal P.P. Chest imaging appearance of COVID-19 infection. *Radiol. Cardiothorac. Imaging*, 2020, vol. 2, no. 1: e200028. doi: 10.1148/rct.2020200028
8. Li H., Wang Y.M., Xu J.Y., Cao B. Potential antiviral therapeutics for 2019 Novel Coronavirus. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi = Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, vol. 43, no. 3, pp. 170–172. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.004
9. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Xing X. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.*, 2020, no. 382, pp. 1199–1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316
10. Linders D. From e-government to we-government: defining a typology for citizen coproduction in the age of social media. *Government Information Quarterly*, 2012, vol. 29, no. 4, pp. 446–454. doi: 10.1016/j.giq.2012.06.003
11. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *BioScience Trends*, 2020. doi: 10.5582/bst.2020.01020
12. Marmot M. The influence of income on health: views of an epidemiologist. *Health Affairs*, 2002, vol. 21, no. 2, pp. 31–46.
13. National Healthcare Security Administration. URL: http://www.gov.cn/xinwen/2020-01/30/content_5473177.htm (02.04.2020).
14. ProMED-mail. Pneumonia — China (Guangdong): RFI; ProMED-mail 2003; 10 Feb:2003 20030210.0357.
15. ProMED-mail. Undiagnosed pneumonia — China (HU): RFI. ProMED-mail 2019; 30 Dec:2019 1230.6864153.
16. Rong K., Zhou D., Tang K. We-governance and the block of COVID-2019 27.03.2020. URL: <https://ssrn.com/abstract=3560879> (02.04.2020).
17. The novel coronavirus pneumonia emergency response epidemiology team. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases COVID-19. *China CCDC Weekly*, 2020, no. 2, pp. 1–10. URL: <http://weekly.chinacdc.cn/en/article/id/e53946e2-c6c4-41e9-9a9bfea8db1a8f51> (02.04.2020).
18. Wang Z., Tang K. Combating COVID-19: health equity matters. *Nature Med.*, 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0823-6
19. World Health Organization. Pneumonia of unknown cause — China. URL: www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en (02.04.2020).
20. World Health Organization. Report of the WHO-China joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). 16–24 February 2020. URL: <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf> (02.04.2020).
21. World Health Organization. WHO statement regarding cluster of pneumonia cases in Wuhan, China. 9 January 2020. URL: <https://www.who.int/china/news/detail/09-01-2020-who-statement-regarding-cluster-of-pneumonia-cases-in-wuhan-china> (02.04.2020).

Авторы:

Семенов А.В., д.б.н., зам. директора по инновационной работе, зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Пшеничная Н.Ю., д.м.н., профессор, зав. отделом международного сотрудничества ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Минздрава России, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Semenov A.V., PhD (Biology), Deputy Director for Innovation, Head of the Laboratory of Virology and Immunology HIV, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Pshenichnaya N.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of International Collaboration, National Research Medical Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation; Leading Researcher, Central Research Laboratory, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation.

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И СОВРЕМЕННАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ КОРОНАВИРУСОВ (*NIDOVIRALES: CORONAVIRIDAE*)

М.Ю. Щелканов^{1,2,3}, А.Ю. Попова^{4,5}, В.Г. Дедков⁶, В.Г. Акимкин⁷, В.В. Малеев⁷

¹Международный научно-образовательный центр биологической безопасности Роспотребнадзора в Дальневосточном федеральном университете, г. Владивосток, Россия

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

³ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, г. Владивосток, Россия

⁴Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

⁵Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

⁶ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

⁷Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Возникшая на рубеже 2019–2020 гг. сначала в г. Ухань (китайской провинции Хубэй) и распространявшаяся затем во многие страны мира эпидемия COVID-19 (Coronavirus disease 2019), этиологически связанная с вирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome 2), породила новую волну интереса к коронавирусам. Первые коронавирусы — представители семейства *Coronaviridae* из отряда *Nidovirales* — были открыты еще в первой половине прошлого века. Первый коронавирус человека, HCoV-B814, был изолирован в 1965 г. и к настоящему времени не сохранился в вирусологических коллекциях. За прошедшее время произошло многократное наследование устаревших названий. К началу XXI в. коронавирусы представляли серьезную ветеринарную проблему, однако считалось, что эпидемические коронавирусы не относятся к числу особо опасных. Научному сообществу пришлось пересматривать эти представления сначала в 2002 г., когда вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) проник в популяцию людей из популяции летучих мышей в Юго-Восточной Азии, а потом в 2012 г., когда были открыты природные очаги вируса Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) на территории Аравийского полуострова. В результате активизации интереса к коронавирусам, в первые два десятилетия XXI в. было открыто большое количество новых представителей *Coronaviridae*, что потребовало нескольких ревизий таксономической структуры этого семейства. Настоящий обзор посвящен истории изучения коронавирусов и системе их современной классификации, которая сложилась на начало 2020 г. в соответствии с последними рекомендациями Международного Комитета по таксономии вирусов.

Ключевые слова: коронавирус, *Nidovirales*, *Coronaviridae*, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, COVID-19, таксономия.

Адрес для переписки:

Щелканов Михаил Юрьевич
690091, Россия, г. Владивосток, ул. Уткинская, 36.
ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае.
Тел.: 8 924 529-71-09, 8 903 268-90-98.
E-mail: adorob@mail.ru

Contacts:

Mikhail Yu. Shchelkanov
690091, Russian Federation, Vladivostok, Utkinskaya str., 36,
Center for Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory.
Phone: +7 924 529-71-09, +7 903 268-90-98.
E-mail: adorob@mail.ru

Библиографическое описание:

Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В.
История изучения и современная классификация коронавирусов
(*Nidovirales: Coronaviridae*) // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2.
С. 221–246. doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412

Citation:

Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V.
History of investigation and current classification of coronaviruses
(*Nidovirales: Coronaviridae*) // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. doi: 10.15789/2220-
7619-HOI-1412

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока»

© Щелканов М.Ю. и соавт., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HOI-1412>

HISTORY OF INVESTIGATION AND CURRENT CLASSIFICATION OF CORONAVIRUSES (*NIDOVIRALES: CORONAVIRIDAE*)

Shchelkanov M.Yu.^{a,b,c}, Popova A.Yu.^{d,e}, Dedkov V.G.^f, Akimkin V.G.^g, Maleev V.V.^g

^a International Scientific and Educational Center for Biological Security of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation

^b Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of RAS, Vladivostok, Russian Federation

^c Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory, Vladivostok, Russian Federation

^d Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Moscow, Russian Federation

^e Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

^f St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^g Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

Abstract. An epidemic of COVID-19 (Coronavirus disease 2019) etiologically associated with the SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) that occurred at the turn of 2019–2020 firstly in Wuhan (Hubei province of China) and then spread to many countries around the world rose a new wave of interest to coronaviruses. The first coronaviruses – members of the *Coronaviridae* family belonging to the order *Nidovirales* – were discovered in the first half of the last century. The first human coronavirus, HCoV-B814, was isolated in 1965 that was not preserved in available virological collections. Over the last time, old-fashioned names and terms have been overlapped. By the beginning of the XXI century coronaviruses posed a serious veterinary problem but it was believed that epidemic coronaviruses were not among highly dangerous viruses. Scientific community had to revise such views first in 2002 when SARS-CoV (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) was transferred to human population in the Southeast Asia from bats, and then in 2012 when natural foci of the MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) were found on the territory of the Arabian Peninsula. Due to an increased interest in coronaviruses, a large number of new Coronaviridae members was discovered in the first two decades of the XXI century, which required to revise its taxonomic structure several times. This review is aimed at outlining a history of investigating coronaviruses and their current classification that was shaped in early 2020 in accordance to the last recommendations of the International Committee on Taxonomy of Viruses.

Key words: coronavirus, *Nidovirales*, *Coronaviridae*, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, COVID-19, taxonomy.

История изучения коронавирусов началась в 1931 г., когда американские ветеринары А.Ф. Schalk и М.С. Hawn описали «новое респираторное заболевание»¹ у цыплят [107], в русскоязычной литературе получившее название «инфекционный бронхит кур» [3, 5]. Этиологический агент этого заболевания, ранее называвшийся вирус инфекционного бронхита (IBV — Infectious bronchitis virus), в настоящее время носит название коронавирус птиц (ACoV — Avian coronavirus) (*Gammacoronavirus*, *Igacovirus*)² и включает в себя прежде самостоятельные коронавирус индеек³ (TCoV — Turkey coronavirus) [26, 85] и коронавирус фазанов (PhCoV — Pheasant coronavirus) [26] (табл. 1). В СССР инфекционный бронхит кур был впервые идентифицирован в 1946 г. у цыплят, выведенных из импортированных яиц [5]. Природным резервуаром ACoV, по-видимому, являются азиатские представители семейства фазановых (*Galliformes: Phasianidae*) [19, 115]. ACoV повсеместно распространен в популяциях домашних птиц, главным образом кур (*Gallus gallus domesticus*) и индеек (*Meleagris gallopavo*), является высококонтагиозным и наносит серьезный экономический ущерб сельскому хозяйству, поражая респираторный тракт, почки

и репродуктивную систему инфицированных птиц, вызывая снижение привеса и яйценоскости взрослых особей, а также летальные (5–25%, в некоторых случаях — до 60–90%) эпизоотии у цыплят первого месяца жизни [3, 5, 19, 75, 107, 115].

В 1946 г. американские исследователи L.P. Doyle и L.M. Hutchings описали вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV — Transmissible gastroenteritis virus) [43], который широко распространен во всем мире, протекает в форме тяжелого катарально-геморрагического гастроэнтерита, профузной диареи, рвоты и характеризуется высокой летальностью (до 100%) среди поросят в возрасте до двух недель [3, 43, 102]. В 1986 г. на территории Бельгии был впервые описан родственный респираторный коронавирус свиней (PRCV — Porcine respiratory coronavirus) [95], который в отличие от TGEV поражает главным образом респираторный тракт — от верхних его отделов до легких [3, 95]. Было установлено, что PRCV не является не только самостоятельным вирусом, но даже отдельным генотипом — этот вирусный вариант идентичен TGEV и представляет собой его патотип, отличающийся делецией 227 аминокислотных остатков в N-концевой

¹ «Новым» это заболевание было названо, чтобы отличить его от описанного в 1920-х гг. заболевания, этиологически связанного с вирусом инфекционного ларинготрахеита птиц (ILT — infectious laryngotracheitis virus), который сегодня называется герпесвирус куриных 1-го типа (GaHV-1 — Gallid herpesvirus 1) (*Herpesvirales: Herpesviridae, Iltovirus*) [3, 5].

² Здесь и далее таксономическое положение коронавирусов будет указываться по сокращенному формату (*Род, Подрод*) — см. табл. 1.

³ Коронавирусный энтерит индеек, вызываемый TCoV, назывался болезнью сизого гребня (bluecomb) [5].

части S-белка [108], участвующего во взаимодействии вириона с поверхностными рецепторами клеток-мишеней. Представители семейства псовых (*Carnivora: Canidae*) способны заражаться TGEV и порядка 2 недель выделять вирус с фекалиями [77]. Однако в 1974 г. у собак был описан собственный коронавирус, вызывающий поражение кишечника [22]. Позже этот вирус тоже разделили на два патотипа, имеющие различия в аминокислотной последовательности S-гена: менее патогенный коронавируса собак 1-го типа (CCoV-1 — Canine coronavirus 1) и близкий к TGEV более патогенный CCoV-2 [3]. Аналогичная ситуация с разделением на патотипы в результате различий в структуре S-гена возникла и у коронавирусов кошачьих (*Carnivora: Felidae*): менее летальный коронавирус энтерита кошек (FECV — Feline enteritis coronavirus) широко распространен среди диких и домашних животных, вызванная им болезнь протекает относительно легко и может хронизироваться [94], а вирус инфекционного перитонита кошек (FIPV — Feline infectious peritonitis virus) встречается реже, но способен вызывать системное летальное заболевание [93]. В настоящее время, CCoV-1, CCoV-2, FECV, FIPV, PRCV и TGEV рассматриваются как подвиды альфакоронавируса 1-го типа (*AlphaCoV-1 — Alphacoronavirus 1*)⁴ (*Alphacoronavirus, Tegacovirus*). Вместе с тем респираторный коронавирус собак (CRCoV — Canine respiratory coronavirus) оказался штаммом коронавируса крупного рогатого скота (*BetaCoV-1*) с видоизмененным S-белком [71], а пантропный коронавирус собак (PanCCoV — Pantropic canine coronaviruses) — штаммом CCoV-2 (*AlphaCoV-1*) с единственной характерной заменой в спайковом белке S: D125N [40] (табл. 1).

В 1949 г. был описан вирус гепатита мышей (MHV — *Murine hepatitis virus*) [17, 29], который чрезвычайно широко распространен среди диких и лабораторных домовых мышей (*Mus musculus*), вызывает поражение печени и приводит к значительной летальности (до 100%) среди мышат-сосунков в виварных колониях [3, 20]. С 2011 г. MHV носит современное название «коронавирус мышей» (MCoV — *Murine coronavirus*) (*Betacoronavirus, Embecovirus*) [124]. К началу XXI в. MCoV был наиболее изученным представителем *Coronaviridae* (уступив затем этот «титул» особо опасным коронавирусам человека SARS-CoV и MERS-CoV). Подобно многим другим коронавирусам, многочисленные штаммы MHV были разделены на два патотипа, получившие названия энтеротропных⁵

(вызывающих цитолиз энteroцитов и многочисленные некрозы слизистой кишечника) и политропных (репродуцирующиеся в эпителии носоглотки, поражающие лимфоузлы, но не эпителий кишечника; известны нейротропные штаммы) [18]. В экспериментальных условиях крысы-сосунки могут быть заражены MHV, поэтому некоторое время этот вирус рассматривался как общий для мышей и крыс. Однако в 1970 г. был описан самостоятельный коронавирус крыс (RtCoV — *Rat coronavirus*), вызывающий поражение респираторного тракта и легких, а также сиалодакриоаденит [92]. К RtCoV чувствительны животные всех возрастов, но в наибольшей степени — новорожденные крысята, среди которых наблюдается умеренная летальность (до 40%) [3, 92]. Описанный еще в 1948 г. J.A. Miles и M.G. Stoker коронавирус пuffиноза (PCoV — *Puffinosis coronavirus*), который вызывает конъюнктивиты, волдыри на плавательных перепонках лап и спазмы разгибательных мышц у обыкновенных буревестников (*Puffinus puffinus*) на островах Скомер и Скохольм у юго-западного побережья Уэльса (Великобритания) [82, 88], оказался близок к MHV и RtCoV. Причина кроется в популяционных взаимодействиях мышевидных грызунов и буревестников, откладывящих яйца в норах, которые заселяются грызунами в межгнездовой период. В настоящее время MCoV включает в себя RtCoV и PCoV в качестве подвидов (табл. 1). Вероятнее всего, к MCoV принадлежит и вирус Рунде (RNDV — *Runde virus*), так и оставшийся еще с 1970-х гг. в статусе неklassифицированного [3]. RNDV был изолирован в 1977 г. из иксодовых клещей *Ixodes uriae*, собранных в гнездовых колониях морских птиц на норвежском острове Рунде [118]. Птицы вынуждены использовать для гнезд расщелины скал или рыть норы [например, так делают атлантические тупики (*Fratercula arctica*)]. Эти же укрытия используют затем грызуны, а напитавшиеся иксодиды могут содержать вирус по крайней мере в кишечнике (поскольку факт биологической трансмиссии RNDV не установлен). Косвенно в пользу этой гипотезы свидетельствует отсутствие коронавирусов среди штаммов, изолированных от *I. uriae* на небольших лишенных пресной воды островах, где грызуны отсутствуют [9, 73, 104].

Осенью 1958 г. в канадской провинции Онтарио было зарегистрировано тяжелое заболевание поросят: по достижению 6–7-дневного возраста у животных отмечались дрожь конеч-

⁴ Альфакоронавирусы других типов пока отсутствуют, и указание на «1-й тип» является историческим артефактом, поскольку вирусы в составе AlphaCoV-1 объединялись не сразу, а постепенно, и некоторое время существовали терминологические предложения по альфакоронавирусам разных типов.

⁵ Энтеротропные штаммы MHV некоторое время рассматривались как самостоятельный летальный кишечный вирус мышат [18], но это таксономическое предложение не получило широкой поддержки.

Таблица 1. Таксономическая структура* семейства Coronaviridae (Nidovirales, Coronavirinae)
Table 1. Taxonomic structure* of Coronaviridae family (Nidovirales, Coronavirinae)

Род Genus	Подрод Subgenus	Вид Species	Прототипные штаммы Prototype strains			
			современное название** modern name**	аббревиатура abbreviation	обозначение*** designation***	источник изоляции Source of isolation
Подсемейство Letovirinae						
<i>Alphaletovirus</i>	<i>Milecovirus</i>	Летовирус узкоротых квакш 1-го типа <i>Microhyla letovirus 1</i>	ЛВУК-1 MLeV-1	MLeV-1	<i>Microhyla fissipes</i>	Отсутствует на 29.02.2020
Подсемейство Orthocoronavirinae						
<i>Decacovirus</i>	<i>Colacovirus</i>	Коронавирус летучих мышей CDPHE15 Bat coronavirus CDPHE15	КВПМ-CDPHE15 BtCoV/CDPHE15	USA-2006	<i>Myotis lucifugus</i>	NC_0222103
		Альфакоронавирус больших подковоносов НиВ2013 NiV2013	АКВБП-НиВ2013 BtRf/AlphaCoV-HuBV2013	BtRf-HuBV2013	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	NC_028814
<i>Duvinacovirus</i>	<i>Koronavirus</i>	Коронавирус летучих мышей НКU10 Bat coronavirus -NKU10	КВПМ-НКU10 HCoV-NKU10	HKU10/183A	<i>Rousettus leschenaultii</i>	NC_018871
		Коронавирус человека 229Е Human coronavirus 229E	КВЧ-229Е HCoV-229E	Inf-1	<i>Homo sapiens sapiens</i>	NC_002645
<i>Luchacovirus</i>	<i>Koronavirus</i>	Коронавирус крыс Лунцюань Rn Lucheng Rn rat coronavirus	КВКЛ-Рн LRNV	Lucheng-19	<i>Rattus norvegicus</i>	NC_032730
		Коронавирус норок 1-го типа Mink coronavirus 1	КВН-1 MkCoV-1	ECEV/WD1127	<i>Mustela vison</i>	NC_023760
<i>Alphacoronavirus</i>	<i>Minacovirus</i>	Коронавирус хорьков Ferret coronavirus	КВХ FrCoV	ECEV/FECV1 FSCV/FSCV6	<i>Mustela putorius furo</i>	KX512809
		Коронавирус длиннокрыллов 1-го типа Miniopterus bat coronavirus 1	КВДК-1 BtMiCoV-1	AFCD62	<i>Miniopterus magnater</i>	EU420138
<i>Minimacovirus</i>		Коронавирус длиннокрыллов НКU8 Miniopterus bat coronavirus NKU8	КВДК-НКU8 BtCoV-NKU8	HKU8/AFCD77	<i>Miniopterus pusillus</i>	NC_010438
<i>Myotacovirus</i>		Альфакоронавирус азиатских рыбоячных ночниц Сах-2011 Myotis ricketti alphacoronavirus Sах2011	АКВАРН-Сах-2011 BtMrAlphaCoV-Sах-2011	BtMr-SAX2011	<i>Myotis ricketti</i>	NC_028811
		Альфакоронавирус китайских вечерниц SC2013 Nyctalus velutinus alphacoronavirus SC2013	АКВКВ-SC2013 BtNv-AlphacCoV-SC2013	BtNv-SC2013	<i>Nyctalus plancyi velutinus</i>	NC_028833

Род Genus	Подрод Subgenus	Вид, Species	современное название** modern name**	аббревиатура abbreviation	обозначение*** designation***	Прототипные штаммы Prototype strains	
						источник изоляции Source of isolation	GenBank ID
<i>Pedacivirus</i>		Ви́рус эпизоотиче́ской диареи сви́ней	ВЭДС PEDV	CV777	<i>Sus scrofa domesticus</i>	KT323979	
		Porcine epidemic diarrhea virus					
<i>Rhinacovirus</i>		Ко́ронави́рус домо́вых гла́дконо́сов 512	КВДГ-512 BtCoV-512	BtCoV/512/2005	<i>Scotophilus kuhlii</i>	NC_009657	
		Scotophilus bat coronavirus 512					
<i>Setracovirus</i>		Ко́ронави́рус подкорононо́сов НКУ2	КВПН-НКУ2 BtCoV-HKU2	HKU2/GD/430/2006	<i>Rhinolophus sinicus</i>	NC_009988	
		Rhinolophus bat coronavirus HKU2					
<i>Alphacoronavirus</i>		Ко́ронави́рус челове́ка NL63	КВЧ-НЛ63 HCov-NL63	Amsterdam I	<i>Homo sapiens sapiens</i>	AY567487	
		Human coronavirus NL63					
<i>Tegacovirus</i>		НЛ63-по́добный ко́ронави́рус BtКYNL63-9b	НЛ63-ПКВЛМ-9b NL63-BtCoV-9b	BtKYNL63-9b	<i>Triaenops afer</i>	KY073745	
		NL63-related bat coronavirus BtKYNL63-9b					
<i>Embecovirus</i>		Альфа́коронави́рус 1-го типа	АКВ-1 AlphaCoV-1		<i>CCoV-1/259/01</i>	AF502583	
		Alpha coronavirus 1			<i>CCoV-2/Insavc-1</i>	D13096	
<i>Betacoronavirus</i>		Ко́ронави́рус кро́ликов, вы́зывающий кардиомиопа́тию	КВК-КМП RbCoV/CMP		<i>Canis lupus familiaris</i>	KP981644	
		Rabbit coronavirus provoking cardiomyopathy					
		Бетако́ронави́рус 1-го типа	БКВ-1 BetaCoV-1		<i>Felis silvestris catus</i>	FJ938051	
		Beta coronavirus 1				AY994055	
		Ко́ронави́рус кро́ликов, вы́зывающий кардиомиопа́тию	КВК-КМП RbCoV/CMP		<i>Sus scrofa domesticus</i>	KR2270796	
		Rabbit coronavirus provoking cardiomyopathy				NC_038861	
		Инсерта́е се́дис		Stockholm agent	<i>Oryctolagus cuniculus domesticus</i>	Отсутствует на 29.02.2020	
		Incertae sedis					
		Бетако́ронави́рус 1-го типа		LAMV/Longquan-343	<i>Apodemus agrarius</i>	KF294357	
		Beta coronavirus 1					
		Ко́ронави́рус Китая НКУ24	КВКК-НКУ24 CRCoV-HKU24	BCoV/Mebus	<i>Bos taurus taurus</i>	BCU00735	
		China Rattus coronavirus HKU24					
		Ко́ронави́рус кры́с Китая НКУ24	КВКК-НКУ24 CRCoV-HKU24	CRCoV/BJ232	<i>Canis lupus familiaris</i>	KX432213	
		China Rattus coronivirus HKU24					
		Ко́ронави́рус кры́с НКУ24	КВКК-НКУ24 CRCoV-HKU24	ECoV/NC99	<i>Equus ferus caballus</i>	EF446615	
		China Rattus coronavirus HKU24					
		ПНЕВ/СС14		RbCoV-HKU14	<i>Homo sapiens sapiens</i>	AY3911777	
		PHEV/CC14					
		Раттус норвежский		HKU24-R050051	<i>Oryctolagus cuniculus domesticus</i>	MF083115	
		Rattus norvegicus				NC_026011	

Окончание таблицы 1. Таксономическая структура* семейства Coronaviridae (Nidovirales, Cornidovirinae)
Table 1. Taxonomic structure* of Coronaviridae family (Nidovirales, Cornidovirinae) (continued)

Род Genus	Подрод Subgenus	Вид Species	Прототипные штаммы Prototype strains			
			современное название** modern name**	аббревиатура abbreviation	обозначение*** designation***	источник изоляции Source of isolation
<i>Embecovirus</i>	<i>Hibecovirus</i>	Коронавирус мышей Murine coronavirus	KBM MCoV	MHV/JHM LRLV/Longquan-370 RtCoV/Parker	<i>Mus musculus</i> <i>Rattus losea</i> <i>Rattus norvegicus</i>	AC_000192 KF294371 NC_012936
		Коронавирус человека НКU1 Human coronavirus HKU1	KВЧ-НКU1 HCov-HKU1	HKU1	<i>Homo sapiens sapiens</i>	AJ544718
		Бетакоронавирус листоносов Пратта Zhejiang2013 Bat Hr-beta冠状病毒 Zhejiang2013	БКВП-2h13 BtHr-BetaCoV-Zh13	Zhejiang2013	<i>Hippopotamus pratti</i>	NC_025217
	<i>Merbecovirus</i>	Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома Middle East respiratory syndrome-related coronavirus	КВ-БВРС MERS-CoV	Jeddah/Camel-1 EMC/2012 Italy/200645-63/2011	<i>Camelus dromedarius</i> <i>Homo sapiens sapiens</i>	KF917527 JX869059 MG596803
		Коронавирус ежей 1 типа Hedgehog coronavirus 1	KBE-1 HdCoV-1	EriCoV	<i>Erinaceus europaeus</i>	MK679660
		Коронавирус косолапых кошанов НКU4 Tylopucteris bat coronavirus HKU4	KBKK-HKU4 BtCoV-HKU4	HKU4/B04f	<i>Tylonycteris pachyurus</i>	NC_009019
<i>Betacoronavirus</i>	<i>Nobecovirus</i>	Коронавирус неготырей НКU5 Pipistrellus bat coronavirus HKU5	KBНП-НКU5 BtCoV-HKU5	HKU5/LMH03f	<i>Pipistrellus abramus</i>	NC_009020
		Коронавирус ночных крыланов GCCDC1 Rousettus bat coronavirus GCCDC1	KBHK-GCCDC1 BtCoV-GCCDC1	GCCDC1/356	<i>Rousettus leschenaultii</i>	NC_030886
		Коронавирус ночных крыланов НКU9 Rousettus bat coronavirus HKU9	KBНК-НКU9 BtCoV-HKU9	HKU9/BF_005I	<i>Eidolon helvum</i>	NC_009021
	<i>Sarbecovirus</i>	Коронавирус пальмовых крыланов С704 Eidolon bat coronavirus C704	KBPK-C704 BtCoV-C704	KY24/2006	<i>Rousettus leschenaultii</i>	KX285106
		Коронавирус китайских подковоносов Rhinolophus sinicus coronavirus	KBКП BtRsCoV	CoVZC45 CoVZXC21	<i>Rhinolophus sinicus</i>	MG772933 MG772934
		Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	КВ-ТОРС SARS-CoV	GD01 SZ3 Rs672/2006	<i>Homo sapiens sapiens</i> <i>Paguma larvata</i>	AY278489 AY304486 FJ588686
		Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2	КВ-ТОРС-2 SARS-CoV-2	Wuhan-Hu-1 PaCoV-1420 RaTG13	<i>Homo sapiens sapiens</i> <i>Manis javanica</i>	NC_045512 Oгосудствует на 29.02.2020 MN996532

Род Genus	Подрод Subgenus	Вид Species	Прототипные штаммы Prototype strains				
			современное название** modern name***	аббревиатура abbreviation	обозначение*** designation***	источник изоляции Source of isolation	GenBank ID
Andecovirus		Коронавирус сиваязей НКU20 Wigeon coronavirus HKU20	KBC-НКU20 WiCoV-HKU20	HKU20-9243	Anas penelope	NC_016995	
		Дельтакоронавирус свиней Porcine deltacoronavirus	ДКВС PDCoV	HKU15-44	<i>Sus scrofa domesticus</i>	JQ065042	
		Коронавирус белоглазок НКU16 White eye coronavirus HKU16	KBБГ-НКU16 WECoV-HKU16	HKU16-6847	<i>Zosterops palpebrosus</i>	KJ569769	
Buldecovirus		Коронавирус бояльболовой НКU11 Bulbul coronavirus HKU11	KBББ-НКU11 BuCoV-HKU11	HKU11-796	<i>Rupornotus sinensis</i>	NC_016991	
Deltacoronavirus		Коронавирус муний НКU13 Munia coronavirus HKU13	KBA-НКU13 MuCoV-HKU13	HKU13-3514	<i>Lonchura striata</i>	NC_011550	
		Коронавирус квакв НКU19 Night heron coronavirus HKU19	KBK-НКU19 NIHCov-HKU19	MRCoV-НКU18	<i>Copyschus saularis</i>	NC_016993	
Herdecovirus		Коронавирус камышниц НКU21 Common moorhen coronavirus HKU21	KBK-НКU21 CMCoV-HKU21	HKU19-6918	<i>Nycticorax nycticorax</i>	NC_016994	
Moordcovirus		Коронавирус китообразных Cetacean coronavirus	KBКО CetCoV	HKU21-8295	<i>Gallinula chloropus</i>	NC_016996	
	Cegacovirus			SW1	<i>Delphinapterus leucas</i>	EU111742	
				HKU22	<i>Tursiops aduncus</i>	KF793826	
Gammacoronavirus					<i>Gallus gallus domesticus</i>	KF696629	
		Коронавирус птиц Avian coronavirus	КВП ACoV		<i>IBV/Massachusetts</i>	GQ504724	
	Igacovirus				<i>TCoV/MG10</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	NC_010800
					KQ6	<i>Pavo cristatus</i>	AY641576
					PhCoV/I0623/17	<i>Phasianus colchicus</i>	МК423877

* Порядок следования родов и подродов внутри каждого рода соответствует их латинскому названию, вирусов внутри каждого подрода — их русскому названию, прототипных штаммов каждого вируса — латинскому названию источника их изоляции.

** Прототипные вирусы каждого рода представлены в табл. 2.

*** Косая черта в данном столбце используется как необходимый элемент идентификация штамма.

* The consequence of genera and subgenera within each genus corresponds to their Latin name, viruses within each subgenus — to the Latin name of the source of their isolation.

** Prototype viruses of each genus are presented in table 2.

*** The slash in this column is used as the required element strain identification.

ностей, съеживание и визг, а затем развивался энцефаломиелит, сопровождающийся рвотой, запорами и критическим истощением [101]. Данное заболевание получило широкое распространение в провинции Онтарио и на сопредельных территориях в течение нескольких последующих лет [14]. A.S. Greig с соавт. (1962), изолировавшие этиологический агент этого заболевания из мозга больных поросят на первичной клеточной культуре почки свиньи, дали ему название гемагглютинирующий вирус энцефаломиелита свиней (PHEV — Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus) [48]. В 1972 г. E.L. Stair с соавт. описали выделение и электронно-микроскопическую идентификацию коронавируса из фекалий новорожденных телят, страдающих поражением кишечника и респираторного тракта [114]. Этот вирус сначала получил название вирус диареи телят Небраски, а потом — коронавирус крупного рогатого скота (BCoV — Bovine coronavirus). Родственный коронавирус лошадей (ECoV — Equine coronavirus) был идентифицирован в 1999 г. [52]. BCoV, ECoV и PHEV входят в состав бетакоронавируса 1-го типа (BetaCoV-1 — Betacoronavirus 1)⁶ (*Betacoronavirus*, *Embecovirus*) (табл. 1).

В 1965 г. D.A. Tyrrell и M.L. Bynoe, сотрудники отдела ОРЗ Медицинского госпиталя в г. Солсбери (Великобритания), использовали органную культуру трахеи 14–22-недельного человеческого эмбриона (НЕТОС — human embryonic tracheal organ culture) для изоляции вирусов из назальных смызов больных ОРЗ и получили штамм первого коронавируса человека (HCoV — Human coronavirus). Этот штамм вошел в историю вирусологии под названием B814 (в связи с маркировкой соответствующего смыза) [119]. Год спустя D. Hamre и J.J. Procknow из Чикагского университета опубликовали результаты изоляции штамма 229E от студента с симптомами ОРЗ [53]. В 1967 г. K. McIntosh с соавт. сообщили об изоляции обширной серии штаммов с помощью НЕТОС, которые они обозначали OC1, OC2 и т.д. [78]. Наибольшую известность из них получил штамм OC43 [23]. Известные в те годы коронавирусы человека считались настолько безопасными, что их даже пассировали на волонтерах [25, 119]. К сожалению, подавляющее большинство указанных выше штаммов 1960–1970 гг. не сохранились в коллекциях и оказались утерянными,

за исключением HCoV-229E (*Alphacoronavirus*, *Duvinacovirus*) и HCoV-OC43. Последний входит в BetaCoV-1 в ранге подвида (табл. 1).

«Коронация» коронавирусов состоялась 16.11.1968 г., когда в свет вышел очередной 5168-й выпуск журнала Nature, в котором группа из восьми вирусологов (включая некоторых авторов первых эпидемических коронавирусов) опубликовала краткое таксономическое предложение: вследствие характерной морфологии вирионов (рис. 1) IBV, MHV, B814, 229E, OC43 на негативно контрастированных электронных фотографиях — выраженного зубчатого (коронообразного)⁷ обрамления (порядка 20 нм) округлых плейоморфных частиц (120–160 нм) — объединить эти вирусы в группу «coronaviruses» [15]. Поскольку перечисленные вирусы первоначально рассматривались как миксовирусы⁸, то предложение было направлено профессору A.P. Waterson, возглавлявшему тогда Группу изучения миксовирусов в составе Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV — International Committee on Taxonomy of Viruses). Уже год спустя при описании RtCoV J.C. Parker с соавт. (1970) использовали в названии статьи термин «coronavirus». В I Таксономическом каталоге ICTV (1971 г.) [34] коронавирусы были выделены в отдельную группу (род), а в 1976 г. ICTV присвоил коронавирусам статус семейства [35] и включил в него известные в то время, но не учтенные в первоначальном предложении [15] TCoV, TGEV, CCoV, PHEV, RtCoV, BCoV и возбудитель EVD.

В 1972 г. английский ветеринарный врач J. Oldham описал новое инфекционное кишечное заболевание свиней, которое напоминало TGEV-индукрованный гастроэнтерит, но в отличие от TGEV поражало не столько поросят-сосунков, сколько поросят-отъемышей [89]. Заболевание было названо эпизоотической вирусной диареей (EVD — Epidemic viral diarrhea). В 1976 г. этиологический агент подразделили на два типа, и считалось, что EVD-2 способен поражать не только отъемышей, но свиней всех возрастных групп [140]. В 1978 г. специалисты из Гентского Университета (Бельгия) показали значительное отличие EVD от известных тогда TGEV, PRCV и PHEV, предложив считать EVD самостоятельным коронавирусом [96], который вскоре получил современное название: эпизоотическая диарея свиней (*PEDV* — Porcine epidemic diarrhea virus)

⁶ Бетакоронавирусы других типов пока отсутствуют, и указание на «1-й тип» является историческим артефактом, поскольку вирусы в составе BetaCoV-1 объединялись не сразу, а постепенно, и некоторое время существовали терминологические предложения по бетакоронавирусам разных типов.

⁷ В оригинальной статье [15] «зубчатое обрамление» названо «бахромой», а именно: «...there is also a characteristic «fringe» of projections 200 Å long...».

⁸ Миксовирусы (от др.-греч. μύξα — слизь) — устаревшая таксономическая группа вирусов, предложенная в 1955 г. C.H. Andrewes и включавшая в себя вирусы, способные связываться с полисахаридами и гликопротеинами на поверхности клетки-мишени. Впоследствии была разделена на несколько семейств: *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Coronaviridae*, *Pneumoviridae*.

(*Alphacoronavirus*, *Pedacovirus*) [31]. PEDV является одним из наиболее экономически значимым вирусом для современного свиноводства, приводя к значительной (до 50%) летальности среди всех возрастных групп с пиком (до 100%) у поросят 5–6-недельного возраста и значительным потерям привеса во время откорма животных [129]. D.U. Lee с соавт. (2016) с помощью ОТ-ПЦР показал, что порядка 10% диких кабанов (*Sus scrofa*) в Республике Корея инфицированы PEDV, на основании чего было сделано предположение о том, что дикие кабаны могут служить природным резервуаром этого вируса.

Эпизоотический катаральный энтерит (ECG — epizootic catarrhal gastroenteritis) среди американских⁹ норок (*Neovison vison*), описанный на зверофермах A.E. Larsen и J.R. Gorham (1975), сначала не рассматривался как инфекционное заболевание: потеря веса и снижение качества меха у животных в возрасте 4 мес. и старше при относительно невысокой летальности (< 5%) могли быть вызваны множеством причин. Инфекционная природа ECG была установлена лишь в начале 1980-х гг. [109], а в 1985 г., после того как M. Hansen описал вирусные частицы в фекалиях американских норок во время эпизоотии ECG в Дании, появился термин ECGV (ECG virus), рассматриваемый в то время как «коронавирус-подобный» [47, 54]. В настоящее время, ECGV носит название коронавирус норок 1-го типа (MkCoV-1 — Mink coronavirus 1)¹⁰ (*Alphacoronavirus*, *Minacovirus*).

Весной 1993 г. по восточному побережью США прокатилась эпизоотия среди фреток (*Mustela putorius furo*)¹¹, сопровождавшаяся обильной диареей ярко-зеленого цвета с высоким содержанием слизи. Заболевание быстро охватывало все стадо в питомнике, но летальность не превышала 3%. В фекалиях больных животных были найдены вирусные частицы с характерной коронавирусной морфологией, что позволило сразу же классифицировать новый вирус эпизоотического катарального энтерита (ECEV — Epizootic catarrhal enteritis virus) с точностью до семейства [130]. Известный с 2002 г. коронавирус системного заболевания хорьков (FSCV — Ferret systemic disease coronavirus), вызывающий энтерит с высокой летальностью [76, 97], оказался идентичен ECEV и отличается от него лишь структурой S-белка [132]. На сегодняшний день, ECEV и FSCV объединены под общим названием ко-

ронавирус хорьков (FrCoV — Ferret coronavirus) (*Alphacoronavirus*, *Minacovirus*).

J.D. Small с соавт. (1979), идентифицируя так называемый «Стокгольмский агент», описали коронавирус кроликов, вызывающий кардиомиопатию (RbCoV-CMP — Rabbit coronavirus cardiomiyopathy provoking) (*Incertae sedis*) с характерной морфологией вирионов (рис. 1Ж). Историю «Стокгольмского агента» следует начинать с 1912 г., когда из цереброспинальной жидкости пациента с нейросифилисом был изолирован один из наиболее известных прототипных штаммов бледной трепонемы (*Treponema pallidum*) Nichols, который начали пассировать на домашних кроликах (*Oryctolagus cuniculus domesticus*) путем интэртестикулярного (в яичко) введения [86]. С 1953 г. этот штамм успешно перевивался на кроликах в Швеции вплоть до 1961 г., когда сначала у отдельных инокулированных животных, а потом все чаще стало развиваться заболевание, характеризующееся ректальной температурой выше 40°C, выраженным отеком легких, застойными явлениями в поверхностных лимфатических узлах и летальностью на уровне 50–75% на фоне выраженной кардиомиопатии. Гомогенат кроличьих яичников, пропущенный через бактериальные фильтры после температурной инактивации¹² трепанем, сохранял свою патогенность [51]. Полученный таким образом инфекционный препарат и получил название «Стокгольмского агента», природа которого несколько лет оставалась неизвестной [50], пока десять лет спустя не появилась работа J.D. Small с соавт. (1979). Источник RbCoV-CMP остался неизвестен. Нельзя исключать, что это результат лабораторной контаминации. Антисыворотка против RbCoV-CMP в реакции связывания комплемента взаимодействовала с антигенами HCoV-229E, но не MHV [110]; в реакции нейтрализации методом бляшек *in situ* — с TGEV и CCoV, но не с FIPV; вакцина против CCV, FIPV и TGEV лишь незначительно снижала летальность от RbCoV-CMP-инфекции [111]. Вероятнее всего, RbCoV-CMP представляет собой самостоятельный вирус из семейства *Alphacoronavirus* (табл. 1), однако отсутствие молекулярно-генетических данных не позволяет верифицировать эту гипотезу. Долгое время RbCoV-CMP был единственным коронавирусом кроликов и постепенно утратил вторую часть названия (CMP) — так же, как и открытый позже коронавирус кроли-

⁹ В настоящее время географический термин «американская» в названии данного вида следует рассматривать в историческом контексте, поскольку в результате искусственной интродукции этот вид широко распространился на территории Северной Евразии, существенно потеснив и сократив ареал европейской норки (*Mustela lutreola*).

¹⁰ Коронавирусы норок иных типов пока неизвестны, однако название «MkCoV-1» отражает надежду на существование у европейских норок (*Mustela lutreola*) собственного варианта возбудителя ECG.

¹¹ Фретки, или фуро (*Mustela putorius furo*) — одомашненная форма лесного хорька (*M. putorius*).

¹² *T. pallidum* сохраняет жизнеспособность в узком диапазоне температур в районе 37°C, поэтому может быть инактивирована незначительным повышением температуры, при котором сохраняется жизнеспособность оболочечных вирусов.

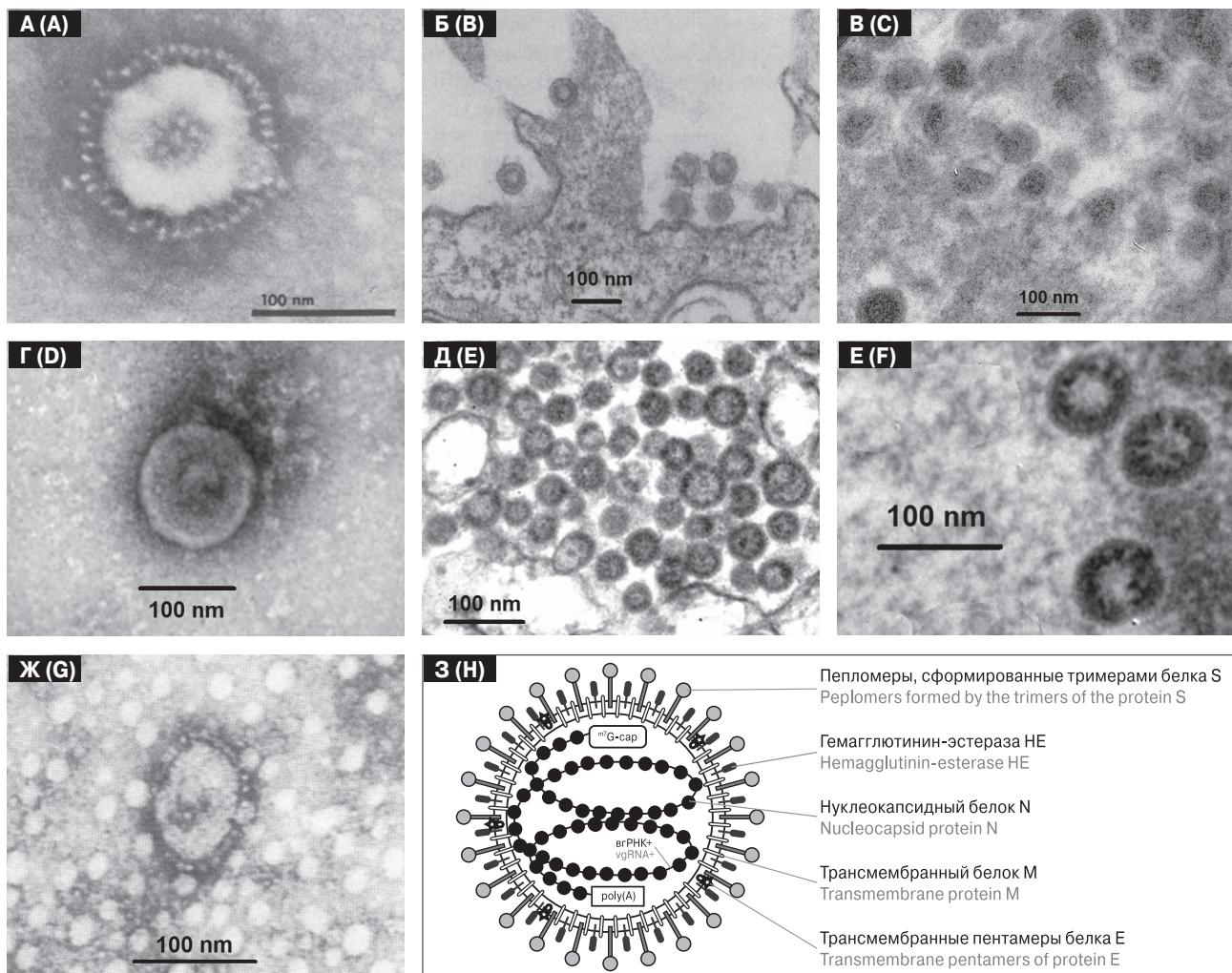


Рисунок 1. Морфология вириона коронавирусов: электронно-микроскопические фотографии и схематическое изображение вириона

Figure 1. Morphology of the virion of coronaviruses: electron microscopy images and schematic image of the virion

А. Вирус инфекционного бронхита кур, или коронавирус птиц, ACoV (*Gammacoronavirus, Igacovirus*), из работы G. Marsolais с соавт. (1971). **Б.** Почкующиеся частицы вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, или альфакоронавируса 1 типа, TGEV (*Alphacoronavirus, Tegacovirus*), из работы J.W. Rossen с соавт. (1994). **В.** Коронавирус SW1, CetCoV (*Gammacoronavirus, Cegacovirus*), из работы K.A. Mihindukulasuriya с соавт. (2008). **Г.** Коронавирус человека NL63, HCoV-NL63 (*Alphacoronavirus, Setracovirus*), из работы J.A. Lednicky с соавт. (2013). **Д.** Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома, MERS-CoV (*Betacoronavirus, Merbecovirus*), из работы W.B. Park с соавт. (2016). **Е.** Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 типа, SARS-CoV-2 (*Betacoronavirus, Sarbecovirus*), из работы W.B. Park с соавт. (2020). **Ж.** Коронавирус кроликов, вызывающий кардиомиопатию, RbCoV-CMP (*Incertae sedis*), из работы J.D. Small с соавт. (1970). **З.** Схематическое изображение вириона коронавирусов. Оболочные вирусные частицы имеют округлую (120–160 нм) плеоморфную форму. Булавовидные поверхностные пепломеры, формирующие «зубцы короны» длиной 10–25 нм, представляют собой тримеры спайкового гликопroteина S (150–220 kDa), первая субъединица (S1) которого взаимодействует с рецептором клетки-мишени. Поверхностный гликопrotein HE (9–12 kDa), обладающий гемагглютинин-эстеразной активностью, имеется лишь у BetaCoV-1, CRCoV-HKU24, HCoV-HKU1, MCoV. Белок M (23–35 kDa) является трансмембранным с трехзаходной N^{exo}C^{endo}-топологией (AlphaCoV-1 дополнительно содержит трансмембранный белок M' с четырехзаходной N^{exo}C^{exo}-топологией). Пентамеры белка E (9–12 kDa) способны формировать ионные каналы и представляют собой важный фактор вирулентности коронавирусов (таких пентамеров в оболочке вириона очень мало — всего нескольких копий на вирион). Нуклеокапсид (60–70 нм) спиральной симметрии формируется фосфорилированным белком N (50–60 kDa) в комплексе с вирионной геномной РНК в форме одиночного сегмента позитивной полярности (вгРНК+), который m⁷G кэпирован¹³ на 5'- и полиаденилирован на 3'-конце [3, 124].

А. Chicken infectious bronchitis virus, or avian coronavirus, ACoV (*Gammacoronavirus, Igacovirus*), from the article of G. Marsolais et al. (1971). **Б.** Budding particles of porcine transmissible gastroenteritis virus, or alphacoronavirus 1, TGEV

¹³m⁷G кэпирование означает наличие на 5'-конце молекулы РНК модифицированного рибонуклеотида — 7-метилгуанозина, который соединен 5',5'-трифосфатным мостиком с первым нуклеотидным остатком.

(*Alphacoronavirus*, *Tegacovirus*), from the article of J.W. Rossen et al. (1994). **C.** Coronavirus SW1, CetCoV (*Gammacoronavirus*, *Cegacovirus*), from the article of K.A. Mihindukulasuriya et al. (2008). **D.** Human coronavirus NL63, HCoV-NL63 (*Alphacoronavirus*, *Setracovirus*), from the article of J.A. Lednicky et al. (2013). **E.** Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV (*Betacoronavirus*, *Merbecovirus*), from the article of W.B. Park et al. (2016). **F.** Coronavirus of severe acute respiratory syndrome 2, SARS-CoV-2 (*Betacoronavirus*, *Sarbecovirus*), from the article of W.B. Park et al. (2020). **G.** Rabbit coronavirus that causes cardiomyopathy, RbCoV-CMP (*Incertae sedis*), from the article of J.D. Small et al. (1970). **H.** Schematic representation of the coronavirus virion. Enveloped virus particles have a rounded (120–160 nm) pleomorphic shape. Petal-shaped surface peplomers that form "crown teeth" 10–25 nm long are trimers of spike glycoprotein S (150–220 kDa), the first subunit (S1) of which interacts with the target cell receptor. Surface glycoprotein HE (9–12 kDa), which has hemagglutinin-esterase activity, is available only in BetaCoV-1, CRCoV-HKU24, HCoV-HKU1, and MCoV. Protein M (23–35 kDa) is a transmembrane with a triple-spanning N^{exo}C^{endo} topology (AlphaCoV-1 additionally contains a transmembrane protein M' with a tetra-spanning N^{exo}C^{exo} topology). Pentamers of protein E (9–12 kDa) are able to form ion channels and are an important factor in the virulence of coronaviruses (there are very few such pentamers in the virion envelope — only a few copies per virion). A nucleocapsid (60–70 nm) of helical symmetry is formed by phosphorylated protein N (50–60 kDa) in complex with virion genomic RNA in the form of a single segment of positive polarity (vgRNA+), which is m⁷G-capped at the 5'- and polyadenylated at the 3'-end [3, 124].

ков HKU14 (RbCoV-HKU14 — Rabbit coronavirus HKU14) [64], что часто затрудняет анализ каталогов вирусных штаммов. В настоящее время RbCoV-HKU14 включен в BetaCoV-1.

Еще в V Таксономическом каталоге ICTV (1991 г.) [122] семейство *Coronaviridae* подразделялось на два рода (*Coronavirus*¹⁴ и *Torovirus*¹⁵) и не входило в таксоны более высокого порядка. В 1996 г. C.R. Pringle по итогам X Международного вирусологического конгресса (Иерусалим, 11–16.08.1996) формулирует таксономическое предложение о формировании отряда *Nidovirales* на основе *Arteriviridae* (повысив до статуса семейства ранее отдельный род *Arterivirus*) и *Coronaviridae* [98]. Название нового отряда было выбрано от лат. *nidos* (гнезда), поскольку экспрессия генома включает синтез 3'-котерминальных вложенных субгеномных мРНК (рис. 2). Современная структура семейств и родов *Nidovirales* представлена в таблице 2.

К началу XXI в. о коронавирах сложилось мнение как об актуальных ветеринарных патогенах, но не представляющих особой опасности для человека. Ситуация кардинально поменялась в 2002 г., когда вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) (*Betacoronavirus*, *Sarbecovirus*) был идентифицирован как этиологический агент эпидемии в южных провинциях¹⁶ Китая. В период этой эпидемии, 01.11.2002–31.07.2003, на территории Китая¹⁷ летальность составила 9,2% (685/7429), а по всему миру, с учетом 667 заболевших и 89 умерших в 29 странах за пределами Китая^{18, 19} вследствие завозных случаев — 9,6% (774/8096)²⁰ [3, 4, 6, 11, 141]. Было установлено, что зараже-

ние людей произошло от гималайских цивет (*Paguma larvata*) [49]. Дальнейшее изучение экологии SARS-CoV позволило установить, что этот вирус является природно-очаговым, его природным резервуаром являются летучие мыши (*Chiroptera*, *Microchiroptera*) [3, 68, 79], которые переносят инфекцию инаппаратно, но выделяют вирус со слюной, мочой и фекалиями, заражая мелких млекопитающих, широко используемых в странах Юго-Восточной Азии для нужд восточной медицины и употребляемых в пищу.

Эпидемия, вызванная SARS-CoV, подстегнула процесс изучения коронавирусов. В 2004 г. голландские исследователи описали коронавирус человека NL63 (от англ. Sample number 63 from the Netherlands) (HCoV-NL63 — Human coronavirus NL63) (*Alphacoronavirus*, *Setracovirus*) [45, 66, 121]. В январе 2005 г. сотрудники Гонконгского университета изолировали от 71-летнего пациента с ОРЗ, осложненным двусторонней пневмонией, новый коронавирус человека HKU1 (HCoV-HKU1 — Human coronavirus HKU1) (*Betacoronavirus*, *Hibecovirus*) [135], положив начало использованию префикса HKU (от англ. Hong Kong University) с порядковым номером штамма, который встречается в названиях многих вирусов (табл. 1). Однако на протяжение «трех пятилеток», 2005–2019 гг., «ударными темпами» открывались новые коронавирусы рукокрылых (*Chiroptera*): коронавирус подковоносов HKU2 (BtCoV-HKU2 — *Rhinolophus bat coronavirus HKU2*) (*Alphacoronavirus*, *Rhinacovirus*); коронавирус подковоносов HKU3 (BtCoV-HKU3 — *Rhinolophus bat coronavirus HKU3*), в настоящее время вошедший в SARS-CoV; коронавирус косолапых кожанов HKU4 (BtCoV-

¹⁴ В настоящее время *Coronavirus* разделился на два рода: *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus* (табл. 1).

¹⁵ В настоящее время род *Torovirus* является прототипным для подсемейства *Torovirinae* семейства *Tobaniviridae* в отряде *Nidovirales*.

¹⁶ Эпицентром эпидемии стала китайская провинция Гуандун.

¹⁷ Включая Гонконг, Макао и Тайвань, которые в статистике ВОЗ выделяются отдельными строками, но согласно законодательству Китайской Народной Республики, входят в ее состав.

¹⁸ Количество собственно завозных случаев было равно 121, еще 546 случаев стали результатом последующих заражений.

¹⁹ Один завозной случай SARS-CoV был зарегистрирован на территории Российской Федерации в г. Благовещенске.

²⁰ В некоторых источниках приводится увеличенная статистика: 10,9% (916/8422). Это связано с тем, что ВОЗ исключила из статистики 326 случаев заболевания и 142 смертельных случая по формальным причинам недостаточности документального подтверждения, хотя эти случаи продолжают использоваться в национальной статистике.

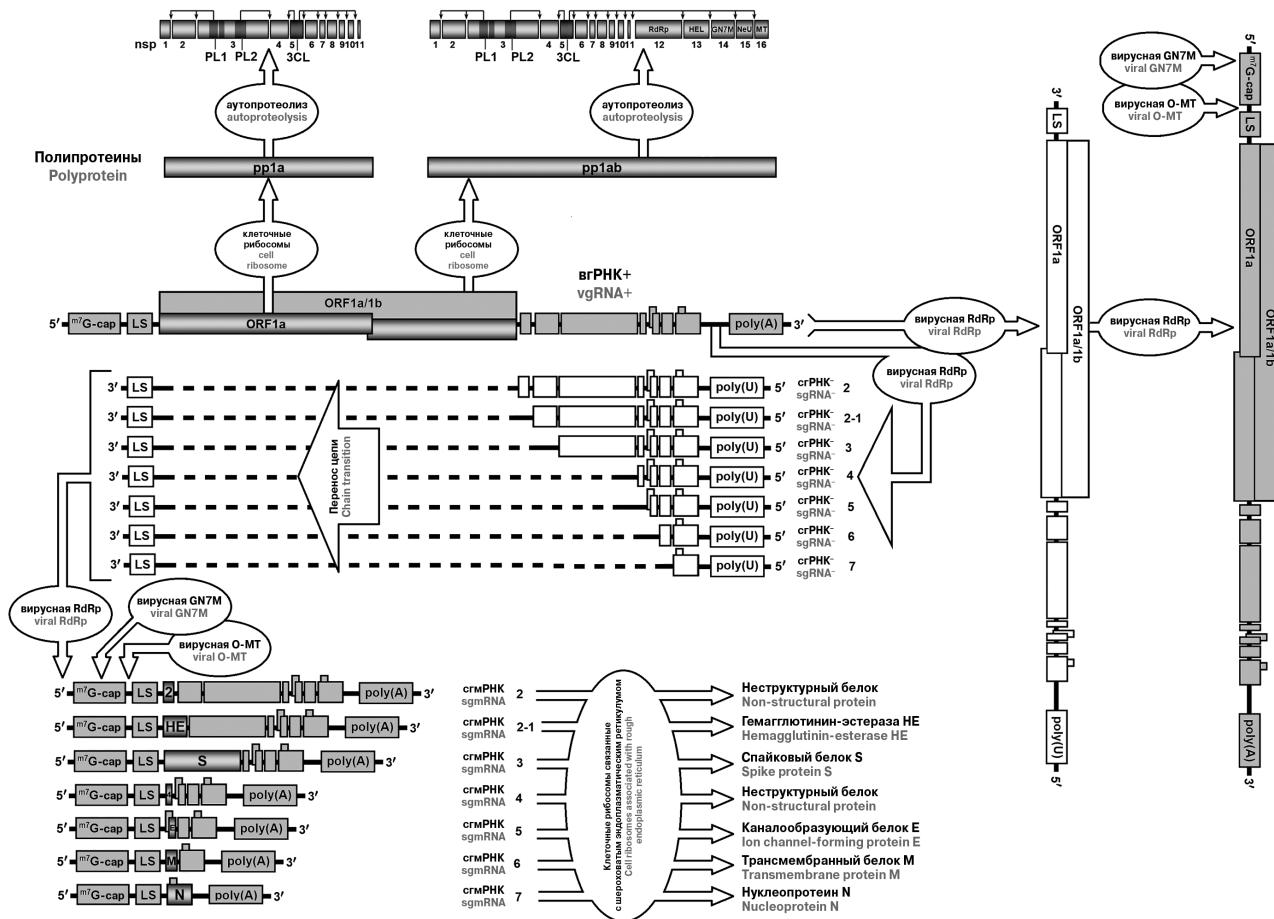


Рисунок 2. Экспрессия генома коронавирусов на примере коронавируса мышей, MCoV (*Betacoronavirus, Embecovirus*), прототипного вириуса этого семейства²¹

Figure 2. Expression of the coronavirus genome on the example of Murine coronavirus, MCoV (*Betacoronavirus, Embecovirus*), a prototype virus of this family

Вирионная геномная РНК+ (вгРНК+) представляет собой односегментную молекулу РНК позитивной полярности. Будучи ^{m7}G-кэпирована на 5'-конце и 3'-полиаденилирована вгРНК+ выступает в качестве мРНК для синтеза двух протяженных полипротеинов pp1a и pp1ab длиной порядка 4000 и 7000 аминокислотных остатков соответственно (см. верхнюю часть рисунка). Полипротеин pp1ab включает в себя pp1a и образуется в результате игнорирования рибосомой в 20–30% случаев стоп-сигнала из-за шпильки, смещающей рамку считывания. Полипротеины pp1a и pp1ab не существуют в клетке как единые молекулы и котрансляционно нарезаются протеазами на 16 неструктурных белков (nsp — non-structural protein): nsp1 — расщепляет хозяйственные мРНК, ингибитирует продукцию интерферонов, блокирует клеточный цикл; nsp2, nsp4, nsp6, nsp11 — преобразуют складки эндоплазматического ретикулума и формируют двухслойные везикулы, в которых происходят ранние этапы сборки дочерних вирусных частиц; nsp3 — АДФ-рибоза-1'-фосфатаза, а также содержит два аутопротеолитических фрагмента папаин-подобных протеаз (PL1 и PL2 — сайты расщепления показаны стрелками); nsp5 — 3C-подобная протеаза (сайты расщепления показаны стрелками); nsp7, nsp9 — эффективно связываются с одноцепочечными РНК; nsp8 — в комплексе с nsp7 способна выполнять функцию дополнительной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp — RNA-dependent RNA-polymerase); nsp10 — формирует «цинковый палец»; nsp12 — основная RdRp; nsp13 — 5'→3'-геликаза (Hel — Helicase); nsp14 — 3'→5' эксорибонуклеаза (требуется для исправления ошибок RdRp) и гуанин-N7-метилтрансфераза (GN7M — guanine-N7-methyltransferase); nsp15 — эндорибонуклеаза (NendoU, NeU, — Endoribonuclease); nsp16 — 2'-О-метилтрансфераза (O-MT — 2'-O-methyltransferase), метилирующая два первых нуклеотида после ^{m7}G-кэпа. Используя вгРНК+ в качестве матрицы, RdRp синтезирует комплементарную геномной РНК негативной полярности (кгРНК-), которая, в свою очередь, выступает в качестве матрицы для синтеза вгРНК+ для дочерних вирионов (правая часть рисунка). Помимо этого, RdRp синтезирует на матрице вгРНК серию субгеномных РНК негативной полярности (сгРНК-) с разрывом цепи и переносом ее к 5'-концу матрицы, в результате чего все сгРНК- этой серии имеют одинаковые 3'-/5'-фланги и центральные части различной степени вложенности друг в друга (нижняя часть рисунка). Эта особенность синтетического аппарата является общей для всех представителей отряда *Nidovirales*, из-за которой он и получил свое название от лат. *nidos* (гнезда). Далее сгРНК- используются

²¹ Другие коронавирусы могут не иметь НЕ и несколько отличаться структурой 3'-концевого набора генов, участвующих в формировании сгРНК.

в качестве матрицы для синтеза субгеномных матричных РНК позитивной полярности (сгмРНК)²², с которыхчитываются структурные и некоторые неструктурные белки. Сборка дочерних вирионов происходит в эндоплазматическом ретикулуме, и затем они покидают хозяйскую клетку путем экзоцитоза.

Virion genomic RNA+ (vgRNA⁺) is a monomeric positive-sense RNA molecule. Being m7G-capped at the 5'-terminus and 3'-polyadenylated vgRNA⁺ acts as an mRNA for the synthesis of two extended pp1a and pp1ab polyproteins about 2000 and 7000 amino acid residues long, respectively (see the upper part of the figure). The pp1ab polyprotein includes pp1a and is formed as a result of the ribosome ignoring the stop signal in 20–30% of cases due to a hairpin RNA loop that shifts the reading frame. Polyproteins pp1a and pp1ab do not exist in the cell as single molecules and are cotranslationally cut by proteases into 16 non-structural proteins (nsp): nsp1 — cleaves host mRNAs, inhibits interferon production, blocks the cell cycle; nsp2, nsp4, nsp6, nsp11-transform the folds of the endoplasmic reticulum and form two-layer vesicles in which the early stages of the assembly of new virus particles occur; nsp3 — ADP-ribose-1'-phosphatase and also contains two autoproteolytic fragments of papain-like proteases (PL1 and PL2 — cleavage sites are shown by arrows); nsp5 — 3C-like protease (cleavage sites are shown by arrows); nsp7, nsp9 — effectively bind to single-stranded RNAs; nsp8 — in combination with nsp7 is able to perform the function of an additional RNA-dependent RNA polymerase (RdRp — RNA-dependent RNA-polymerase); nsp10 — forms a “zinc finger”; nsp12 — basic RdRp; nsp13 — 5'→3'-helicase (Hel — helicase); nsp14 — 3'→5'-exoribonuclease (required for RdRp error correction) and guanine-N7-methyltransferase (GN7M — guanine-N7-methyltransferase); nsp15 — endoribonuclease (NendoU, NeU, — Endoribonuclease); nsp16 — 2'-O-methyltransferase (O-MT — 2'-O-methyltransferase) methylating the first two nucleotides after the m⁷G-cap. Using vgRNA⁺ as a matrix RdRp synthesizes a complement negative-sense genomic RNA (cgRNA⁻), which in turn acts as a matrix for the synthesis of vgRNA⁺ for new virions (right part of the figure). In addition RdRp synthesizes a series of subgenomic RNAs of negative polarity (sgRNA⁻) on the vgRNA matrix with a chain break and transition into the 5'-terminus of the matrix, as a result all sgRNAs of this series have the same 3'/5'-flanks and central parts of various degrees of nesting in each other (lower part of the figure). This feature of the synthetic apparatus is common to all representatives of the order Nidovirales, which is why it got its name from Latin nidos (nests). Further sgRNAs are used as a matrix for the synthesis of subgenomic positive-sense matrix RNA (sgmRNA), from which structural and some non-structural proteins are translated. Assembly of new virions occurs to the endoplasmic reticulum and then they leave the host cell by exocytosis.

HKU4 — Tylonycteris bat coronavirus HKU4) (*Betacoronavirus, Merbecovirus*); коронавирус не-топырей HKU5 (BtCoV-HKU5 — Pipistrellus bat coronavirus HKU5) (*Betacoronavirus, Merbecovirus*); коронавирус длиннокрылов HKU8 (BtCoV-HKU8 — Miniopterus bat coronavirus HKU8) (*Alphacoronavirus, Minunacovirus*); коронавирус ночных крыланов HKU9 (BtCoV-HKU9 — Rousettus bat coronavirus HKU9) (*Betacoronavirus, Nobecovirus*); коронавирус летучих мышей HKU10 (BtCoV-HKU10 — Bat coronavirus HKU10) (*Alphacoronavirus, Decacovirus*) [61, 62, 65, 134, 135, 137]; коронавирус длиннокрылов 1-го типа (BtMiCoV-1 — Miniopterus bat coronavirus 1) (*Alphacoronavirus, Minunacovirus*) [32]; коронавирус домовых гладконосов 512 (BtCoV-512 — Scotophilus bat coronavirus 512) (*Alphacoronavirus, Pedacovirus*), близкий к PEDV [116]; коронавирус ночных крыланов GCCDC1 (BtCoV-GCCDC1 — Rousettus bat coronavirus GCCDC1) (*Betacoronavirus, Nobecovirus*), родственный BtCoV-HKU9 [57]; альфакоронавирус азиатских рыбоядных ночных Sax-2011 (BtMr-AlphaCoV-Sax-2011 — Myotis ricketti alphacoronavirus Sax-2011) (*Alphacoronavirus, Myotacovirus*); альфакоронавирус китайских вечерниц SC2013 (BtNv-AlphaCoV-SC2013 — Nyctalus velutinus alphacoronavirus SC2013) (*Alphacoronavirus, Nyctacovirus*); альфакоронавирус больших подковоносов HuB2013 (BtRf-AlphaCoV-HuB2013 — Rhinolophus ferrumequinum alphacoronavirus HuB2013) (*Alphacoronavirus, Decacovirus*); коронавирус летучих мышей CDPHE15 (BtCoV-CDPHE15 — Bat corona-

virus CDPHE15) (*Alphacoronavirus, Colacovirus*); бетакоронавирус листоносов Пратта Zhejiang2013 (BtHp-BetaCoV-Zh13 — Bat Hp-beta-coronavirus Zhejiang2013) (*Betacoronavirus, Hibecovirus*) [147]; NL63-подобный коронавирус BtKYNL63-9b (NL63-rBtCoV-9b — NL63-related bat coronavirus BtKYNL63-9b) (*Alphacoronavirus, Setravcovirus*) [117], коронавирус китайских подковоносов (BtRsCoV — Rhinolophus sinicus coronavirus) [56].

В 2008 г. при вскрытии погибшего в аквариуме Сан-Диего 13-летнего самца белухи (*Delphinapterus leucas*), рожденного в неволе, было зарегистрировано генерализованное поражение легких и патологические изменения печени, в которой с помощью трансмиссионной электронной микроскопии были обнаружены вирусные частицы диаметром порядка 100 нм, не позволяющие провести достоверную идентификацию вируса. Молекулярно-генетические исследования позволили установить, что эти относительно небольшие для *Coronaviridae* вирионы содержат самый протяженный из всех известных науке РНК-содержащий геном (~31,5 kb) нового коронавируса, который сначала получил обозначение SW1 (от англ. San Diego whale N 1), а на сегодняшний день именуется коронавирусом китообразных (CetCoV — Cetacean coronavirus) (*Gammacoronavirus, Cegacovirus*) [81]. Изоляция в 2014 г. трех изолятов CetCoV от индийских афалин (*Tursiops aduncus*), содержащихся в гонконгском океанариуме, подтвердила гипотезу о широком распространении этого вируса по крайней мере среди зубатых китов (*Odontoceti*) [138].

²² Знак «плюс» в аббревиатуре сгмРНК не пишется, поскольку используется термин «матричная РНК», из которого автоматически следует позитивность полярности РНК.

Таблица 2. Структура* семейств и родов в отряде Nidovirales
 Table 2. Structure* of families and genera in the order Nidovirales

Подотряд Suborder	Семейство Family	Подсемейство Subfamily	Род Genus	Прототипный вирус рода** Prototype virus for the genus**	Хозяева вирусов рода*** Hosts of the viruses from the genus***
Abnidorivirinae	Abyssoviridae	Tiamatvirinae	Alphaabyssovirus <i>Aploisia abyssorumvirus</i>	Абиссовирус морских зайцев <i>Miarterivirus afragant</i>	Брюхоногие моллюски Gastropods
		Crocarterivirinae	Muarterivirus	Миартеривирус африканских гигантских землероек <i>Miarterivirus afragant</i>	Млекопитающие Mammals
		Equarterivirinae	Alphaarterivirus	Альфаarterивирус лошадей <i>Alphaarterivirus equid</i>	Млекопитающие Mammals
		Heroarterivirinae	Lambdaarterivirus	Лямбдаarterивирус хомяковых крыс <i>Lambdaarterivirus apriogonav</i>	Млекопитающие Mammals
			Deltaarterivirus	Дельтаarterивирус геморрагической лихорадки обезьян <i>Deltaarterivirus hemfiev</i>	Млекопитающие Mammals
			Epsilonarterivirus	Эпсилонarterивирус геморрагического энцефалита обезьян <i>Epsilonarterivirus hemcef</i>	Млекопитающие Mammals
			Etaarterivirus	Этаarterивирус угандийских красных колобусов 1-го типа <i>Etaarterivirus ugargo 1</i>	Млекопитающие Mammals
	Arnidovirinae	Iotaarterivirus		Йотакоронавирус краснохвостых мартышек Кибале <i>Iotaarterivirus kibreg 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Thetaarterivirus		Тетаarterивирус желтых бабуинов Микуми 1-го типа <i>Thetaarterivirus mikelwa 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Zetaarterivirus		Зетаarterивирус угандийских красных колобусов 1-го типа <i>Zetaarterivirus ugargo 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Betaarterivirus		Бетаarterивирус свиней 1-го типа, или вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней <i>Betaarterivirus suid 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Variarterivirinae	Gammaarterivirus	Гаммаarterивирус повышения уровня лактатдегидрогеназы мышей <i>Gammaarterivirus lacdeh</i>	Млекопитающие Mammals
		Zealarterivirinae	Kappaarterivirus	Каппаarterивирус синдрома шаткости поссумов <i>Kappaarterivirus wobum</i>	Млекопитающие Mammals
		Letovirinae	Alphaletoivirus	Летовирус узкоротых квакш 1-го типа <i>Microhyla letonivirus 1</i>	Земноводные Amphibia
Cornidovirinae	Coronaviridae	Orthocoronavirinae	Альфакоронавирус <i>Alphacoronavirus</i>	Альфакоронавирус 1 <i>Alphacoronavirus 1</i>	Млекопитающие Mammals
			Betacoronavirus	Коронавирус мышей <i>Murine coronaviru</i>	Млекопитающие Mammals

Подотряд Suborder	Семейство Family	Подсемейство Subfamily	Род Genus	Прототипный вирус рода** Prototype virus for the genus**	Хозяева вирусов рода*** Hosts of the viruses from the genus***
Cornidovirinae	Coronaviridae	Orthocoronavirinae	Deltacoronavirus	Коронавирус бульбюлей НКУ11 <i>Bulbul coronavirus HKU11</i>	Птицы, млекопитающие Birds, mammals
			Gammacoronavirus	Коронавирус птиц <i>Avian coronavirus</i>	Птицы, млекопитающие Birds, mammals
Mesnidovirinae	Medioniviridae	Medionivirinae	Turinivirus	Нидовирус туррителл 1-го типа <i>Turritilivirus 1</i>	Брюхоногие моллюски Gastropods
	Tunicaniviridae	Tunicanivirinae	Boletivirus	Нидовирус темных колониальных асцидий <i>Botrylloides leachii nidovirus</i>	Асцидии Ascidians
	Mesoniviridae	Hexonivirinae	Alphamesonivirus	Альфамезонивирус 1-го типа <i>Alphamesonivirus 1</i>	Моллюски Molluscs
	Monodovirinae	Mononivirinae	Alphamononivirus	Нидовирус планарий 1-го типа <i>Planidovirus 1</i>	Ресничные черви Turbellarian worms
		Cerovirinae	Charybnivirus	Нидовирус морских плавающих крабов 1-го типа <i>Charybnivirus 1</i>	Высшие раки Malacostraca
	Euroniviridae	Crustonivirinae	Paguronivirus	Нидовирус рака-отшельника 1-го типа <i>Paguronivirus 1</i>	Высшие раки Malacostraca
Ronivirinae	Roniviridae	Okanivirinae	Okavirus	Нидовирус, поражающий жабры креветок <i>Gill-associated virus</i>	Высшие раки Malacostraca
		Piscanivirinae	Bafinivirus	Нидовирус густер <i>White bream virus</i>	Рыбы Pisces
			Oncotshavirus	Нидовирус тихоокеанских лососей 1-го типа <i>Chinook salmon nidovirus 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Remotovirinae	Bostovirus	Нидовирус крупного рогатого скота 1-го типа <i>Bovine nidovirus 1</i>	Хромадореи Chromadorea
			Infratovirus	Infratovirus 1	Пресмыкающиеся Reptiles
			Pregotovirus	Нидовирус королевских питонов <i>Ball python nidovirus 1</i>	Хромадореи Chromadorea
	Torridovirinae	Tobaniviridae	Serpentovirus	Sectovirus 1	Пресмыкающиеся Reptiles
				Нидовирус короткохвостого синника 1-го типа <i>Shingleback lizard virus 1</i>	Млекопитающие Mammals
		Torovirinae	Torovirus	Торовирус лошадей <i>Equine torovirus</i>	

* Порядок следования подотрядов, семейств внутри каждого подотряда, подсемейств внутри каждого семейства и родов внутри каждого подсемейства соответствует их латинскому названию.

** Названия вирусов, представляющие бинарную номенклатуру, выделены курсивом, уникальные названия вирусов — жирным шрифтом.

*** Указанны классы потенциальных хозяев.

* The consequence of suborders, families within each suborder, subfamilies within each family, and genera within each subfamily corresponds to their Latin name.

** Virus names that represent a binary nomenclature are shown in italics, whereas unique virus names are shown in bold font.

*** Classes of potential hosts are specified.

История изучения вируса Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome-related coronavirus)²³ (*Betacoronavirus*, *Merbecovirus*) началась в июне 2012 г., когда из назофарингеального смыва 60-летнего мужчины с внебольничной пневмонией, позже скончавшегося в госпитале г. Джидда (западная часть Саудовской Аравии), был получен вирусный изолят с выраженным цитопатическим эффектом на модели перевиваемых клеточных линий почек африканской зеленой мартышки (Vero) и макаки-резус (LLC-MK-2). Полимеразная цепная реакция с универсальными коронавирусными праймерами позволила провести первичную идентификацию возбудителя как представителя *Coronaviridae* [149]. Последующим секвенированием, проведенным в университете Эразмус (Нидерланды), было установлено, что новый бетакоронавирус родственен, но не идентичен SARS-CoV, будучи наиболее близок в генетическом отношении к BtCoV-HKU4 и BtCoV-HKU5 [28, 120]. В сентябре 2012 г. в одну из лондонских клиник поступил 49-летний мужчина с внебольничной двусторонней пневмонией. Пациент был доставлен из госпиталя Катара, до этого посещал Саудовскую Аравию и скончался на 30 сутки от начала заболевания. Из трахеальных аспиратов пациента был также изолирован штамм MERS-CoV [21]. Ретроспективные серологические исследования показали, что по меньшей мере 9 случаев внебольничных пневмоний, из которых 2 завершились летально (подтверждены с помощью ОТ-ПЦР патологического материала), среди пациентов иорданских госпиталей в марте-апреле (12–24 недели) 2012 г. были связаны с MERS-CoV [13], и стало понятно, что человечество столкнулось с новым особо опасным коронавирусом. Анализ инфекционной динамики MERS-CoV позволил отечественным специалистам сделать в конце 2013 г. прогноз о «возросшем уровне эпидемической опасности» [11], который сбылся с началом масштабной эпидемической вспышки весной–летом (14–24 недели) 2014 г. на территории Саудовской Аравии с летальностью 42,1% (110/261) [87]. В начале 2015 г. был сделан очередной прогноз о том, что с высокой вероятностью возможен завоз MERS-CoV в Восточную Азию [7]: действительно, в период 11.05–10.07.2015 в результате завозного случая на территории Республики Корея возникла крупнейшая за пределами Аравийского

полуострова эпидемическая вспышка, вызванная MERS-CoV, с летальностью 18,5% (35/189) [8, 90]. По данным ВОЗ на начало января 2020 г., летальность от MERS-CoV в 27 странах мира составила 34,4% (866/2519) [142].

Природные очаги MERS-CoV находятся на территории Аравийского полуострова, где в качестве резервуара вируса выступают рукокрылые [3, 83, 113]. Человек может заражаться MERS-CoV в результате контактов с выделениями рукокрылых либо от промежуточных хозяев. Сужение круга поиска последних методом аналогий с достаточно изученным к тому времени SARS-CoV не годилось, поскольку фауна аридных ландшафтов Аравии резко контрастирует с муссонно-субтропическими ландшафтами юго-восточного и влажными тропическими ландшафтами Южного Китая. Серологическая разведка в популяциях сельскохозяйственных животных на территории Омана показала, что 100% одногорбых верблюдов (*Camelus dromedarius*) имеют антитела против субъединицы S1 спайкового белка MERS-CoV [99]. Затем были получены прямые доказательства циркуляции в организме верблюдов вариантов MERS-CoV, идентичных эпидемическим, и возможности заражения человека от этих животных [16, 44]. Рукокрылые заражают верблюдов во время своих дневок в укрытиях для сельскохозяйственных животных. Оказалось, что иммунная прослойка против MERS-CoV среди одногорбых верблюдов имеется в Африке, включая Канарские острова [36, 84, 99]. Вместе с тем специфические анти-MERS-CoV антитела отсутствуют у одногорбых верблюдов в Австралии²⁴ [38], что свидетельствует о том, что эти животные не могут быть основным хозяином MERS-CoV. Специфические анти-MERS-CoV антитела были обнаружены у содержащихся в Катаре альпака (*Vicugna pacos*) [100]. Не исключено, что все мозоленогие (*Artiodactyla: Tylopoda*) чувствительны к MERS-CoV и могут являться промежуточным хозяином и удобным индикатором для этого вируса при наличии природного резервуара — рукокрылых, содержащих вирус. Это предположение согласуется с отсутствием иммунной прослойки у двугорбых верблюдов (*Camelus bactrianus*) на неэндемичных для MERS-CoV территориях: в Казахстане [80], Монголии [27] и Северном Китае [70]. Несмотря на то что поиск хозяев MERS-CoV

²³ Для MERS-CoV было предложено несколько временных названий: вирус острого респираторного синдрома с почечной недостаточностью (ARSRV — acute respiratory syndrome with renal failure), новый коронавирус (NCoV — novel coronavirus), EMC/2012 (от англ. Erasmus Medical Center, 2012). Последнее предложение являлось наиболее радикальной новацией, поскольку неизвестно ни одного названия вируса (в отличие от штаммов), в котором бы фигурировало название научно-исследовательского учреждения.

²⁴ Одногорбые верблюды были завезены в Австралию с территории Аравийского полуострова, Пакистана и Афганистана в XIX в. и активно использовались тогда как транспортное средство на аридных территориях. С появлением автомобилей в начале XX в. нужда в гужевом транспорте постепенно отпала, верблюды одичали и на сегодняшний день представляют крупнейшее (порядка 800 тыс. голов) и единственное дикое стадо одногорбых верблюдов в мире.

среди других домашних животных — крупного рогатого скота, лошадей, коз, овец — не увенчался успехом [55, 99], эти исследования существенно стимулировали изучение коронавирусов в популяциях млекопитающих помимо рукокрылых.

Молекулярно-генетический скрининг 169 образцов фекалий свиней без клинических признаков заболеваний, собранных в Гонконге в период 2007–2011 гг., показал, что в 17 (10,1%) из них присутствует новый коронавирус, получивший сначала обозначение HKU15, а затем — дельтакоронавирус свиней (PDCoV — Porcine deltacoronavirus) (*Deltacoronavirus*, *Buldecovirus*) [137]. В 2014 г. результаты расшифровки эпизоотий диареи среди домашних свиней в американских штатах Огайо и Индиана позволили обозначить PDCoV этиологическим агентом этого заболевания [125, 127]. Нуклеотидные последовательности Hel-, S- и N-генов PDCoV менее чем на 2% отличаются от коронавируса бенгальских кошек²⁵ (ALCCoV — Asian leopard cat coronavirus)²⁶ [42], что свидетельствует о более широком круге потенциальных хозяев PDCoV.

В результате молекулярно-вирусологического обследования популяций грызунов в восточнокитайской провинции Чжэцзян, выполненного в 2011–2013 гг., были идентифицированы три вида (в названиях которых фигурируют название административного района и сокращенное латинское название хозяина): коронавирус мышей Лунцюань Аa (LAMV — Longquan Aa mouse coronavirus) от полевой мыши (*Apodemus agrarius*), коронавирус крыс Лунцюань R1 (LRLV — Longquan R1 rat coronavirus) от малой рисовой крысы (*Rattus losea*) и коронавирус крыс Лунцюань Rn (LRNV — Lucheng Rn rat coronavirus) от серой крысы (*R. norvegicus*) [126]. Последующий анализ геномов показал, что LAMV является вариантом BetaCoV-1, LRLV — MCoV, а LRNV (*Alphacoronavirus*, *Luchacovirus*) имеет статус самостоятельного вида. Аналогичные исследования грызунов сотрудники Гонконгского университета проводили в южных провинциях Китая в 2010–2012 гг., идентифицировав коро-

нивирус крыс Китая HKU24 (CRCoV-HKU24 — China Rattus coronavirus HKU24) (*Betacoronavirus*, *Embecovirus*) [63].

В 2014 г. вирусологи из Боннского университета (Германия) сообщили об идентификации нового коронавируса, близкого к SARS-CoV, от обыкновенного ежа (*Erinaceus europaeus*) [37]. В научной литературе широко распространено первоначальное название этого вида — EriCoV (*Erinaceus coronavirus*) — но в настоящее время, ICTV рекомендует другое название: коронавирус ежей 1-го типа (HdCoV-1 — Hedgehog coronavirus 1)²⁷ (*Betacoronavirus*, *Merbecovirus*). HdCoV широко распространен в популяциях *E. europaeus* Западной Европы, включая Великобританию [37, 106]. Вирус поражает слизистую кишечника и выделяется с фекалиями, которые могут приобретать желтый или зеленый оттенок, однако ни диарея, ни другие клинические проявления HdCoV-1-инфекции не наблюдаются. В генетическом отношении HdCoV близок к MERS-CoV, что требует проверки гипотезы о циркуляции MERS-CoV-подобных вирусов в популяциях эфиопских ежей (*Paraechinus aethiopicus*), ареал которых включает Северную Африку, Судан и Аравийский полуостров, и длинноиглых ежей (*Paraechinus hypomelas*) — типичных обитателей аравийских оазисов.

P.C. Woo с соавт. (2009), проведя молекулярно-генетическое обследование более чем полутора тысяч мертвых птиц, собранных на территории Гонконга, обнаружили три новых представителя *Coronaviridae*: коронавирус бульбюлей²⁸ HKU11 (BuCoV-HKU11 — Bulbul coronavirus HKU11) (*Deltacoronavirus*, *Buldecovirus*); коронавирус дроздов²⁹ HKU12 (ThCoV-HKU12 — Thrush coronavirus HKU12), который является подвидом BuCoV-HKU11; коронавирус муний³⁰ HKU13 (MuCoV-HKU13 — Munia coronavirus HKU13) (*Deltacoronavirus*, *Buldecovirus*). Позже та же исследовательская группа опубликовала результаты выявления из трахеальных смывов гонконгских птиц коронавируса белоглазок³¹ (WECoV-HKU16 — White eye coronavirus HKU16) (*Deltacoronavirus*, *Buldecovirus*); коронавируса воробьев HKU17 (SpCoV-HKU17 — Sparrow

²⁵ Бенгальская кошка (*Prionailurus bengalensis*) не относится к леопардам (*Panthera pardus*), но переводится на англ. как Asian leopard cat из-за ее пятнистой, «леопардовой», окраски. На юге российского Дальнего Востока этот вид называется « дальневосточный кот ».

²⁶ Геном ALCCoV секвенирован лишь частично — см. GenBank ID EF584908.

²⁷ Предполагается, что в других родах настоящих ежей (*Erinaceinae*) могут встречаться коронавирусы других типов.

²⁸ В некоторых руководствах этот вирус ошибочно переводится как коронавирус соловьев HKU11, поскольку в английском языке слово «bulbul» является синонимом «nightingale» (соловья). Однако соловьи (*Luscinia* sp.) принадлежат семейству мухоловковых (*Passeriformes: Muscicapidae*) и отличаются от бульбюлей — представителей сем. бульбюлевых, или короткопалых дроздов (*Passeriformes: Pycnonotidae*). BuCoV-HKU11 был изолирован от китайских бульбюлей (*P. sinensis*) и краснощеких бульбюлей (*P. jocosus*). Бульбюли распространены в тропических и субтропических лесах Африки и Азии.

²⁹ ThCoV-HKU12 был изолирован от сизых дроздов (*Turdus hortulorum*), гнездящегося в северных китайских провинциях и на юге российского Дальнего Востока, зимующего — на юге Китая, во Вьетнаме, Лаосе, Мьянме и севере Таиланда.

³⁰ MuCoV-HKU13 был изолирован от острохвостых бронзовых амадин (*Lonchura striata*) из рода муний семейства вьюрковых ткачиков (*Passeriformes: Estrildidae*), обитающих в Юго-Восточной Азии и на полуострове Индостан.

³¹ Белоглазки (*Zosterops* sp.) — небольшие птицы из семейства белоглазковых (*Passeriformes, Zosteropidae*) с характерным ободком из белых перьев вокруг глаз, обитающие в лесах субсахаральной Африки, полуострова Индостан, Восточной (включая юг российского Дальнего Востока) и Юго-Восточной Азии, Австралии и Океании.

coronavirus HKU17), идентичного PDCoV; коронавируса сорочьих славок³² HKU18 (MRCoV-HKU18 — magpie robin coronavirus HKU18), идентичного MuCoV-HKU13; коронавируса квакв³³ (NHCoV-HKU19 — Night heron coronavirus HKU19) (*Deltacoronavirus, Herdecovirus*); коронавируса свиязей HKU20 (WiCoV-HKU20 — Wigeon coronavirus HKU20); коронавируса камышниц HKU21 (CMCoV-HKU21 — Common moorhen coronavirus HKU21) (*Deltacoronavirus, Moordecovirus*) [137].

В начале декабря 2019 г. в срединной китайской провинции Хубэй стали развиваться эпидемические события, связанные с новым коронавирусом, способным вызывать у людей тяжелые (вплоть до летальных) первичные вирусные пневмонии. Первый случай такой пневмонии был официально зарегистрирован в г. Ухань 08.12.2019 г. [103]. Уже 30.12.2019 г. медицинское управление городского комитета здравоохранения Уханя выпустили «срочное уведомление о появлении пневмонии неясной этиологии». 03.01.2020 г. ВОЗ объявила о 44 заболевших, из которых 27 (61,4%) посещали Рыбный рынок Уханя, на котором продавалось большое количество диких животных. 07.01.2020 г. изолированный этиологический агент заболевания был идентифицирован как представитель *Coronaviridae* и получил временное обозначение 2019-nCoV (novel coronavirus 2019) [148]. 12.01.2020 г. был анонсирован полноразмерный геном нового коронавируса, что позволило приступить к разработке ОТ-ПЦР тест-систем и генно-инженерных препаратов [30, 143]. Заболевание, связанное с 2019-nCoV, получило название COVID-2019 (Coronavirus Disease 2019) [146].

Одиннадцатимиллионный г. Ухань является столицей одной из наиболее (60 млн человек) густонаселенных (323 человек/км²) китайских провинций с развитой системой транспортного сообщения, поэтому эпидемия быстро развивалась в эпицентре (в провинции Хубэй) и сопровождалась большим количеством завозных случаев как в другие провинции Китая, так и в другие страны [91, 131]. Уже к 30.01.2020 г. Комитет ВОЗ по чрезвычайным ситуациям объявил эпидемическую вспышку в провинции Хубэй, вызванную 2019-nCoV, чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение: общая летальность по миру составила 2,2% (170/7818); вне Китая — 0,0% (0/82) (в 18 странах) [145]. Эти же цифры на момент завершения дан-

ной статьи 29.02.2020 г.: 3,4% (2924/85 403); 1,4% (86/6009) (в 53 странах) [144]. Неготовность многих стран мира к проведению столь же жестких противоэпидемических мероприятий, какие осуществил Китай, делает реальным разрастание нынешней эпидемии в полномасштабную пандемию³⁴.

Геном 2019-nCoV оказался гомологичен MERS-CoV на 50%, SARS-CoV — 79%, BtRsCoV — 88%. Учитывая особенности структуры генома нового коронавируса 2019-nCoV, ICTV переименовал его в вирус острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome 2) и вместе с SARS-CoV и BtRsCoV включил в подрод *Sarbecovirus* (*Betacoronavirus*) [46]. SARS-CoV-2 является природно-очаговым с резервированием вируса в популяциях рукокрылых: наиболее близким штаммом от рукокрылых является RaTG13 (гомология 96%), который может быть сведен в синонимы SARS-CoV-2. Промежуточными хозяевами могут являться мелкие млекопитающие. Это, в частности, объясняет, почему источником вируса стал рынок Уханя [72, 105, 128, 150]. Хозяевами SARS-CoV-2 могут являться панголины: нуклеотидные последовательности, идентичные SARS-CoV-2, были обнаружены методом метагеномного секвенирования у яванских ящеров (*Manis javanica*) [39, 59, 69, 133]. Мясо панголинов является деликатесом в странах Юго-Восточной Азии, а кожные чешуи широко используются в восточной медицине, что делает этих животных, входящих в Международную Красную книгу, одними из наиболее массовых объектов нелегальной торговли [112].

Гипотеза W. Ji с соавт. (2020) о возможной роли китайской кобры (*Naja atra*) и южно-китайского многополосого краята (*Bungarus multicinctus*) в качестве хозяев SARS-CoV2 описывается исключительно на сопоставлении частоты встречаемости синонимичных кодонов в геноме вируса и потенциального хозяина, не подтверждена результатами полевых исследований и крайне маловероятна, учитывая экологию вирусов из подрода *Sarbecovirus* и отсутствием известных науке коронавирусов пресмыкающихся (*Reptilia*). И хотя последние могут быть обнаружены в будущем, скорее всего они будут формировать отдельное подсемейство наподобие *Letovirinae* (см. далее).

Первая классификация коронавирусов сложилась к концу первого десятилетия XXI в. (в то время — рода *Coronavirus* в составе *Coronaviridae*,

³²Сорочья славка, или сорочий шама-дрозд (*Copsychus saularis*) — небольшая птица из сем. мухоловковых (*Passeriformes: Muscicapidae*) с характерной черной окраской и крупными белыми пятнами на боках, обитающая на полуострове Индостан и в Юго-Восточной Азии.

³³NHCoV-HKU19 изолирован от обыкновенных квакв (*Nyctcorax nycticorax*), широко распространенных в Северной и Южной Америке, Африке и южном пояссе Евразии за исключением Восточной Сибири и Тибета.

³⁴Уже после направления статьи в журнал, 11.03.2020, ВОЗ объявила начало пандемии COVID-19. — Прим. ред.

что соответствует сегодня подсемейству *Orthocoronavirinae*, см. табл. 1, 2) и основывалась на различиях их рецепторной специфичности [2, 123]. К первой группе были отнесены коронавирусы, использующие в качестве клеточного рецептора N-аминопептидазу (APN — Aminopeptidase N), которая также известна как маркер клеточной дифференцировки CD13: ССoV-1, ССoV-2, FECV, FIPV, PRCV, TGEV (воведшие позже в AlphaCoV-1); ECGV (MkCoV-1); ECEV, FSCV (FrCoV); HCoV-229E; PEDV. Вторая группа включала коронавирусы, для которых имелось два альтернативных клеточных рецептора — молекула клеточной адгезии, ассоциированная с раково-эмбриональным антигеном, 1 типа (CEACAM1 — Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1), или CD66a, и N-ацетил-9-O-ацетилнейраминовая кислота (Neu5,9Ac2 — N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid): BCoV, CRCoV, ECoV, HCoV-OC43 (BetaCoV-1); HCoV-HKU1; MHV, RtCoV (MCoV). Третья группа объединяла в себе коронавирусы, специфичные к α 2'-3'-сиалозидам — полисахаридам, терминированным сиаловой, или N-ацетилнейраминовой, кислотой (Neu5Ac — N-acetylneuraminic acid), связанной со следующим моносахаридом α 2'-3'-связью: IBV, TCoV (ACoV), SW1 (CetCoV).

Классификация, основанная на рецепторной специфичности, с самого начала подвергалась критике, потому что спайковый белок S, взаимодействующий с клеточным рецептором, является наименее вариабельным и отражает процесс адаптации к потенциальным хозяевам, а не эволюционные связи между различными коронавирусами. В дальнейшем выяснилось, что вновь открытые HCoV-NL63 и SARS-CoV, генетически близкие по константным генам (RdRp, Hel, N) к вирусам второй группы, специфически связываются с ангиотензинпревращающим ферментом 2 типа (ACE2 — angiotensin-converting enzyme 2). Пришлось разделить группу 2 на две подгруппы: 2A (включающую прежнюю группу 2) и 2B (HCoV-NL63 и SARS-CoV). Специфичность представителей подгруппы 2A в отношении Neu5,9Ac2 объясняется наличием гликопroteина гемагглютинин-эстеразы, аффинного к такому типу сиалозидов. Открытие MERS-CoV, BtCoV-HKU4 и BtCoV-HKU5, для которых рецептором является дипептидилпептидаза 4 типа (DPP4 — dipeptidyl peptidase 4), или CD26, потребовало введения подгруппы 2C.

Очередная подгруппа 2D понадобилась в связи с открытием BtCoV-HKU9 и BtCoV-GCCDC1. Первая группа дифференцировалась в две подгруппы из-за различий в структуре 3' концептуального набора генов: подгруппа 1a (CCoV, FIPV, FrCoV, MkCoV-1, TGEV) не имеет, а подгруппа 1b (HCoV-229E, HCoV-NL63, PEDV) имеет дополнительную рамку считывания для одного или двух неструктурных белков между генами S и E. Аналогичная дифференцировка имела место в третьей группе: подгруппа 3A (IBV, TCoV, PhCoV) содержит рамки считывания для двух, подгруппа 3B (SW1) — для трех, а подгруппа 3C (BuCoV-HKU11, MuCoV-HKU13 и др. — см. табл. 1) — для более чем трех неструктурных белков между генами S и E [3, 7, 11, 33, 41, 124, 136].

Таким образом, в начале второго десятилетия XXI в. таксономическая структура рода *Coronavirus* оказалась настолько мозаичной, что потребовалось повышение ранга таксонов, и в IX Таксономическом каталоге ICTV (2011 г.) [124] род *Coronavirus* перешел в статус подсемейства *Coronavirinae*. Поскольку нумерацию групп часто заменяли символыми обозначениями α , β , γ , то первые четыре буквы древнегреческого алфавита и положили в основу названий четырех новых родов: группа 1 → *Alphacoronavirus*, группа 2 → *Betacoronavirus*, подгруппы 3a и 3b → *Gammacoronavirus*, подгруппа 3c → *Deltacoronavirus*.

В августе 2018 г. таксономическая структура *Coronaviridae* подверглась очередной серьезной ревизии. Во-первых, было введено понятие подрода³⁵. В основу выделения подродов положены пороговые значения патристических дистанций на филогенетическом дереве, построенным методом наибольшего правдоподобия после множественного выравнивания полноразмерных геномов всех известных представителей семейства. В настоящее время этот порог для подрода принят равным 0,186, для рода — 0,789, для подсемейства — 1,583 (может постепенно меняться в зависимости от расширения множества известных коронавирусов) [151]. Во-вторых, исследуя транскриптомы раскрашенных карликовых квакш (*Microhyla fissipes*)³⁶, K. Bukhari с соавт. (2018) с помощью методов метагеномного анализа описали новый коронавирус, получивший название летовирус узкоротых квакш 1-го типа (MLeV-1 — *Microhyla letovirus* 1)³⁷ (*Alphaletovirus*, *Milecovirus*). Этот вирус, будучи генетически дистантен по отноше-

³⁵Хотя таксономическое окончание подрода пока еще совпадает с окончанием рода — см. табл. 1 — не приходится сомневаться, что эта терминологическая неоднозначность будет исправлена.

³⁶Этот вид из рода узкоротых квакш (*Microhylidae*, *Microhyla*) распространен на территории центрального и южного Китая и полуострова Малакка.

³⁷MLeV других типов пока неизвестны. Однако узкоротые квакши (*Microhyla* spp.) — обширный род микроквакш (*Anura: Microhylidae*), включающий несколько десятков видов с разнообразной экологией на обширном ареале от полуострова Индостан до Японии и островов Малайского архипелага. Биологическое разнообразие этого рода потенциальных хозяев вируса столь велико, что требуется заранее учесть вероятность появления новых типов MLeV.

нию ко всем представителям *Orthocoronavirinae*, был выделен ICTV в отдельное подсемейство *Letovirinae*. Появление среди коронавирусов инфекционных агентов земноводных (*Amphibia*), с одной стороны, нарушает экологическую целостность этого семейства, лишь недавно обретенную после исключение из него подсемейства *Torovirinae*, содержащего вирусы рыб³⁸ [3, 124] и имеющего теперь ранг самостоятельного семейства *Tobaniviridae* (табл. 2). С другой стороны, появляется надежда обнаружить в результате расширения спектра потенциальных хозяев следы более древней эволюции коронавирусов.

Учитывая обнаружение коронавирусов земноводных и гораздо большую близость птиц (одних из основных хозяев коронавирусов) к пресмыкающимся, нежели к амфибиям, можно предполагать существование вирусов этого семейства, поражающих и рептилий (вероятнее всего — в составе отдельного подсемейства).

Подсемейство *Orthocoronavirinae* тесно связано с крылатыми животными, которые являются природными резервуарами для этих вирусов: рукокрылые — для *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*, птицы — для *Deltacoronavirus* и *Gammacoronavirus*. Наличие специализированных к млекопитающим подродов (см. табл. 1)

является результатом расширения коронавирусами спектра их потенциальных хозяев вследствие высокой экологической пластиичности. И здесь на первый план выходит эпидемический (и пандемический) потенциал коронавирусов. Особо опасные для человека коронавирусы входят в состав двух бетакоронавирусных подродов: *Sarbecovirus* (SARS-CoV и SARS-CoV-2) и *Merbecovirus* (MERS-CoV). Понятно, что вирусы рукокрылых уже адаптированы к клеткам млекопитающих, и им проще проникать в популяции людей, однако и коронавирусы птиц не стоит исключать из контекстного анализа: их рецепторная специфичность к α2'-3'-сиалозидам подобна таковой у вирусов гриппа А птиц и некоторых вариантов эпидемических штаммов, способных поражать нижние отделы респираторного тракта человека [10, 73, 74]. Принимая во внимание миграционные способности рукокрылых и особенно птиц, следует не только включить коронавирусы в мониторинговые программы, но и существенно расширить масштаб и глубину эколого-вирусологоческого мониторинга [1, 3, 12, 73] с привлечением профильных научных советов Российской академии наук, проводящих комплексное изучение биологического разнообразия.

Список литературы/References

- Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л., Давыдова А.А., Колобухина Л.В., Львов С.Д., Щелканов М.Ю. Атлас распространения возбудителей природноочаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: Изд-во МЗ РФ, 2001. 192 с. [Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L., Davydova A.A., Kolobukhina L.V., Lvov S.D., Shchelkanov M.Yu. Atlas of distribution of natural foci virus infections on the territory of Russian Federation. Moscow: Publishing House of the Ministry of Public Health of Russian Federation, 2001. 192 p. (In Russ.)]
- Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2008. 656 с. [Medical virology. Ed. Lvov D.K. Moscow: Medical Information Agency, 2008. 656 p. (In Russ.)]
- Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013. 1200 с. [Handbook of virology. Viruses and viral infections of humans and animals. Ed. Lvov D.K. Moscow: Medical Information Agency, 2013. 1200 p. (In Russ.)]
- Пульмонология. Национальное руководство. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 800 с. [Pulmonology. National guide. Ed. A.G. Chuchalin. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 800 p. (In Russ.)]
- Сопиков П.М. Болезни птиц. М.—Л.: Сельхозгиз, 1953. 288 с. [Sopikov P.M. Avian diseases. Moscow—Leningrad: Selkhozgiz, 1953. 288 p. (In Russ.)]
- Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром // Архив патологии. 2004. № 3. С. 5–11. [Chuchalin A.G. Severe acute respiratory syndrome. Arkhiv patologii =Archive of Pathology, 2004, no. 3, pp. 5–11. (In Russ.)]
- Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 94–98. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will smouldering focus outbreak? Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal, 2015, no. 2, pp. 94–98. (In Russ.)]
- Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Эпидемическая вспышка Ближневосточного респираторного синдрома в Республике Корея (май-июль 2015 г.): причины, динамика, выводы // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 3. С. 25–29. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Epidemic outbreak of Middle East respiratory syndrome in the Republic of Korea (May-July, 20015): reasons, dynamics, conclusions. Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal, 2015, no. 3, pp. 25–29. (In Russ.)]
- Щелканов М.Ю., Галкина И.В., Ананьев В.Ю., Самарский С.С., Лиенхо С.Ю., Дедков В.Г., Сафонова М.В., Орехов В.Е., Щелканов Е.М., Алексеев А.Ю., Шестопалов А.М., Питрук Д.Л., Серков В.М. Экологическая обстановка на о. Тюлений в акватории Охотского моря (2015 г.): популяционные взаимодействия между ластоногими, птицами, иксодовыми

³⁸ *Torovirinae* содержал род *Bafinivirus*, в который входили вирус густер (WBV — White beam virus) и нидовирус тупоголовых гольянов (FHMNV — Fathead minnow nidovirus). В настоящее время, *Bafinivirus* сохранил за собой статус рода в *Tobaniviridae*.

- клещами и вирусами // Юг России: экология, развитие. 2017. Т. 12, № 1. С. 30–43. [Shchelkanov M.Yu., Galkina I.V., Ananiev V.Yu., Samarsky S.S., Lienho S.Yu., Dedkov V.G., Safonova M.V., Orekhov V.E., Shchelkanov E.M., Alekseev A.Yu., Shestopalov A.M., Pitruk D.L., Serkov V.M. Ecological situation on the Tyuleniy Island in the Okhotsk Sea (2015): population interactions between pinnipeds, birds, Ixodidae ticks and viruses. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye = South of Russia: Ecology, Development, 2017, vol. 12, no. 1, pp. 30–43. doi: 10.18470/1992-1098-2017-1-30-43 (In Russ.)*]
10. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез // Лечащий врач. 2011. № 10. С. 33–38. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinics, pathogenesis. *Lechashchiy vrach = The Attending Physician, 2011, no. 10, pp. 33–38. (In Russ.)*]
 11. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. 2013. № 10. С. 49–54. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. *Lechashchiy vrach = The Attending Physician, 2013, no. 10, pp. 49–54. (In Russ.)*]
 12. Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Новый субтип вируса гриппа А от летучих мышей и новые задачи экологово-вирусологического мониторинга // Вопросы вирусологии. 2012. Приложение 1. С. 159–168. [Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. New subtype of influenza A virus from bats and new tasks for ecologo-virological monitoring. *Voprosy virusologii. Prilozhenie 1 = Problems of Virology, suppl. 1, 2012, pp. 159–168. (In Russ.)*]
 13. Al-Abdallat M.M., Payne D.C., Alqasrawi S., Rha B., Tohme R.A., Abedi G.R., Al Nsour M., Iblan I., Jarour N., Farag N.H., Haddadin A., Al-Sanouri T., Tamin A., Harcourt J.L., Kuhar D.T., Swerdlow D.L., Erdman D.D., Pallansch M.A., Haynes L.M., Gerber S.I. Hospital associated outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus: a serologic, epidemiologic, and clinical description. *Clin. Infect. Dis., 2014, vol. 59, pp. 1225–1233. doi: 10.1093/cid/ciu359*
 14. Alexander T.J., Richards W.P., Roe C.K. An encephalomyelitis of suckling pigs in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., 1959, vol. 23, pp. 316–319.*
 15. Almeida J.D., Berry D.M., Cunningham C.H., Hamre D., Hofstad M.S., Mallucci L., McIntosh K., Tyrrell D.A.J. Virology: Coronaviruses. *Nature, 1968, vol. 220, p. 650. doi: 10.1038/220650b0*
 16. Azhar E.I., El-Kafrawy S.A., Farraj S.A., Hassan A.M., Al-Saeed M.S., Hashem A.M., Madani T.A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N. Engl. J. Med., 2014, vol. 370, no. 26, pp. 2499–2505. doi: 10.1056/NEJMoa1401505*
 17. Bailey O.T., Pappenheimer A.M., Cheever F.S., Daniels J.B. A murine virus (JHM) causing disseminated encephalomyelitis with extensive destruction of myelin: II. Pathology. *J. Exp. Med., 1949, vol. 90, pp. 195–212. doi: 10.1084/jem.90.3.195*
 18. Baker D.G. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin. Microbiol. Rev., 1998, vol. 11, no. 2, pp. 231–266.*
 19. Bande B., Arshad S.S., Omar A.R., Hair-Bejo M., Mahmuda A., Nair V. Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: a review. *Anim. Health Res. Rev., 2017, vol. 18, no. 1, pp. 70–83. doi: 10.1017/S1466252317000044*
 20. Barthold S.W. Host age and genotypic effects on enterotropic mouse hepatitis virus infection. *Lab. Anim. Sci., 1987, vol. 37, no. 1, pp. 36–40.*
 21. Bermingham A., Chand M.A., Brown C.S., Aarons E., Tong C., Langrish C., Hoschler K., Brown K., Galiano M., Myers R., Pebody R.G., Green H.K., Boddington N.L., Gopal R., Price N., Newsholme W., Drosten C., Fouchier R.A., Zambon M. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill., 2012, vol. 17, p. 10290.*
 22. Binn L.N., Lazar E.C., Keenan K.P., Huxsoll D.L., Marchwicki R.H., Strano A.J. Recovery and characterization of a coronavirus from military dogs with diarrhea. *Proc. Annu. Meet. US Anim. Health Assoc., 1974, vol. 78, pp. 359–366.*
 23. Bruckova M., McIntosh K., Kapikian A.Z., Chanock R.M. The adaptation of two human coronavirus strains (OC38 and OC43) to growth in cell monolayers. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1970, vol. 135, no. 2, pp. 431–435. doi: 10.3181/00379727-135-35068*
 24. Bukhari K., Mulley G., Gulyaeva A.A., Zhao L., Shu G., Jiang J., Neuman B.W. Description and initial characterization of metatranscriptomic nidovirus-like genomes from the proposed new family Abyssviridae, and from a sister group to the Coronavirinae, the proposed genus Alphaletovirus. *Virology, 2018, vol. 524, pp. 160–171. doi: 10.1016/j.virol.2018.08.010*
 25. Callow K.A., Parry H.F., Sergeant M., Tyrrell D.A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol. Infect., 1990, vol. 105, pp. 435–446. doi: 10.1017/s0950268800048019*
 26. Cavanagh D. A nomenclature for avian coronavirus isolates and the question of species status. *Avian Pathol., 2001, vol. 30, no. 2, pp. 109–115. doi: 10.1080/03079450120044506*
 27. Chan S.M.S., Damdinjav B., Perera R.A.P., Chu D.K.W., Khishgee B., Enkhbold B., Poon L.L., Peiris M. Absence of MERS-coronavirus in Bactrian camels, Southern Mongolia, November 2014. *Emerg. Infect. Dis., 2015, vol. 21, pp. 1269–1271. doi: 10.3201/eid2107.150178*
 28. Chan J.F., Li K.S., To K.K., Cheng V.C., Chen H., Yuen K.Y. Is the discovery of the novel human betacoronavirus 2c EMC/2012 (HCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic? *J. Infect., 2012, vol. 65, no. 6, pp. 477–489. doi: 10.1016/j.jinf.2012.10.002*
 29. Cheever F.S., Daniels J.B., Bailey O.T., Pappenheimer A.M. A murine virus (JHM) causing disseminated encephalomyelitis with extensive destruction of myelin. I. Isolation and biological properties of the virus. *J. Exp. Med., 1949, vol. 90, pp. 181–194.*
 30. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol., 2020, vol. 92, no. 4, pp. 418–423. doi: 10.1002/jmv.25681*
 31. Chen X., Zhang X.X., Li C., Wang H., Wang H., Meng X.Z., Ma J., Ni H.B., Zhang X., Qi Y., Sun D. Epidemiology of porcine epidemic diarrhea virus among Chinese pig populations: a meta-analysis. *Microb. Pathog., 2019, vol. 129, pp. 43–49. doi: 10.1016/j.micpath.2019.01.017*
 32. Chu D.K., Poon L.L., Chan K.H., Chen H., Guan Y., Yuen K.Y., Peiris J.S. Coronaviruses in bent-winged bats (Miniopterus spp.). *J. Gen. Virol., 2006, vol. 87, pt 9, pp. 2461–246. doi: 10.1099/vir.0.82203-0*
 33. Chuck C.P., Chow H.F., Wan D.C.C., Wong K.B. Profiling of substrate specificities of 3C-like proteases from group 1, 2a, 2b, and 3 coronaviruses. *PLoS One, 2011, vol. 6, no. 11: e27228–e27228. doi: 10.1371/journal.pone.0027228*

34. Classification and nomenclature of viruses. First report of the International committee on nomenclature of viruses. Ed. Wildy P. *Basel: Karger, 1971. 81 p.*
35. Classification and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. Fenner F. *Basel: Karger, 1976. 115 p.*
36. Corman V.M., Jores J., Meyer B., Younan M., Liljander A., Said M.Y., Gluecks I., Lattwein E., Bosch B.J., Drexler J.F., Bornstein S., Drosten C., Muller M.A. Antibodies against MERS coronavirus in dromedary camels, Kenya, 1992–2013. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 8, pp. 1319–1322. doi: 10.3201/eid2008.140596
37. Corman V.M., Kallies R., Philipp H., Gopner G., Müller M.A., Eckerle I., Brünink S., Drosten C., Drexler J.F. Characterization of a novel betacoronavirus related to Middle East respiratory syndrome coronavirus in European hedgehogs. *J. Virol.*, 2014, vol. 88, no. 1, pp. 717–724. doi: 10.1128/JVI.01600-13
38. Crameri G., Durr P., Barr J., Yu M., Graham K., Williams O., Kayali G. Absence of MERS-CoV antibodies in feral camels in Australia: implications for the pathogen's origin and spread. *One Health*, 2015, vol. 1, pp. 76–82. doi: 10.1016/j.onehlt.2015.10.003
39. Cyranoski D. Did pangolins spread the China coronavirus to people? *Nature*, 2020. doi: 10.1038/d41586-020-00364-2
40. Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., Cirone F., Tempesta M., Buonavoglia C. Molecular characterisation of the virulent canine coronavirus CB/05 strain. *Virus Res.*, 2007, vol. 125, no. 1, pp. 54–60. doi: 10.1016/j.virusres.2006.12.006
41. Dijkman R., Jebbink M.F., Wilbrink B., Pyrc K., Zaaijer H.L., Minor P.D., Franklin S., Berkhouw B., Thiel V., van der Hoek L. Human coronavirus 229E encodes a single ORF4 protein between the spike and the envelope genes. *Virol. J.*, 2006, no. 3, p. 106. doi: 10.1186/1743-422X-3-106
42. Dong B.Q., Liu W., Fan X.H., Vijaykrishna D., Tang X.C., Gao F., Li L.F., Li G.J., Zhang J.X., Yang L.Q., Poon L.L., Zhang S.Y., Peiris J.S., Smith G.J., Chen H., Guan Y. Detection of a novel and highly divergent coronavirus from Asian leopard cats and Chinese ferret badgers in Southern China. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 13, pp. 6920–6926. doi: 10.1128/JVI.00299-07
43. Doyle L.P., Hutchings L.M. A transmissible gastroenteritis in pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1946, vol. 108, pp. 257–259.
44. Drosten C., Kellam P., Memish Z.A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N. Engl. J. Med.*, 2014, vol. 371, no. 14, pp. 1359–1360. doi: 10.1056/NEJMci1409847
45. Fouchier R.A., Hartwig N.G., Bestebroer T.M., Niemeyer B., de Jong J.C., Simon J.H., Osterhaus A.D. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, pp. 6212–6216. doi: 10.1073/pnas.0400762101
46. Gorbalyena A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses — a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.02.07.937862
47. Gorham J.R., Evermann J.F., Ward A., Pearson R., Shen D., Hartsough G.R., Leathers C. Detection of coronavirus-like particles from mink with epizootic catarrhal gastroenteritis. *Can. J. Vet. Res.*, 1990, vol. 54, no. 3, pp. 383–384.
48. Greig A.S., Mitchell D., Corner A.H., Bannister G.L., Meads E.B., Julian R.J. A hemagglutinating virus producing encephalomyelitis in baby pigs. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 1962, vol. 26, pp. 49–56.
49. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., Luo S.W., Li P.H., Zhang L.J., Guan Y.J., Butt K.M., Wong K.L., Chan K.W., Lim W., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Peiris J.S., Poon L.L. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, vol. 302, pp. 276–278. doi: 10.1126/science.1087139
50. Gudjonsson H., Newman B., Turner T.B. Demonstration of a virus-like agent contaminating material containing the Stockholm substrate of the Nichols pathogenic Treponema pallidum. *Br. J. Vener. Dis.*, 1970, vol. 46, pp. 435–440.
51. Gudjonsson H., Skog E. Fever after inoculation of rabbits with Treponema pallidum. *Br. J. Vener. Dis.*, 1970, vol. 46, pp. 318–322.
52. Guy J.S., Breslin J.J., Breuhaus B., Vivrette S., Smith L.G. Characterization of a coronavirus isolated from a diarrheic foal. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, pp. 4523–4526.
53. Hamre D., Procknow J.J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1966, vol. 121, pp. 190–193. doi: 10.3181/00379727-121-30734
54. Hansen M. Diseases and hygiene. In: Ed. G. Joergensen. Mink production. *Denmark: Scientific Publ.*, 1985, pp. 279–294.
55. Hemida M.G., Perera R.A., Wang P., Alhammadi M.A., Siu L.Y., Li M., Poon L.L., Saif L., Alnaeem A., Peiris M. Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013. *Euro Surveill.*, 2013, vol. 8, no. 50, pp. 20659. doi: 10.2807/1560-7917.es2013.18.50.20659
56. Hu D., Zhu C., Ai L., He T., Wang Y., Ye F., Yang L., Ding C., Zhu X., Lv R., Zhu J., Hassan B., Feng Y., Tan W., Wang C. Genomic characterization and infectivity of a novel SARS-like coronavirus in Chinese bats. *Emerg. Microbes Infect.*, 2018, vol. 7, no. 1, p. 154. doi: 10.1038/s41426-018-0155-5
57. Huang C., Liu J., Xu W., Jin T., Shi Y., Ji W., Jia H., Zhou Y., Wen H., Zhao H., Liu H., Li H., Wang Q., Wu Y., Wang L., Liu D., Liu G., Yu H., Holmes E., Lu L., Gao G.F. A bat-derived putative cross-family recombinant coronavirus with a reovirus gene. *PLoS Pathog.*, 2016, vol. 12, no. 9: e1005883. doi: 10.1371/journal.ppat.1005883
58. Ji W., Wang W., Zhao X., Zai J., Li X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, no. 4, pp. 433–440. doi: 10.1002/jmv.25682
59. Lam T.T., Shum M.H., Zhu H.C., Tong Y.G., Ni X.B., Liao Y.S., Wei W., Cheung W.Y., Li W.J., Li L.F., Leung G.M., Holmes E.C., Hu Y.L., Guan Y. Identification of 2019-nCoV related coronaviruses in Malayan pangolins in southern China. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.02.13.945485
60. Larsen A.E., Gorham J.R. A new mink enteritis: an initial report. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 1975, vol. 70, pp. 291–292.
61. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., Guo R., Wong B.H., Poon R.W., Lam C.S., Wang S.Y., Fan R.Y., Chan K.H., Zheng B.J., Woo P.C., Yuen K.Y. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 21, pp. 11906–11918. doi: 10.1128/JVI.01305-12

62. Lau S.K., Poon R.W., Wong B.H., Wang M., Huang Y., Xu H., Guo R., Li K.S., Gao K., Chan K.H., Zheng B.J., Woo P.C., Yuen K.Y. Coexistence of different genotypes in the same bat and serological characterization of *Rousettus* bat coronavirus HKU9 belonging to a novel Betacoronavirus subgroup. *J. Virol.*, 2010, vol. 84, no. 21, pp. 11385–11394. doi: 10.1128/JVI.01121-10
63. Lau S.K., Woo P.C., Li K.S., Tsang A.K., Fan R.Y., Luk H.K., Cai J.P., Chan K.H., Zheng B.J., Wang M., Yuen K.Y. Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, no. 6, pp. 3076–3092. doi: 10.1128/JVI.02420-14
64. Lau S.K., Woo P.C., Yip C.C., Fan R.Y., Huang Y., Wang M., Guo R., Lam C.S., Tsang A.K., Lai K.K., Chan K.H., Che X.Y., Zheng B.J., Yuen K.Y. Isolation and characterization of a novel Betacoronavirus subgroup A coronavirus, rabbit coronavirus HKU14, from domestic rabbits. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 10, pp. 5481–5496. doi: 10.1128/JVI.06927-11
65. Lau S.K., Woo P.C., Yip C.C., Tse H., Tsoi H.W., Cheng V.C., Lee P., Tang B.S., Cheung C.H., Lee R.A., So L.Y., Lau Y.L., Chan K.H., Yuen K.Y. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, no. 6, pp. 2063–2071. doi: 10.1128/JCM.02614-05
66. Lednicky J.A., Waltzek T.B., McGeehan E., Loeb J.C., Hamilton S.B., Luetke M.C. Isolation and genetic characterization of human coronavirus NL63 in primary human renal proximal tubular epithelial cells obtained from a commercial supplier, and confirmation of its replication in two different types of human primary kidney cells. *Virol. J.*, 2013, vol. 10, p. 213. doi: 10.1186/1743-422X-10-213
67. Lee D.U., Kwon T., Je S.H., Yoo S.J., Seo S.W., Sunwoo S.Y., Lyoo Y.S. Wild boars harboring porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) may play an important role as a PEDV reservoir. *Vet. Microbiol.*, 2016, vol. 192, pp. 90–94. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.07.003
68. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Crameri G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 2005, vol. 310, pp. 676–679. doi: 10.1126/science.1118391
69. Liu P., Chen W., Chen J.P. Viral metagenomics revealed Sendai virus and coronavirus infection of Malayan pangolins (*Manis javanica*). *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 11: e979. doi: 10.3390/v11110979
70. Liu R., Wen Z., Wang J., Ge J., Chen H., Bu Z. Absence of Middle East respiratory syndrome coronavirus in Bactrian camels in the West Inner Mongolia Autonomous Region of China: surveillance study results from July 2015. *Emerg. Microbes Infect.*, 2015, no. 4: e73. doi: 10.1038/emi.2015.73
71. Lorusso A., Desario C., Mari V., Campolo M., Lorusso E., Elia G., Martella V., Buonavoglia C., Decaro N. Molecular characterization of a canine respiratory coronavirus strain detected in Italy. *Virus Res.*, 2009, vol. 141, no. 1, pp. 96–100. doi: 10.1016/j.virusres.2008.12.011
72. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N., Bi Y., Ma X., Zhan F., Wang L., Hu T., Zhou H., Hu Z., Zhou W., Zhao L., Chen J., Meng Y., Wang J., Lin Y., Yuan J., Xie Z., Ma J., Liu W.J., Wang D., Xu W., Holmes E.C., Gao G.F., Wu G., Chen W., Shi W., Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
73. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. Academic Press, 2015. 452 p.
74. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Zaberezhny A.D., Suares D. Evolution of HPAI H5N1 virus in natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Dis.*, 2010, vol. 54, pp. 483–495. doi: 10.1637/8893-042509-Review.1
75. Marsolais G., Berthiaume L., DiFranco E., Marois P. Rapid diagnosis by electron microscopy of avian coronavirus infection. *Can. J. Comp. Med.*, 1971, vol. 35, no. 4, pp. 85–288.
76. Martinez J., Reinacher M., Perpinan D. Identification of group 1 coronavirus antigen in multisystemic granulomatous lesions in ferrets (*Mustela putorius furo*). *J. Comp. Pathol.*, 2008, vol. 138, pp. 54–58. doi: 10.1016/j.jcpa.2007.10.002
77. McClurkin A.W., Stark S.L., Norman J.O. Transmissible gastroenteritis (TGE) of swine: the possible role of dogs in the epizootiology of TGE. *Can. J. Comp. Med.*, 1970, vol. 34, no. 4, pp. 347–349.
78. McIntosh K., Dees J.H., Becker W.B., Kapikian A.Z., Chanock R.M. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1967, vol. 57, pp. 933–940. doi: 10.1073/pnas.57.4.933
79. Menachery V.D., Yount B.L. Jr., Debbink K., Agnihothram S., Gralinski L.E., Plante J.A., Graham R.L., Scobey T., Ge X.Y., Donaldson E.F., Randell S.H., Lanzavecchia A., Marasco W.A., Shi Z.L., Baric R.S. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.*, 2015, vol. 21, no. 12, pp. 1508–1513. doi: 10.1038/nm.3985
80. Miguel E., Perera R.A.P., Baubekova A., Chevalier V., Faye B., Akhmetadykov N., Ng C.Y., Roger F., Peiris M. Absence of Middle East respiratory syndrome coronavirus in camelids, Kazakhstan, 2015. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, no. 3, pp. 555–557. doi: 10.3201/eid2203.151284
81. Mihindukulasuriya K.A., Wu G., St Leger J., Nordhausen R.W., Wang D. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, no. 10, pp. 5084–5088. doi: 10.1128/JVI.02722-07
82. Miles J.A.R., Stoker M.G.P. Puffinosis, a virus epizootic of the Manx shear-water (*Puffinus p. puffinus*). *Nature*, 1948, vol. 161, pp. 1016–1017. doi: 10.1038/1611016a0
83. Mohd H.A., Al-Tawfiq J.A., Memish Z.A. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virol. J.*, 2016, vol. 13, p. 87. doi: 10.1186/s12985-016-0544-0
84. Muller M.A., Corman V.M., Jores J., Meyer B., Younan M., Liljander A., Bosch B.J., Lattwein E., Hilali M., Musa B.E., Bornstein S., Drosten C. MERS coronavirus neutralizing antibodies in camels, Eastern Africa, 1983–1997. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 12, pp. 2093–2095. doi: 10.3201/eid2012.141026
85. Naqi S.A., Panigrahy B., Hall C.F. Purification and concentration of viruses associated with transmissible (coronaviral) enteritis of turkeys (bluecomb). *Am. J. Vet. Res.*, 1975, vol. 36, pp. 548–552.
86. Nichols H.J., Hough W.H. Demonstration of Spirochaeta pallid in the cerebrospinal fluid from a patient with nervous relapse following the use of Salvarsan. *J. Am. Med. Assoc.*, 1913, vol. 60, pp. 108–110.

87. Noorwali A.A., Turkistani A.M., Asiri S.I., Trabulsi F.A., Alwafi O.M., Alzahrani S.H., Rashid M.M., Hegazy S.A., Alzaydi M.D., Bawakid K.O. Descriptive epidemiology and characteristics of confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the Makkah Region of Saudi Arabia, March to June 2014. *Ann. Saudi Med.*, 2015, vol. 35, no. 3, pp. 203–209. doi: 10.5144/0256-4947.2015.203
88. Nuttall P.A., Harrap K.A. Isolation of a coronavirus during studies on puffinosis, a disease of the Manx shearwater (*Puffinus puffinus*). *Arch. Virol.*, 1982, vol. 73, no. 1, pp. 1–13. doi: 10.1007/bf01341722
89. Oldham J. Letter to the editor. *Pig Farming*, 1972, vol. 10, pp. 72–73.
90. Park W.B., Kwon N.J., Choe P.G., Choi S.J., Oh H.S., Lee S.M., Chong H., Kim J.I., Song K.H., Bang J.H., Kim E.S., Kim H.B., Park S.W., Kim N.J., Oh M.D. Isolation of Middle East respiratory syndrome coronavirus from a patient of the 2015 Korean outbreak. *J. Korean Med. Sci.*, 2016, vol. 31, no. 2, pp. 315–320. doi: 10.3346/jkms.2016.31.2.315
91. Park W.B., Kwon N.J., Choi S.J., Kang C.K., Choe P.G., Kim J.Y., Yun J., Lee G.W., Seong M.W., Kim N.J., Seo J.S., Oh M.D. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J. Korean Med. Sci.*, 2020, vol. 35, no. 7: e84. doi: 10.3346/jkms.2020.35.e84
92. Parker J.C., Cross S.S., Rowe W.P. Rat coronavirus (RCV): a prevalent, naturally occurring pneumotropic virus of rats. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, 1970, vol. 31, no. 3, pp. 293–302. doi: 10.1007/bf01253764
93. Pedersen N.C., Boyle J.F., Floyd K. Infection studies in kittens, using feline infectious peritonitis virus propagated in cell culture. *Am. J. Vet. Res.*, 1981, vol. 42, pp. 363–367.
94. Pedersen N.C., Boyle J.F., Floyd K., Fudge A., Barker J. An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1981, vol. 42, pp. 368–377.
95. Pensaert M., Callebaut P., Vergote J. Isolation of a porcine respiratory, non-enteric coronavirus related to transmissible gastroenteritis. *Vet. Q.*, 1986, vol. 8, pp. 257–261. doi: 10.1080/01652176.1986.9694050
96. Pensaert M.B., de Bouck P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Arch. Virol.*, 1978, vol. 58, pp. 243–247. doi: 10.1007/bf01317606
97. Perera K.D., Kankamalamage A.C., Rathnayake A.D., Honeyfield A., Groutas W., Chang K., Kima Y. Protease inhibitors broadly effective against feline, ferret and mink coronaviruses. *Antiviral. Res.*, 2018, vol. 160, pp. 79–86. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.10.015
98. Pringle C.R. Virus taxonomy 1996 — a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. *Arch. Virol.*, 1996, vol. 141, no. 11, pp. 2251–2256. doi: 10.1007/bf01718231
99. Reusken C.B., Haagmans B.L., Muller M.A., Gutierrez C., Godeke G.J., Meyer B., Muth D., Raj V.S., Smits-De Vries L., Corman V.M., Drexler J.F., Smits S.L., El Tahir Y.E., De Sousa R., van Beek J., Nowotny N., van Maanen K., Hidalgo-Hermoso E., Bosch B.J., Rottier P., Osterhaus A., Gortázar-Schmidt C., Drosten C., Koopmans M.P. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. *Lancet Infect. Dis.*, 2013, vol. 13, no. 10, pp. 859–866. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70164-6
100. Reusken C.B., Schilp C., Raj V.S., De Bruin E., Kohl R.H., Farag E.A., Haagmans B.L., Al-Romaihi H., Le Grange F., Bosch B.J., Koopmans M.P. MERS-CoV infection of alpaca in a region where MERS-CoV is endemic. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, pp. 1129–1131. doi: 10.3201/eid2206.152113
101. Roe C.K., Alexander T.J. A disease of nursing pigs previously unreported in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 1958, vol. 22, pp. 305–307.
102. Rossen J.W., Bekker C.P., Voorhout W.F., Strous G.J., van der Ende A., Rottier P.J. Entry and release of transmissible gastroenteritis coronavirus are restricted to apical surfaces of polarized epithelial cells. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, no. 12, pp. 7966–7973.
103. Ryu S., Chun B.C. An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus. *Epid. Health*, 2020, vol. 42: e2020006. doi: 10.4178/epih.e2020006
104. Safonova M.V., Shchelkanov M.Yu., Khafizov K.F., Matsvay A.D., Ayginin A.A., Dolgov A.S., Shchelkanov E.M., Pimkina E.V., Speranskaya A.S., Galkina I.V., Dedkov V.G. Sequencing and genetic characterization of two strains Paramushir virus obtained from the Tyuleniy Island in the Okhotsk Sea (2015). *Ticks Tick-borne Dis.*, 2019, vol. 10, no. 2, pp. 269–279. doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.11.004
105. Salata C., Calistri A., Parolin C., Palu G. Coronaviruses: a paradigm of new emerging zoonotic diseases. *Pathog. Dis.*, 2019, vol. 77, no. 9:ftaa006. doi: 10.1093/femspd/ftaa006
106. Saldanha I.F., Lawson B., Goharriz H., Rodrigues-Ramos Fernandez J., John S., Fooks A.R., Cunningham A.A., Johnson N. and Horton D.L. Extension of the known distribution of novel clade C betacoronavirus in wildlife host. *Epidemiol. Infect.*, 2019, vol. 147: e169. doi: 10.1017/S0950268819000207
107. Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1931, vol. 78, p. 19.
108. Schultze B., Krempel C., Ballesteros M.L., Shaw L., Schauer R., Enjuanes L., Herrler G. Transmissible gastroenteritis coronavirus, but not the related porcine respiratory coronavirus, has a sialic acid (N-glycolylneuraminic acid) binding activity. *J. Virol.*, 1996, vol. 70, pp. 5634–5637.
109. Shen D.T., Gorham J.R., Larsen A.E., Hansen M. Reviewing the transmission of epizootic catarrhal gastroenteritis. *Vet. Med.*, 1984, vol. 79, pp. 1501–1504.
110. Small J.D., Aurelian L., Squire R.A., Strandberg J.D., Melby E.C. Jr, Turner T.B., Newman B. Rabbit cardiomyopathy associated with a virus antigenically related to human coronavirus strain 229E. *Am. J. Pathol.*, 1979, vol. 95, no. 3, pp. 709–729.
111. Small J.D., Woods R.D. Relatedness of rabbit coronavirus to other coronaviruses. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1987, vol. 218, pp. 521–527. doi: 10.1007/978-1-4684-1280-2_68
112. Sonricker Hansen A.L., Li A., Joly D., Mekaru S., Brownstein J.S. Digital surveillance: a novel approach to monitoring the illegal wildlife trade. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 12: e51156. doi: 10.1371/journal.pone.0051156
113. St John S.E., Tomar S., Stauffer S.R., Mesecar A.D. Targeting zoonotic viruses: Structure-based inhibition of the 3C-like protease from bat coronavirus HKU4 – the likely reservoir host to the human coronavirus that causes Middle East respiratory syndrome (MERS). *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, vol. 23, no. 17, pp. 6036–6048. doi: 10.1016/j.bmc.2015.06.039

114. Stair E.L., Rhodes M.B., White R.G., Mebus C.A. Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.*, 1972, vol. 33, no. 6, pp. 1147–1156.
115. Sun L., Zhang G.H., Jiang J.W., Fu J.D., Ren T., Cao W.S., Xin C.A., Liao M., Liu W.J. A Massachusetts prototype like coronavirus isolated from wild peafowls is pathogenic to chickens. *Virus Res.*, 2007, vol. 130, no. 1–2, pp. 121–128. doi: 10.1016/j.virusres.2007.06.003
116. Tang X.C., Zhang J.X., Zhang S.Y., Wang P., Fan X.H., Li L.F., Li G., Dong B.Q., Liu W., Cheung C.L., Xu K.M., Song W.J., Vijaykrishna D., Poon L.L., Peiris J.S., Smith G.J., Chen H., Guan Y. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. *J. Virol.*, 2006, vol. 80, no. 15, pp. 7481–7490. doi: 10.1128/JVI.00697-06
117. Tao Y., Shi M., Chommanard C., Queen K., Zhang J., Markotter W., Kuzmin I.V., Holmes E.C., Tong S. Surveillance of bat coronaviruses in Kenya identifies relatives of human coronaviruses NL63 and 229E and their recombination history. *J. Virol.*, 2017, vol. 91, no. 5: e01953-16. doi: 10.1128/JVI.01953-16
118. Traavik T., Mehl R., Kjeldsberg E. “Runde” virus, a coronavirus-like agent associated with seabirds and ticks. *Arch. Virol.*, 1977, vol. 55, no. 1–2, pp. 25–38. doi: 10.1007/bf01314476
119. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.*, 1965, vol. 1, pp. 1467–1470. doi: 10.1136/bmj.1.5448.1467
120. Van Boheemen S., De Graaf M., Lauber C., Bestebroer T.M., Raj V.S., Zaki A.M., Osterhaus A.D., Haagmans B.L., Gorbalenya A.E., Snijder E.J., Fouchier R.A. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *mBio*, 2012, vol. 3, no. 6: e00473-12. doi: 10.1128/mBio.00473-12
121. Van der Hoek L., Pyrc K., Jebbink M.F., Vermeulen-Oost W., Berkhout R.J., Wolthers K.C., Wertheim-van Dillen P.M., Kaandorp J., Spaargaren J., Berkhout B. Identification of a new human coronavirus. *Nat. Med.*, 2004, vol. 10, pp. 368–373. doi: 10.1038/nm1024
122. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.L., Brown F. Wien-NY: Springer-Verlag, 1991. 453 p.
123. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. Fauguet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. Elsevier Academic Press, 2005. 1162 p.
124. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier Academic Press; 2011. 1338 p.
125. Wang L., Hayes J., Sarver C., Byrum B., Zhang Y. Porcine deltacoronavirus: histological lesions and genetic characterization. *Arch. Virol.*, 2016, vol. 161, no. 1, pp. 171–175. doi: 10.1007/s00705-015-2627-4
126. Wang W., Lin X.D., Guo W.P., Zhou R.H., Wang M.R., Wang C.Q., Ge S., Mei S.H., Li M.H., Shi M., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. *Virology*, 2015, vol. 474, pp. 19–27. doi: 10.1016/j.virol.2014.10.017
127. Wang L., Zhang Y., Byrum B. Complete genome sequence of porcine coronavirus HKU15 strain IN2847 from the United States. *Genome Announcements*, 2014, vol. 2, no. 2: e00291–14. doi: 10.1128/genomeA.00291-14
128. Wassenaar T.M., Zou Y. 2019_nCoV: Rapid classification of betacoronaviruses and identification of traditional Chinese medicine as potential origin of zoonotic coronaviruses. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2020. doi: 10.1111/lam.13285
129. Weng L., Weersink A., Poljak Z., de Lange K., von Massow M. An economic evaluation of intervention strategies for porcine epidemic diarrhea (PED). *Prev. Vet. Med.*, 2016, vol. 134, pp. 58–68. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.09.018
130. Williams B.H., Kiupel M., West K.H., Raymond J.T., Grant C.K., Glickman L.T. Coronavirus associated epizootic catarrhal enteritis in ferrets. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000, vol. 217, pp. 526–530. doi: 10.2460/javma.2000.217.526
131. Wilson M.E., Chen L.H. Travelers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). *J. Travel. Med.*, 2020: taaa015. doi: 10.1093/jtm/taaa015
132. Wise A.G., Kiupel M., Garner M.M., Clark A.K., Maes R.K. Comparative sequence analysis of the distal one-third of the genomes of a systemic and an enteric ferret coronavirus. *Virus Res.*, 2010, vol. 149, no. 1, pp. 42–50. doi: 10.1016/j.virusres.2009.12.011
133. Wong M.C., Cregeen S., Ajami N.J., Petrosino J.F. Evidence of recombination in coronaviruses implicating pangolin origins of nCoV-2019. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.02.07.939207
134. Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Chen Y., Wong E.Y.M., Chan K.H., Chen H., Zhang L., Xia N., Yuen K.Y. Rapid detection of MERS coronavirus-like viruses in bats: potential for tracking MERS coronavirus transmission and animal origin. *Emerg. Microb. Infect.*, 2018, vol. 7, pp. 2–7. doi: 10.1038/s41426-017-0016-7
135. Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M., Chan K.H., Tsoi H.W., Huang Y., Wong B.H., Poon R.W., Cai J.J., Luk W.K., Poon L.L., Wong S.S., Guan Y., Peiris J.S., Yuen K.Y. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, pp. 884–895. doi: 10.1128/JVI.79.2.884-895.2005
136. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lai K.K., Huang Y., Lee P., Luk G.S., Dyrting K.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 908–917. doi: 10.1128/JVI.01977-08
137. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., Bai R., Teng J.L., Tsang C.C., Wang M., Zheng B.J., Chan K.H., Yuen K.Y. Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 7, pp. 3995–4008. doi: 10.1128/JVI.06540-11
138. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Tsang A.K., Hui S.W., Fan R.Y., Martelli P., Yuen K.Y. Discovery of a novel bottlenose dolphin coronavirus reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in Gammacoronavirus. *J. Virol.*, 2014, vol. 88, no. 2, pp. 1318–1331. doi: 10.1128/JVI.02351-13
139. Woo P.C., Lau S.K., Li K.S., Poon R.W., Wong B.H., Tsoi H.W., Yip B.C., Huang Y., Chan K.H., Yuen K.Y. Molecular diversity of coronaviruses in bats. *Virology*, 2006, vol. 351, no. 1, pp. 180–187. doi: 10.1016/j.virol.2006.02.041
140. Wood E.N. An apparently new syndrome of porcine epidemic diarrhea. *Vet. Rec.*, 1977, vol. 100, pp. 243–244. doi: 10.1136/vr.100.12.243

141. World Health Organization. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (based on data as of the 31 December 2003). URL: https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en (29.02.2020).
142. World Health Organization. MERS situation update, January 2020. URL: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html> (29.02.2020).
143. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report1 (21 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4 (29.02.2020).
144. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation Report40 (29 February 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200222-sitrep-33-covid-19.pdf?sfvrsn=c9585c8f_2 (29.02.2020).
145. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report10 (30 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200130-sitrep-10-ncov.pdf?sfvrsn=d0b2e480_2 (29.02.2020).
146. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report22 (11 February 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2 (29.02.2020).
147. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., Qian Z., Dong J., Sun L., Zhu Y., Du J., Yang F., Zhang S., Jin Q. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J.*, 2016, vol. 10, no. 3, pp. 609–620. doi: 10.1038/ismej.2015.138
148. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
149. Zaki A.M., Van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.*, 2012, vol. 367, no. 19, pp. 1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721
150. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
151. Ziebuhr J., Baric R.S., Baker S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A., Haagmans B.L., Neuman B.W., Perlman S., Poon L.L.M., Sola I., Gorbatenya A.E. Reorganization of the family Coronaviridae into two families, Coronaviridae (including the current subfamily Coronavirinae and the new subfamily Letovirinae) and the new family Tobaniviridae (accommodating the current subfamily Torovirinae and three other subfamilies), revision of the genus rank structure and introduction of a new subgenus rank. *Proposal 2017.013S (08.08.2018) for International Committee on Taxonomy of Viruses*.

Авторы:

Щелканов М.Ю., д.б.н., доцент, руководитель Международного научно-образовательного Центра биологической безопасности Роспотребнадзора в Дальневосточном федеральном университете, г. Владивосток, Россия; зав. лабораторией вирусологии Федерального научного Центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия; эксперт ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, г. Владивосток, Россия;

Попова А.Ю., д.м.н., профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия; зав. кафедрой организации санитарно-эпидемиологической службы Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Москва, Россия;

Дедков В.Г., к.м.н., зам. директора по научной работе ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Акимкин В.Г., д.м.н., профессор, академик РАН, директор Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Малеев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора по научной работе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Поступила в редакцию 16.03.2020
Принята к печати 18.03.2020

Authors:

Shchelkanov M.Yu., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head of the International Scientific and Educational Center for Biological Security of Rospotrebnadzor in the Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation; Head of the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation; Expert of the "Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory", Vladivostok, Russian Federation;

Popova A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer Rights Protection and Human Welfare; Head of the Department of Sanitary and Epidemiological Service Organization, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

Dedkov V.G., PhD (Medicine), Deputy Director for Science, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Akimkin V.G., PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Director of the Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Maleev V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Advisor of the Director for Research of the Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

Received 16.03.2020
Accepted 18.03.2020

COVID-19: AN UPDATED REVIEW

F.A. Isihak, M.A. Hamad, N.G. Mustafa

College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract. COVID-19 is a zoonotic disease that showed higher levels of transmissibility in humans. Coronavirus has the largest recognized genome (28–33 kb) of a positive-sense single stranded RNA. The genome composed of 5'-end, the translationable mRNA sequences for the key proteins; replicase, spike, envelop membrane, and nucleocapsid and 3'-end (polyA tail). This highly contagious virus may impair the immune system in the early phase of the disease, hence the symptoms of the disease appear very rapidly. Importantly until now, there is no efficient strategy for containing the disease. So, all the world scientists today are in a race against time to find a vaccine or treatment to COVID-19, which requires a deeper understanding.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, vaccination, virus structure, epidemiology, ACE2, spikes.

COVID-19: ОБНОВЛЕННЫЙ ВЗГЛЯД

Isihak F.A., Hamad M.A., Mustafa N.G.

Колледж ветеринарной медицины, Университет Мосула, г. Мосул, Ирак

Резюме. COVID-19 является зоонозным заболеванием, для которого обнаружен более высокий уровень передачи у человека. Среди всех РНК-содержащих вирусов коронавирусы имеют наибольший размер генома (28–33 п.о.), представленный положительно-полярной нитью РНК. В частности, их геном содержит 5'-конец, транслируемые мРНК, соответствующие ключевым белкам; репликазу, белок spike (шип), белки оболочки, нуклеокапсид и 3'-конец (поли-А хвост). Этот высококонтагиозный вирус может влиять на иммунную систему на ранней стадии инфекции, из-за чего симптомы заболевания проявляются очень быстро. Важно, что до сих пор отсутствует эффективная стратегия по ограничению этого заболевания. Исходя из этого, ученые всего мира вгоняют со временем заняты поиском вакцин или методов лечения COVID-19, что требует более глубокого понимания течения заболевания.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, вакцинация, строение вируса, эпидемиология, ACE2, шипы.

History of human coronaviruses

Human coronaviruses originated in 1965 when it was discovered in human embryonic tracheal organ cultures attained from the respiratory tract of an adult with a common cold and the viruses named B814 [69]. These viruses were termed “OC” to describe that they were grown in organ cultures [3]. Performed electron microscopy on fluids from organ cultures infected with B814 found particles that look like the virus caused infectious bronchitis of chickens (IBV). Human coronaviruses were

until 2003 recognized as a normal cause of common cold symptoms, and rarely a cause of lower respiratory tract disease, but occasionally if ever a cause of serious illness. In 2003, a novel coronavirus was established into humans from animals as the causative agent of the outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS). The SARS outbreak revealed that coronaviruses can be life threatening human pathogens and led to the discovery of other novel human coronaviruses as well as multiple novel coronaviruses in bats, the likely reservoir for SARS coronavirus [72].

Адрес для переписки:

Мохаммад А. Хамад
Ирак, г. Мосул, ул. Аль-Маджмоя, Колледж ветеринарной медицины, Университет Мосула.
Тел.: +964 77 28214770.
E-mail: mahmah1073@gmail.com

Contacts:

Mohammad A. Hamad
Al Majmoaa Street, Mosul, Iraq, College of Veterinary Medicine,
University of Mosul.
Phone: +964 77 28214770.
E-mail: mahmah1073@gmail.com

Библиографическое описание:

Исихак Ф.А., Хамад М.А., Мустафа Н.Г. COVID-19: обновленный взгляд //
Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 247–258. doi: 10.15789/2220-7619-CAU-1443

Citation:

Isihak F.A., Hamad M.A., Mustafa N.G. COVID-19: an updated review //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020,
vol. 10, no. 2, pp. 247–258. doi: 10.15789/2220-7619-CAU-1443

© Isihak F.A., Hamad M.A., Mustafa N.G., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-CAU-1443>

Human coronaviruses

The four most common human coronaviruses named 229E (alpha coronavirus), NL63 (alpha coronavirus), OC43 (beta coronavirus) and HKU1 (beta coronavirus), did not jump from animals to humans but rather use humans as their biological hosts. According to the CDC, they can cause common colds and self-limiting upper respiratory diseases in immune-competent patients. While other human coronaviruses are MERS-CoV (the beta coronavirus that causes Middle East Respiratory Syndrome, or MERS), SARS-CoV (the beta coronavirus that causes a severe acute respiratory syndrome, or SARS) and lastly SARS-CoV-2 (the novel coronavirus that causes coronavirus disease 2019, or COVID-19) (fig. 1). Sometimes coronaviruses that infect animals can evolve and make humans ill and turn out to be a new human coronavirus. Three recent examples of this are SARS-CoV-2 (COVID-19), SARS-CoV-1 and MERS-CoV [35].

Shape of coronaviruses

The virus particles were medium sized (80–150 nm in diameter), pleomorphic, membrane-coated (enveloped), and covered with widely spaced club-shaped surface projections (spikes) (fig. 2, color plate, p. I). Coronaviruses are a large family of zoonotic viruses that possesses the largest RNA viral genomes cause illness varying from the common cold to acute respiratory diseases [33].

Epidemiology

During 2002–2003 outbreaks, SARS infection was recorded in 29 countries in Europe, Asia, North America, and South America. Overall 8098 infected individuals were detected with 774 SARS-related deaths [13]. It is still unclear how the virus entered the human population and whether the Himalayan palm civets were the natural reservoir for the virus? The SARS epidemic gave the world of coronaviruses

a huge infusion of energy and activity that contributed to the large amount already known about the virology and pathogenesis of coronavirus infections from the growing area of veterinary virology [34].

In 2012 another coronavirus capable of producing a severe acute respiratory illness later known as Middle East respiratory syndrome (MERS) was discovered in humans. The former case was found in Saudi Arabia, and others were reported within the subsequent year in France, Qatar, Jordan, Tunisia, the United Arab Emirates, Germany and the United Kingdom. All proved cases were directly or indirectly linked to the Middle East [54].

A novel coronavirus outbreak was first recognized in Wuhan, Hubei Province, China in December 2019. It has now been confirmed on six continents and in more than 150 countries. There are many coronaviruses known to be circulating in different animal populations that have not yet infected humans. On December 31 2019, Chinese authorities alerted the World Health Organization of an outbreak of a novel strain of coronavirus causing severe illness, which was subsequently named SARS-CoV-2. COVID-19 is the most current to make the jump to human infection. This new virus seems to be very communicable and has quickly spread worldwide. The dynamics of SARS-CoV-2 are currently unknown, but there is an assumption that it also has an animal origin [14]. This virus has round or elliptic and often pleomorphic shape and a diameter of approximately 60–140 nm. Like other CoVs, it is sensitive to ultraviolet waves and heat. The whole genome of SARS-CoV-2 has an 86% resembly with SARS-CoV-1 [68].

Pathogenesis

The virulence mechanisms of SARS-CoV-2 have an affinity to the function of the nonstructural proteins (Nsp) and structural proteins. For instance, research underlined that (Nsp) is able to impair the host innate immune response [65]. The envelop of the virus has an essential role in pathogenicity

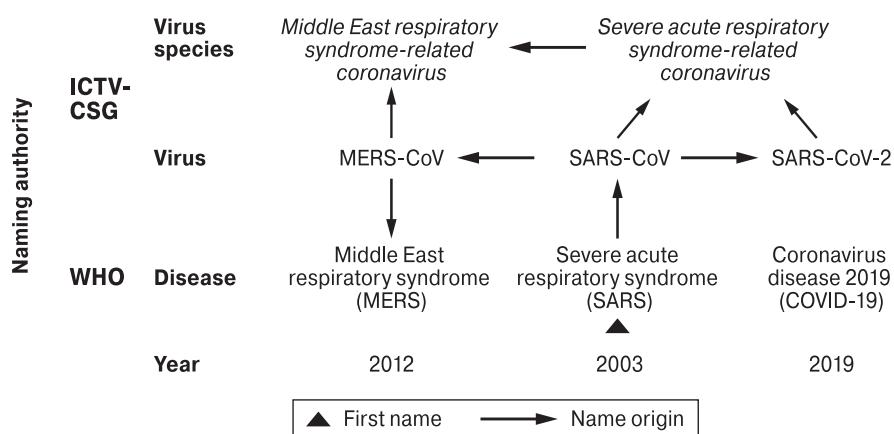


Figure 1. Current international classification of coronavirus diseases in relation to virus taxonomy ICD-11 [76]

as it supports viral assembly and release. The angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) that found on the cells of the lower respiratory tract of human, has been linked as the receptor used for cell endocytosis for both SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 (COVID-19) [85].

Among the structural component of CoVs, the spike glycoproteins consist of two subunits (S1 and S2, see below). Homotrimers of S proteins compose the spikes on the viral surface (envelop) leading the link to susceptible host receptors. In SARS-CoV-2, the S2 subunit, having a fusion peptide, a transmembrane domain and cytoplasmic domain, is highly conserved. Thus, it could be the target for antiviral (anti-S2) compounds. Other structural elements on which research must necessarily focus are the ORF3b that has no homology with that of SARS-CoVs and a secreted protein (encoded by ORF8), which is structurally different from those of SARS-CoV [31].

The researchers found that the receptor-binding domain (RBD) portion of the SARS-CoV-2 spike proteins had developed to efficiently target a molecular feature on the outside of human cells called ACE2 receptors, these receptors involved in controlling of blood pressure. The spike protein of SARS-CoV-2 was so effective at binding the human cells; in fact, that the scientists achieved it was the result of natural selection and not the product of genetic engineering [4].

The difference between SARS-CoVs 2020 and 2003 outbreaks

Here we mention the main deference that includes: Firstly, the Wuhan location is different, which is the epicenter of COVID-19, joins multiple aspects that make containment challenges. As the largest city (more than 11 million people) in central China, Wuhan is a major transport center, focal point for trade and business, home to the biggest train station and largest airport [75]. Secondly, the reason might be that the infectious period is uncommon. Isolation was efficient for SARS because peak viral shedding happened after patients were already quite ill with respiratory symptoms and could be easily detected [74]. Thirdly, an explanation could be that the transmissible rate might be higher for COVID-19 than for SARS. The fourth clarification is that the clinical spectrum is different. China's initial case explanation was focused on pneumonia, and initial case fatality rates (CFR) were described at about 10% on the basis of this narrow case definition [29]. Fifth the continued spread of SARS-CoV-2 is "more infectious" but less severe than the SARS-CoV-1, and everything indicates that the mortality rate of SARS-CoV-2 is lower when compared to the outbreak of SARS in 2003, as well as the stock markets around the globe dropped sharply amid intensifying concern about the economic impact of the COVID-19.

SARS-CoV-2 genome

Among a variety of viral genomes, coronavirus, the most abundant virus (including SARS-CoV-2) have the largest recognized genome (28–33 kb) of a non-segmented positive-sense (+) single stranded RNA [4]. The genome composed of 5' end (cap), has UTR and leader sequences, that is critical to mRNA transcription and replication, and 3'(polyA tail) end, and in between the translationable mRNA sequences for the essential key proteins; replicase, spike, envelop membrane, and nucleocapsid [21]. About two-third (~20 kb) of the genome create nonstructural proteins (nsps), while remaining (~10 kb) encodes accessory and structural proteins. Also, it should be noted that each structural and accessory genes have transcription regulatory sequences (TRSs) that are critical in each gene transcription [24]. This genome undergoes the replication in two steps producing mRNA and subgenomic mRNA (fig. 3, color plate, p. I), while the translation process directly employed host cell ribosomes depending on either nested mRNA or ribosomal frameshifting [23]. Faithfully, virus to overwhelmed of their small mRNA, it is headed for translational maneuvers a) Biosynthesis of polyprotein precursor, and b) Non-translation (subgenomic mRNA, RNA splicing, and mRNA editing). Besides that, ribosomal frameshifting as a "slyness process" validated in other viruses such as HIV and Rous sarcoma virus, also in many living organisms and in human cells, in which the individual ribosome moves to another reading frame beginning the translation. This process required at least two components: a) Sequences of slippery homopolymeric (~7 nt), b) RNA secondary structure called pseudonot (~5–8 nt), it is thought that the aim of ribosomal frameshifting is either development of more than one polypeptide from a single mRNA and/or regulation of the developed protein activities [66].

After an attack of the preferred host cell, part of the viral genome, the 5'-open reading frame (ORF) is encoded to the biosynthesis of a polyprotein which is subsequently cleaved by the viral-encoded proteases developing several Nsp, including an RdRp and an ATPase/helicase [67]. The above proteins are liable for the viral genome replication and creation of nested transcripts which are utilized in the formation of the viral other proteins [45]. As mentioned above, SARS-CoV RNA is contagious and attends as the genome and viral mRNA, thus ORF1a and ORF1b are encoded by the genomic RNA, then the translation arises through ribosomal frameshifting (fig. 3). The resulting proteins pp1a and pp1ab are processed into the viral polymerase (RdRp) and other non-structural proteins involved in RNA synthesis, whereas, structural proteins are expressed as subgenomic RNAs, each RNA (genomic and subgenomic) is translated to yield only the protein encoded by the 5'-most ORF [60].

However, the genome of SARS-CoV-2 was sequenced in different centers around the world, in brief, according to [45] it is composed of 29811 nt, (32.12%T, 29.86%A, 19.63%G, and 18.39%C), whereas recently it is demonstrated that the complete genome is 29,903 nt, it is revealed that these sequence analyses are very closely related to the previously sequenced SARS-CoV [36].

SARS-CoV proteins

Spike

A glycosylated dense protein (about 150 kDa) contributed to the virus pass into the cell [46]. Spike is a trimeric fusion protein adapted to the continuous conformational and structural changes triggering virus membrane fusion with the host cell membrane [39, 60], these changes activated when S1(see below) binds to the own receptor on the host cell membrane. The binding of S1 destabilizes trimeric protein leading to loss of S1 consenting to S2 conformational changes ensuring post-fusion stability [9], besides, after binding to the receptor, S1 receptor binding domain (RBD) transiently change its attendance. Therefore, the spike, in addition to their key role in the host immune response and reflecting of a species and tissue determinant, spike also a considerable target of the antibody-mediated neutralization. Depending upon the crystal structural and cryo-EM studies [77] spike consists of three segments (fig. 4, color plate, p. I); a large external part, anchoring transmembrane part, and a small tail inside the virus. The large part has two subunits S1 and S2, usually, but not always, S protein is cleaved through a furin-like protease of the host cell into two polypeptides (S1 and S2) [21]. S1 (specified to combine to host cell membrane receptor), and S2 (act as fusion subunit with host cell membrane) (fig. 5, color plate, p. I). Furthermore, S1 consists of two parts; S1-N-terminal domain (S1-NTD) contributed to the binding to the sugar [44, 71], and S1-C-terminal domain

(S1-CTD) denoted to recognizing of protein domain of ACE2, APN, DPP4 receptors [18, 56], for more information about SARS-CoV receptors see table 1.

On the other hand, it is confirmed that coronavirus has two target hot spots in the human ACE2 receptor; Lys31 and Lys353, these hot spots have salt bridge inside a hydrophobic domain, it is believed that these spots play a key role in virus-receptor recognition and interaction [18]. During the SARS epidemic in 2003, interestingly, there was a high homogeneity between human and palm civet isolates of the SARS-CoV, with remarkable S1-CTDs that differ only in two residues at RBM; human SARS-CoV Asn479 and Thr487 compared to civet SARS-CoV Lys479 and Ser487, respectively [41, 60].

These residues (479 and 487) on the S1-CTD of SARS-CoV collaborate with the above mentioned hot spots, and continually vulnerable to mutations of selection, for example the two common selective mutations of SARS-CoV are K479N and S487T, endorse the hot spots activity and enhance the affinity of S1-CTD to human ACE2 [44, 49, 55]. It is generally assumed that the above two mutations play a critical role in SARS-CoV transmission from civet to man, and among humans during SARS-CoV epidemic [39, 43], another support to the key role of hot spots found in the ACE2 of rats that lack the same previously mentioned hot spots, consequently, SARS-CoV cannot interact with rat ACE2 receptor, and rats resist the infection [27].

Papain-like protease

Coronavirus Gene 1 encodes replicase polyproteins that are projected to be handled into 16 Nsp (Nsp 1 to 16) (tabl. 2) through the action of two proteases, a papain-like protease (PLP) and 3CLpro [53]. Papain-like protease (PLP) is a multifunctional protein, interferon adversary that establishes a domain of the replicase polyprotein, and at an initial phase of the viral replication round may be active to upset of IFN induction [7]. PLP catalyzes site-

Table 1. Common recognized receptors of coronaviruses*

Viruses	Recognized receptors
Alphacoronavirus (HCoV-NL63)	Zinc peptidase angiotensinogen converting enzyme 2 (ACE2) [27, 38]
Betacoronavirus (SARS-CoV)	
Alphacoronavirus (TGEV, PEDV, PRCV)	Other zinc peptidase, aminopeptidase N (APN) [42, 44]
Alphacoronavirus (TGEV, PEDV) and gammacoronavirus (IBV)	APN [85]
MERS-CoV	Serine peptidase, Dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) also known as CD26 [57, 79]
HKU4	
MHV	Cell adhesion molecule, CEACAM1 [37]
BCoV	N-acetyl-9-O-acetyleneuraminic acid [42]

*Here it must be noted that one of the unique characteristics of coronavirus their wide range of receptors. Besides, ambiguously various coronaviruses could recognize the same receptor, in contrast, the individual virus can target various receptors. Therefore, it could be suggested that the novel coronavirus currently may direct to changes their prefer receptor.

Table 2. Size and functions of non-structural protein (Nsps) [64]

Nsps	Size	Function
Nsp1	110 a.a, 20 kDa	Act as a potential virulence factor, collaborated to cleave mRNA, it is a target for 40S ribosomal subunit
Nsp2	70 kDa	Disrupt intracellular signaling of the host
Nsp3	214 kDa	Replication and transcription
Nsp4	56 kDa	Transmembrane domain
Nsp5	34 kDa	Highly conserved
Nsp6	33 kDa	Transmembrane domain
Nsp7 (nsp interactome)	83 a.a, 10 kDa	Cap modification, mRNA capping, and fidelity of RNA synthesis
Nsp8 (nsp interactome)	200 a.a, 22 kDa	Key role in RNA synthesis, primase
Nsp9 (nsp interactome)	110 a.a, 13 kDa	Cap modification, mRNA capping, and fidelity of RNA synthesis
Nsp10 (nsp interactome)	139 a.a, 18 kDa	Replication cofactor, contributed to the formation of capping machinery, most conserved protein
Nsp11		
Nsp12 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)	102 kDa	RdRp
Nsp13 (Helicase)	600 a.a, 66.5 kDa	Multifunction and highly conserved, contributed to the formation of capping machinery, RNA 5' triphosphatase, site for zinc binding
Nsp14 (Exoribonuclease)	58 kDa	Contributed to the formation of capping machinery, N7-Methyl transferase, mismatch repair
Nsp15 (Endoribonuclease)	38.4 kDa	Most conserved protein among coronaviruses proteins
Nsp16 (ribose 2'-O-methyl transferase, 2'-O-MTase)	33 kDa	Contributed to the formation of capping machinery, 2'-O-methyl transferase

specific protein cleavage of the viral polyprotein. Also, contrasting to the accessory proteins, that can differ significantly among CoV species, conservation of PLP activity is key to viral duplication and is thus maintained among coronaviruses [21]. PLP catalyzes the handling of the replicase polyprotein at cleavage locations nspl/nsp2, nsp2/nsp3, and nsp3/nsp4. PLP deubiquitinating action has been confirmed in several signaling, therefore, PLP considers a target to the development of coronavirus inhibitors [39, 82].

3C like main protease

3C like main protease (3CLpro) that is Nsp5, the first enzyme that auto-cleaved from polyprotein to form mature enzymes. 3CLpro contributed to the development of other Nsps which play a critical role during the viral replication cycle. However 3CLpro consists of three parts; domain I (8–101 residues), domain II (102–184 residues), and domain III (201–303 residues), in addition to long loop (185–200 residues) connect domains I and II, forming a cavity-like structure that demonstrated as an active site of 3CLpro [51, 70].

RNA dependent RNA polymerase

RNA dependent RNA polymerase (RdRp) or Nsp12 composed of 221 residues (25 kDa) it is one of the conservative proteins of coronavirus, it has

a central role in replication/transcription complex. RdRp is a vital protease that catalyzes the transcription of RNA from template RNA, thus it is a target of therapeutic agents. RdRp occurs toward C terminal and three of residues (Ser, Asp, Asp) considered highly conserved [78]. Also, it is demonstrated that RdRp utilizes Nsp6 (made by Nsp8) as a primer for RNA biosynthesis, RdRp has an active site as an enormous and profound furrow for the RNA biosynthesis [60].

Immunity, Vaccination and Treatment

Immunity influences

The immune cells that play a major role in the controlling of viral infection include natural killer (NK) and cytotoxic lymphocytes like cytotoxic T lymphocytes (CTLs) [38, 83]. In the sickens with COVID-19 contagion there was a markedly reduced in the overall issue of NK and CD8⁺ T cells [84]. According to the observations, the increased expression of NKG2A in COVID-19 sickens led to a haggard in the function of NK and CD8⁺ T cells. While the sickens that convalesced after therapy, showed the restored normal numbers of NK and CD8⁺ T cells with a reduction in expression of NKG2A [83, 84]. This group evidence proposes that the functional exhaustion of cytotoxic lymphocytes is correlated with SARS-CoV-2

contagion. So, COVID-19 may destroy antiviral immunity in early-stage [84]. Also, the COVID-19 infection diminished the levels of CD107a, interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-2, granzyme B, and tumor necrosis factor (TNF)- α [63, 84].

According to the obtained data from comparing among three groups of people; healthy group (HG), mild cases (MC) and severe cases (SC), the effects of SARS-CoV-2 were proved clearly on NK, T cell and CD8 $^{+}$ T cell counts. Where T cell and CD8 $^{+}$ T cell numbers were lessened markedly in MC and SC sickens in comparison with those in HG. Whereas, The count of T cells and CD8 $^{+}$ T cells were mainly lower in SC sickens than that in MC cases. The numbers of NK cells were minimized significantly in SC sickens in comparison with those in MC cases and HG. Of course depending on the results of treatment the diseased cases (MC, SC) randomly with one of the following medication (Kaletra®, Chloroquine phosphate, Interferon) plus antibiotics; these medications contributed in the restored the normal numbers of NK, T cell and CD8 $^{+}$ T cell in the convalescent people and reduced the ratio of NKG2A $^{+}$ NK cells [84].

The main immune influence manifestation in COVID-19 is the leukopenia with WBC numbers of 2.91×10^9 cells/L and 70% of them were the neutrophils. Also, markedly raise blood levels of cytokines and chemokines were recorded in sickens with COVID-19 contagion that included MIP1 α , MIP1 β , PDGFB, TNF α , IL-1- β , IL-1RA, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, basic FGF2, G-CSF, GM-CSF, IFN γ , IP-10, MCP-1, and VEGF-A. In several acute-phase patients that were turned to the intensive nursing, unit manifested rise levels of pro-inflammatory cytokines inclusive IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , and TNF α that are explain to promote illness severity [5, 29].

The suppression of innate immune responses is one of the main keys in most of the viral infections and respiratory viruses from them, so they have the chance for their adequate replication and causing the disease. The outcomes for the host's immune response are that it is predominating imperfect, belated or lessened, or exhibit too strong inducement (after the lateness) that may result in tissue damage. The influenced innate immune response also affects following adaptive responses, and thus viral innate immune escape oftentimes subverts entirely protective immunity [32].

Vaccination and treatment strategies

COVID-19 is the third extremely pathogenic coronavirus infecting human beings in the 21st century after the MERS-CoV and SARS-CoV. Paradoxically, even after many years of research on coronavirus, as yet there are no authorized vaccines or curative agents to cure coronavirus contagion that point an imperative necessity to evolve efficacious vaccines or

post-exposure prophylaxis to prevent upcoming epidemics [12, 13, 20, 62].

Notable exertions have been made to evolve therapeutic interference versus coronavirus infection. Principal explorer concentrated on recognize antiviral molecules that can be attacking the spike protein as it intermediate viral entrance, and their prospects in stimulate host immune responses and triggering preventive antibody responses in infected persons [46, 62].

As is known, until the present time there are no efficient vaccines or anti-viral therapeutic agents were confirmed to cure COVID-19 or any other human CoV hitting. The existing path to coronavirus disease management focuses on supportive care. Quick generic health interferences with antibodies, anti-virals or novel vaccine strategies are quite fundamental to stem the virus and illness transition. Nevertheless, there is an imperative requirement to behold new remedies for curing clinically advanced cases to minify deaths, virus propagation and to relieve the possible future outbreaks [59].

In general, there are many strategies to defense or contain the COVID-19.

1) Passive antibody cure: can be deemed as a route to boundary COVID-19 epidemics. Passive fortification of antibodies that will recognize the epitopic zone in the strange virus particle can minify the virus proliferation and disease intensity. Antibodies for passive immunotherapy could be secluded from the blood of the ills or it could be produced in the laboratories. Immuno-cure by relocating the convalescence sera to the sickens may be efficient in humans through neutralizing the virus and prohibit more infection. Depending on the existent proves and former expertise in the therapy of other viral contagions like Ebola, SARS, MERS, and influenza, the soon donation of convalescence sera or hyper-immune immunoglobulin from sickens that having highly antibody titers can probably decrease the viral load and the deaths [6, 15, 47, 48, 50, 80]. The simple below figure 6 (see color plate, p. II), summarizes the main purpose of using passive immunity.

Obstacles for this way: Availability of adequate donors, severity or clarity of clinical condition, the viral kinetics, and host interactions of COVID-19 required to be clarified before recommending convalescent plasma as a preference treatment [26, 62]. Tiziana Life Sciences produced a monoclonal antibody known as TZLS-501, which can be used for the therapy of COVID-19. It's a human anti-interleukin-6 receptor (IL-6R), which helps in preventing lung injury.

2) Vaccines: COVID-19 challenge the world and the biggest vaccine producing companies.

This paragraph summarizes the main problem that facing the world because the principles rules of universal vaccines producing companies are the economic benefits and the funding, so the main problem is the worry of these companies about the passing and

end of this pandemic before their vaccines are ready for marketing. Where, vaccine production has many principles steps that spending long periods, and may require several months or up to a year. For these obstacles, we wrote the above paragraph "COVID-19 challenge the world and the biggest vaccine producing companies". Therefore, the task should not be the responsibility of vaccine manufacturing companies alone, but rather there must be global cooperation and support for these companies to intensify efforts and try to produce an effective vaccine in abundant numbers at low cost to be available to all, and this requires as we mentioned cooperation at the global level as well Relevant organizations such as the WHO, FDA, and others. The steps of vaccine production and marketing include:

- a. Choice the main particle of virus for using as antigen (RNA, spikes, Viral proteins...) and the precursor of a vaccine,
- b. The modification method to produce an attenuated or avirulent vaccine,
- c. Evaluation of *in vitro* responses or reactions,
- d. Evaluation of *in vivo* responses in laboratory animals,
- e. Evaluation of the safety of the vaccine (Include the dosage, route of administration, single or multiple doses),
- f. Evaluation of the results of the clinical trials on volunteers.

Depending on all the previous results, obtaining approval from the authorized official authorities such as the WHO or American Organization of FDA.

Several well-known companies have conducted experiments to produce a vaccine for this pandemic that under trial or in different partial steps of the proving and below some examples:

- Vaccine by Medicago company: Produced virus-like particles (VLP) of the coronavirus, and developed antibodies against SARS-CoV-2.
- Altimmune's intranasal coronavirus vaccine: produce of the monocular-dose inoculates has been accomplished, however, animal experiences will go after.
- INO-4800: production by Inovio Pharmaceuticals and Beijing Advaccine Biotechnology. An innovative coronavirus inoculation. The company began pre-clinical experiences for clinical product industrialization.
- mRNA-1273 vaccine: Manufactured by Moderna and Vaccine Research Center. The vaccine goals the Spike (S) protein of the coronavirus.
- Avian Coronavirus Infectious Bronchitis Virus (IBV) vaccine: Manufactured and modified in MIGAL Research Institute in Israel for therapy of COVID-19.
- TNX-1800: Manufactured by Tonix Pharmaceuticals. It's a modified horsepox virus.
- Recombinant subunit vaccine: Producing by Clover Biopharmaceuticals. The vaccine based on the trimeric S protein (S-Trimer) of the COVID-19

coronavirus, which is accountable for adhering with the host cells and occurring a viral infection.

- Vaxart's coronavirus vaccine: An oral recombinant vaccine in tablet formulation.

Interferon: The cellular tracers able to disclosed viruses and stimulate the expression of the Interferon type 1 (I IFNs) that divided to IFN α and IFN β . Type I IFNs link to the ubiquitously expressed IFNAR (IFN α/β receptor), stimulating the JAK/STAT pathway [19].

The release of I IFN stimulates the expression of hundreds of interferon stimulating genes (ISGs) whose firstly serve to edge the further virus spread and contagion. Also, type I IFNs can straightly stimulate immune cells(e.g., stimulating phagocytosis, dendritic cell maturation), and indirectly starting immune responses (e.g., induce the producing of chemokines and cytokines by respiratory cells). Substantial antiviral vigor by type I IFNs implicate declining viral processes such as cell entrance, proliferation, transcription, and translation [61]. Other ISG products can degrade viral nucleic acids or proteins, and many ISGs have yet to be fully characterized. In addition to their principal antiviral reaction, type I IFNs Induce the beginning of the adaptive immune response by interceding dendritic cell (DC) activation, improving effector functions of lymphocytes and macrophages, and inducing the humoral (antibody) response for neutralizing the virus [19, 52]. For all benefits of Interferon, the researchers referred to it as a defense appliance for warfare against SARS-CoV-2.

Tiny-molecule drugs to warfare COVID-19: Several medications that are also under trial or in different partial steps of proving, were announced [16] and including:

- Chloroquine phosphate: It showed effectiveness in the therapy of symptoms of the illness, among the 30 medications that were used. Ills treated with the drug showed the best decline in fever and faster recovery time in clinical experiences that carried out in hospitals in the Guangdong governorate and Hunan governorate. Where up to date the world's attention is directed toward the results of this medicine.
- Favilavir: It revealed efficiency in therapy the disease with negligible side properties in a clinical trial encompassing 70 Sickens in China.
- AT-100 (rhSP-D): It produces by Airway Therapeutics, effective in preclinical studies and diminishes inflammation and lung infection, and also produce the immune response for various respiratory illnesses.
- OYA1: production by OyaGen. Strong antiviral effectiveness for coronavirus in a laboratory experience.
- BPI-002: by BeyondSpring company. It's a tiny molecule referred for therapy different contagions including COVID-19. It can stimulate CD4 $^{+}$ helper T cells and CD8 $^{+}$ cytotoxic T cells and producing an immune response against the virus.

Table 3. Antimicrobial peptides in the the respiratory system [81]

Antimicrobial peptides in the respiratory tract	Produced by cell
Alpha-Defensins (HNP1–4)	Neutrophils
Alpha-Defensins (HNP5)	Epithelial
Beta-Defensins (HBD1–4)	Epithelial, Macrophages, Monocytes, Dendritic
LL-37	Epithelial, Neutrophils
Lysozyme	Epithelial, Neutrophils
Lactoferrin	Epithelial, Neutrophils
Anionic peptides	Epithelial

- Ivermectin: The main using of ivermectin as anti-parasitic, while a very recent study approved that this drug has anti-viral efficacy in vitro and inhibit the SARS-CoV-2 [10].
- Other medications like NP-120 (Ifenprodil) by Algernon Pharma, APN01 by University of British Columbia and APEIRON Biologics.

Antimicrobial peptides (AMPs): Referred as “host defense peptides (HDPs)”, a portion of the innate immune response exist in every type of lifetime. Basic differences find between prokaryotic and eukaryotic cells represented by the effects of antimicrobial peptides, which produced by the eukaryotic cells and some bacteria. These peptides are powerful, wide spectrum antimicrobial which proved potency as new curative factors. These peptides have been confirmed to destroy Gram-negative and Gram-positive bacteria, viruses, fungi and even convert or cancerous cells [25, 58].

The more bountiful antimicrobial peptides in the respiratory system of mammals are lysozymes, lactoferrin, histatins, defensins, and cathelicidins [8, 25]. AMPs are found in numerous kinds of tissues inclusive skin, eyes, oral bore, ears, airway, lung, female genital system, vaginal secretion, bowels, and urinary system [1, 17].

The defensins and the cathelicidin LL-37 are the best AMPs were thoughtful in humans, and importantly they have the immunomodulatory effect [2, 28]. AMPs as curative stuff appear particularly promised versus to emerging contagious viruses, which

none confirmed vaccines or medications are presently ready, such as dengue virus (DENV) and Zika virus (ZIKV) [81]. Table 3 summarized the antimicrobial peptides that found in the respiratory system.

3) Herd immunity: Some researchers, and scientific and media channels suggested using the herd immunity method for containing the COVID-19. Whereas, the WHO criticized it, and mentioned that far greater activity is needed. Other health pundits said this pathway is empirical at bestead, and serious at worse. Herd immunity means letting a large number of people catch a disease, and hence develop immunity to it, to stop the virus spreading [22].

The meaning of herd immunity is permitting a great count of people to get a disease, so they develop immunity to it, which helps to pause the virus pervasion. Herd immunity is explained in the figure 7 (see color plate, p. II).

Finally, inclusive approaches to minify person-to-person passing of COVID-19 are wanted to control the existing pandemic. Special attentiveness and efforts to safeguard or minimize transmission must be applied in sensitive inhabitants inclusive children, health care providers, and old people. A guideline was issued for the medical staff, healthcare providers, and, public health persons and scientists who are concerned in the 2019-nCoV [30]. The early dying cases of COVID-19 contagion happened mainly in elderly persons, perhaps due to a weakened immune system that authorized quicker development of viral infection [40, 73].

Conclusion

1. COVID-19 is the biggest challenge to the world in the 21st century.
2. It should be remembered that one of the unique features of COVID-19 is a high rate of mutations.
3. COVID-19 may destroy antiviral immunity in the early stage.
4. There is no efficient containing for the disease, although there are many suggested strategies.
5. Strict public health measures have a reasonable role in reducing the spread of the epidemic.
6. Certain drugs, such as (hydroxy) Chloroquine, Kaletra, and Ivermectin perhaps promising in the treatment of COVID-19.

References

1. Agier J., Efenberger M., Brzezińska-Błaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Cent. Eur. J. Immunol.*, 2015, vol. 40, pp. 225–235.
2. Ahmed A., Siman-Tov G., Hall G., Bhalla N., Narayanan A. Human antimicrobial peptides as therapeutics for viral infections. *Viruses*, 2019, vol. 11: 704. doi: 10.3390/v11080704
3. Almeida J.D., Tyrrell D.A. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J. Gen. Virol.*, 1967, vol. 1, pp. 175–178.
4. Andersen K.G., Rambaut A., Lipkin W.I., Holmes E.C., Garry R.F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.*, 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0820-9
5. André P., Denis C., Soulard C., Bourbon-Caillet C., Lopez J., Arnoux T., Bléry M., Bonnafous C., Gauthier L., Morel A., Rossi B., Remark R., Breso V., Bonnet E., Habif G., Guia S., Lalanne A.I., Hoffmann C., Lantz O., Fayette J., Boyer-Chammard A., Zerbib R., Dodion P., Ghadially H., Jure-Kunkel M., Morel Y., Herbst R., Narni-Mancinelli E., Cohen R.B., Vivier E. Anti-

- NKG2A mAb is a checkpoint inhibitor that promotes anti-tumor immunity by unleashing both T and NK cells. *Cell*, 2018, vol. 7, pp. 1731–1743. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.014
6. Arabi Y., Balkhy H., Hajeer A.H., Bouchama A., Hayden F.G., Al-Omari A., Al-Hameed F.M., Taha Y., Shindo N., Whitehead J., Merson L., AlJohani S., Al-Khairi K., Carson G., Luke T.C., Hensley L., Al-Dawood A., Al-Qahtani S., Modjarrad K., Sadat M., Rohde G., Leport C., Fowler R. Feasibility, safety, clinical, and laboratory effects of convalescent plasma therapy for patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a study protocol. *Springerplus*, 2015, vol. 4, p. 709. doi: 10.1186/s40064-015-1490-9
 7. Báez-Santos Y.M., John S.E.S., Mesecar A.D. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Res.*, 2015, vol. 115, pp. 21–38. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.12.015
 8. Beisswenger C., Bals R. Antimicrobial peptides in lung inflammation. *Chem. Immunol. Allergy*, 2005, vol. 86, pp. 55–71. doi: 10.1159/000086651
 9. Bosch B.J., van der Zee R., de Haan C.A., Rottier P.J. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J. Virol.*, 2003, vol. 77, pp. 8801–8811. doi: 10.1128/jvi.77.16.8801-8811.2003
 10. Caly L., Druce J.D., Catton M.G., Jans D.A., Wagstaff K.M. The FDA approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.*, 2020: 104787. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104787
 11. Casadevall A., Pirofski L. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J. Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 4, pp. 1545–1548. doi: 10.1172/JCI138003
 12. CDC. In the absence of SARS-CoV transmission worldwide: guidance for surveillance, clinical and laboratory evaluation, and reporting version 2. URL: <https://www.cdc.gov/sars/surveillance/absence.pdf>
 13. CDC. Interim clinical guidance for management of patients with confirmed coronavirus disease (COVID-19). URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html>
 14. Chan J.F., Kok K.H., Zhu Z., Chu H., To K.K., Yuan S., Yuen K.Y. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, vol. 9, pp. 221–236. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902
 15. Chan K.H., Chan J.F., Tse H., Chen H., Lau C.C., Cai J.P., Tsang A.K., Xiao X., To K.K., Lau S.K., Woo P.C., Zheng B.J., Wang M., Yuen K.Y. Cross-reactive antibodies in convalescent SARS patients' sera against the emerging novel human coronavirus EMC (2012) by both immunofluorescent and neutralizing antibody tests. *J. Infect.*, 2013, vol. 67, pp. 130–140.
 16. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
 17. De la Fuente-Nunez C., Silva O.N., Lu T.K., Franco O.L. Antimicrobial peptides: role in human disease and potential as immunotherapies. *Pharmacol. Ther.*, 2017, vol. 178, pp. 132–140.
 18. Du L., Zhao G., Kou Z., Ma C., Sun S., Poon V.K., Lu L., Wang L., Debnath A.K., Zheng B.J., Zhou Y., Jiang S. Identification of a receptor-binding domain in the S protein of the novel human coronavirus Middle East respiratory syndrome coronavirus as an essential target for vaccine development. *J. Virol.*, 2013, vol. 87, pp. 9939–9942.
 19. Durbin R.K., Kotenko S.V., Durbin J.E. Interferon induction and function at the mucosal surface. *Immunol. Rev.*, 2013, vol. 255, pp. 25–39. doi: 10.1111/imr.12101
 20. FDA. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). URL: <https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/counterterrorism-and-emerging-threats/coronavirus-disease-2019-covid-19>
 21. Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.*, 2015, vol. 1282, pp. 1–23. doi: 10.1007/978-1-4939-2438-7-1
 22. Fine P., Eames K., Heymann D.L. Herd Immunity: a rough guide. *Clin. Infect. Dis.*, 2011, vol. 52, pp. 911–916. doi: 10.1093/cid/cir007
 23. Flint J., Racaniello V.R., Rall G.F., Skalka A.M. Principles of virology. 4th ed. Washington, DC: ASAM Press, 2015.
 24. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Sironi M. Molecular evolution of Human Coronavirus genomes. *Trends Microbiol.*, 2017, vol. 25, pp. 35–48. doi: 10.1016/j.tim.2016.09.001
 25. González-García M., Ständker L., Otero-González A.J. Antimicrobial peptides in multiresistant respiratory infections. *Rev. Cubana Med. Trop.*, 2019, vol. 71, no. 2, pp. 1–16.
 26. Gralinski L.E., Menachery V.D. Return of the coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*, 2020, vol. 12, p. 2. doi: 10.3390/v12020135
 27. Hofmann H., Simmons G., Rennekamp AJ, Chaipan C., Gramberg T., Heck E., Geier M., Wegele A., Marzi A., Bates P., Pöhlmann S. Highly conserved regions within the spike proteins of human coronaviruses 229E and NL63 determine recognition of their respective cellular receptors. *J. Virol.*, 2006, vol. 80, pp. 8639–8652.
 28. Hsieh N., Hartshorn K.L. The role of antimicrobial peptides in influenza virus infection and their potential as antiviral and immunomodulatory therapy. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2016, vol. 9, pp. 3. doi: 10.3390/ph9030053
 29. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
 30. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S., Cheng H., Deng T., Fan Y.P., Fang C., Huang D., Huang L.Q., Huang Q., Han Y., Hu B., Hu F., Li B.H., Li Y.R., Liang K., Lin L.K., Luo L.S., Ma J., Ma L.L., Peng Z.Y., Pan Y.B., Pan Z.Y., Ren X.Q., Sun H.M., Wang Y., Wang Y.Y., Weng H., Wei C.J., Wu D.F., Xia J., Xiong Y., Xu H.B., Yao X.M., Yuan Y.F., Ye T.S., Zhang X.C., Zhang Y.W., Zhang Y.G., Zhang H.M., Zhao Y., Zhao M.J., Zi H., Zeng X.T., Wang Y.Y., Wang X.H.; for the Zhongnan Hospital of Wuhan University Novel Coronavirus Management and Research Team, Evidence-Based Medicine Chapter of China International Exchange and Promotive Association for Medical and Health Care (CPAM). A rapid advice guideline for the diagnosis and

- treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Mil. Med. Res.*, 2020, vol. 7, no. 4. doi: 10.1186/s40779-020-0233-6
31. Kahn J., McIntosh K. History and recent advances in coronavirus discovery. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2005, vol. 24, iss. 11, pp. S223–S227. doi: 10.1097/01.inf.0000188166.17324.60
 32. Kikkert M. Innate immune evasion by human respiratory RNA viruses. *J. Innate Immun.*, 2020, vol. 12, pp. 4–20. doi: 10.1159/000503030
 33. Lai M.M., Holmes K.V. Coronaviridae: the viruses and their replication. In: Fields Virology. Eds. Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 2001.
 34. Lai M.M., Holmes K.V. Coronaviruses. In: Fields Virology. Eds.: Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., Straus S.E. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp. 1163–1185.
 35. Lei J., Kusov Y., Hilgenfeld R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res.*, 2018, vol. 149, pp. 58–74.
 36. Letko M., Marzi A., Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat. Microbiol.*, 2020, vol. 10, pp. 562–569. doi: 10.1038/s41564-020-0688-y
 37. Lewicki D.N., Gallagher T.M. Quaternary structure of coronavirus spikes in complex with carcino embryonic antigen-related cell adhesion molecule cellular receptors. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 19727–19734. doi: 10.1074/jbc.M201837200.
 38. Li F. Structural analysis of major species barriers between humans and palm civets for severe acute respiratory syndrome coronavirus infections. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, pp. 6984–6991.
 39. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annu. Rev. Virol.*, 2016, vol. 3, pp. 237–261. doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301
 40. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R., Leung K.S.M., Lau E.H.Y., Wong J.Y., Xing X., Xiang N., Wu Y., Li C., Chen Q., Li D., Liu T., Zhao J., Liu M., Tu W., Chen C., Jin L., Yang R., Wang Q., Zhou S., Wang R., Liu H., Luo Y., Liu Y., Shao G., Li H., Tao Z., Yang Y., Deng Z., Liu B., Ma Z., Zhang Y., Shi G., Lam T.T.Y., Wu J.T., Gao G.F., Cowling B.J., Yang B., Leung G.M., Feng Z. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, pp. 1199–1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316
 41. Li S.W., Wang C.Y., Jou Y.J., Huang S.H., Hsiao L.H., Wan L., Lin Y.J., Kung S.H., Lin C.W. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the TLR7 signaling pathway through removing Lys63-linked polyubiquitination of TRAF3 and TRAF6. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, no. 5, p. 678. doi: 10.3390/ijms17050678
 42. Li W., Hulswit R.J.G., Widjaja I., Raj V.S., McBride R., Peng W., Widagdo W., Tortorici M.A., van Dieren B., Lang Y., van Lent J.W.M., Paulson J.C., de Haan C.A.M., de Groot R.J., van Kuppeveld F.J.M., Haagmans B.L., Bosch B.J. Identification of sialic acid-binding function for the Middle East respiratory syndrome coronavirus spike glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2017, vol. 114, pp. E8508–E8517. doi: 10.1073/pnas.1712592114
 43. Lin H.X., Feng Y., Wong G., Wang L., Li B., Zhao X., Li Y., Smaill F., Zhang C. Identification of residues in the receptor-binding domain (RBD) of the spike protein of human coronavirus NL63 that are critical for the RBD–ACE2 receptor interaction. *J. Gen. Virol.*, 2008, vol. 89, pp. 1015–1024. doi: 10.1099/vir.0.83331-0
 44. Liu C., Tang J., Ma Y., Liang X., Yang Y., Peng G., Qi Q., Jiang S., Li J., Du L., Li F. Receptor usage and cell entry of porcine epidemic diarrhea coronavirus. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, pp. 6121–6125.
 45. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci. Trends.*, 2020, vol. 14, pp. 69–71. doi: 10.5582/bst.2020.01020
 46. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N., Bi Y., Ma X., Zhan F., Wang L., Hu T., Zhou H., Hu Z., Zhou W., Zhao L., Chen J., Meng Y., Wang J., Lin Y., Yuan J., Xie Z., Ma J., Liu W.J., Wang D., Xu W., Holmes E.C., Gao G.F., Wu G., Chen W., Shi W., Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10224, pp. 565–574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
 47. Luke T.C., Kilbane E.M., Jackson J.L., Hoffman S.L. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H5N1 treatment? *Ann. Intern. Med.*, 2006, vol. 145, pp. 599–609.
 48. Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K., Cleary P., Khaw F.M., Lim W.S., Makki S., Rooney K.D., Nguyen-Van-Tam J.S., Beck C.R.; Convalescent Plasma Study Group. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J. Infect. Dis.*, 2015, vol. 211, pp. 80–90. doi: 10.1093/infdis/jiu396
 49. Mou H., Raj V.S., van Kuppeveld F.J., Rottier P.J., Haagmans B.L., Bosch B.J. The receptor binding domain of the new MERS coronavirus maps to a 231-residue region in the spike protein that efficiently elicits neutralizing antibodies. *J. Virol.*, 2013, vol. 87, pp. 9379–9383. doi: 10.1128/JVI.01277-13
 50. Mupapa K., Massamba M., Kibadi K., Kuvula K., Bwaka A., Kipasa M. Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. International Scientific and Technical Committee. *J. Infect. Dis.*, 1999, vol. 179, pp. 18–23.
 51. Muramatsu T., Takemoto C., Kim Y.T., Wang H., Nishii W., Terada T., Shirouzu M., Yokoyama S. SARS-CoV 3CL protease cleaves its C-terminal autoprocessing site by novel subsite cooperativity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2016, vol. 113, pp. 12997–13002. doi: 10.1073/pnas.1601327113
 52. Newton A.H., Cardani A., Bracie T.J. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. *Semin. Immunopathol.*, 2016, vol. 38, pp. 471–482. doi: 10.1007/s00281-016-0558-0
 53. Niemeyer D., Mösbauer K., Klein E.M., Sieberg A., Mettelman R.C., Mielech A.M., Dijkman R., Baker S.C., Drosten C., Müller M.A. The papain-like protease determines a virulence trait that varies among members of the SARS-coronavirus species. *PLoS Pathog.*, 2018, vol. 14: e1007296. doi: 10.1371/journal.ppat.1007296
 54. Nour R., Houssam S. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): a review. *Germs*, 2019, vol. 9, pp. 35–42. doi: 10.18683/germs.2019.1155

55. Peng G., Xu L., Lin Y.L., Chen L., Pasquarella J.R., Holmes K.V., Li F. Crystal structure of bovine coronavirus spike protein lectin domain. *J. Biol. Chem.*, 2012, vol. 287, pp. 41931–41938. doi: 10.1074/jbc.M112.418210
56. Promkuntod N., van Eijndhoven R.E., de Vrieze G., Gröne A., Verheije M.H. Mapping of the receptor-binding domain and amino acids critical for attachment in the spike protein of avian coronavirus infectious bronchitis virus. *Virology*, 2014, vol. 448, pp. 26–32.
57. Raj V.S., Mou H., Smits S.L., Dekkers D.H., Müller M.A., Dijkman R., Muth D., Demmers J.A., Zaki A., Fouchier R.A., Thiel V., Drosten C., Rottier P.J., Osterhaus A.D., Bosch B.J., Haagmans B.L. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature*, 2013, vol. 495, pp. 251–254. doi: 10.1038/nature12005
58. Reddy K.V., Yedery R.D., Aranha C. Antimicrobial peptides: premises and promises. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2004, vol. 24, pp. 536–547. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005 PMID 15555874
59. Rothana H.A., Byrareddy S.N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J. Autoimmun.*, 2020, vol. 109: 102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433
60. Sah R., Rodriguez-Morales A.J., Jha R., Chu D.K.W., Gu H., Peiris M., Bastola A., Lal B.K., Ojha H.C., Rabaan A.A., Zambrano L.I., Costello A., Morita K., Pandey B.D., Poon L.L.M. Complete Genome Sequence of a 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Strain Isolated in Nepal. *Microbiol. Resour. Announc.*, 2020, vol. 9: e00169-20. doi: 10.1128/MRA.00169-20
61. Samuel C.E. Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, vol. 14, pp. 778–809. doi: 10.1128/CMR.14.4.778-809.2001
62. Shanmugaraj B., Siri Wattananon K., Wangkanont K., Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2020, vol. 38, pp. 10–18. doi: 10.12932/AP-200220-0773
63. Shi Y., Wang Y., Shao C., Huang J., Gan J., Huang X., Bucci E., Piacentini M., Ippolito G., Melino G. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ.*, 2020. doi: 10.1038/s41418-020-0530-3
64. Snijder E.J., Decroly E., Ziebuhr J. The nonstructural proteins directing coronavirus RNA synthesis and processing. *Adv. Virus Res.*, 2016, vol. 96, pp. 59–126. doi: 10.1016/bs.avir.2016.08.008
65. Song W., Gui M., Wang X., Xiang Y. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog.*, 2018, vol. 14, no. 8: e1007236. doi: 10.1371/journal.ppat.1007236
66. Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J., Liu W., Bi Y., Gao G.F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.*, 2016, vol. 24, pp. 490–502.
67. Subissi L., Imbert I., Ferron F., Collet A., Coutard B., Decroly E., Canard B. SARS-CoV ORF1b-encoded nonstructural proteins 12–16: replicative enzymes as antiviral targets. *Antiviral Res.*, 2014, vol. 101, pp. 122–130. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.11.006
68. Tang X., Wu C., Li X., Song Y., Yao X., Wu X., Duan Y., Zhang H., Wang Y., Qian Z., Cui J., Lu J. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl. Sci. Rev.*, 2020. doi: 10.1093/nsr/nwaa036
69. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *Lancet*, 1966, vol. 1, pp. 76–77.
70. Verschueren K.H., Pumpor K., Anemüller S., Chen S., Mesters J.R., Hilgenfeld R. A structural view of the inactivation of the SARS coronavirus main proteinase by benzotriazole esters. *Chem. Biol.*, 2008, vol. 15, pp. 597–606.
71. Walls A.C., Tortorici M.A., Snijder J., Xiong X., Bosch B.J., Rey F.A., Veesler D. Tectonic conformational changes of a coronavirus spike glycoprotein promote membrane fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2017, vol. 114, pp. 11157–11162. doi: 10.1073/pnas.1708727114
72. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of Bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, vol. 12, pp. 12.
73. Wang W., Tang J., Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, pp. 441–447. doi: 10.1002/jmv.25689.
74. Wilder-Smith A., Teleman M.D., Heng B.H., Earnest A., Ling A.E., Leo Y.S. Asymptomatic SARS coronavirus infection among healthcare workers, Singapore. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, vol. 11, pp. 1142–1145. doi: 10.3201/eid1107.041165
75. Wilson M.E., Chen L.H. Travelers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). *J. Travel Med.*, 2020, vol. 27, iss. 2: taaa015. doi: 10.1093/jtm/taaa015
76. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected: Interim guidance. 28 January 2020. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330893>
77. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 2020, vol. 367, pp. 1260–1263. doi: 10.1126/science.abb2507
78. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020, vol. 579, pp. 265–269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
79. Yang Y., Du L., Liu C., Wang L., Ma C., Tang J., Baric R.S., Jiang S., Li F. Receptor usage and cell entry of bat coronavirus HKU4 provide insight into bat-to-human transmission of MERS coronavirus. *PNAS*, 2014, vol. 111, pp. 12516–12521. doi: 10.1073/pnas.1405889111
80. Yeh K.M., Chiueh T.S., Siu L.K., Lin J.C., Chan P.K., Peng M.Y., Wan H.L., Chen J.H., Hu B.S., Perng C.L., Lu J.J., Chang F.Y. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, vol. 56, pp. 919–922.
81. Yount N.Y., Andrés M.T., Fierro J.F., Yeaman M.R. The gamma-core motif correlates with antimicrobial activity in cysteine-containing kaliocin-1 originating from transferrins. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, vol. 1768, pp. 2862–2872.
82. Yuan L., Chen Z., Song S., Wang S., Tian C., Xing G., Chen X., Xiao Z.X., He F., Zhang L. p53 degradation by a coronavirus papain-like protease suppresses type I interferon signaling. *J. Biol. Chem.*, 2015, vol. 290, pp. 3172–3182. doi: 10.1074/jbc.M114.619890
83. Zhang C., Wang X.M., Li S.R., Twelkmeyer T., Wang W.H., Zhang S.Y., Wang S.F., Chen J.Z., Jin X., Wu Y.Z., Chen X.W., Wang S.D., Niu J.Q., Chen H.R., Tang H. NKG2A is a NK cell exhaustion checkpoint for HCV persistence. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 1: 1507. doi: 10.1038/s41467-019-109212-y

84. Zheng M., Gao Y., Wang G., Song G., Liu S., Sun D., Xu Y., Tian Z. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell. Mol. Immunol.*, 2020. doi: 10.1038/s41423-020-0402-2
85. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, vol. 579, no. 7798, pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

Авторы:

Исихак Ф.А., доцент кафедры микробиологии Колледжа ветеринарной медицины Мосульского университета, г. Мосул, Ирак;
Хамад М.А., доцент кафедры микробиологии Колледжа ветеринарной медицины Мосульского университета, г. Мосул, Ирак;
Мустафа Н.Г., профессор, зав. кафедрой физиологии, биохимии и фармакологии Колледжа ветеринарной медицины Мосульского университета, г. Мосул, Ирак.

Поступила в редакцию 04.04.2020
 Принята к печати 06.04.2020

Authors:

Isihak F.A., Assistant Professor, Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq;
Hamad M.A., Assistant Professor, Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq;
Mustafa N.G., Professor, Head of Department of Physiology, Biochemistry, and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Received 04.04.2020
 Accepted 06.04.2020

ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.С. Смирнов^{1,2}, Арег А. Тотолян²

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

²АО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Коронавирусы (CoV) представляют собой полиморфную группу респираторных вирусов, вызывающих острые воспалительные заболевания у домашних и сельскохозяйственных животных (куры, свиньи, буйволы, кошки, собаки). У людей инфекция до недавнего времени наблюдалась преимущественно в осенне-зимний период и характеризовалась легким, зачастую бессимптомным, течением. Ситуация резко изменилась в 2003 году, когда в Китае была зарегистрирована вспышка атипичной пневмонии, вызванная патогенным CoV (SARS-CoV). Спустя 10 лет возникла новая вспышка CoV в виде ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), а в декабре 2019 г. отмечены случаи SARS-CoV-2 (COVID-19), трансформировавшиеся в первые месяцы 2020 г. в пандемию. Во всех трех случаях заболевание часто приводило к тяжелыми бронхолегочными поражениями, варьировавшим от сухого изнурительного кашля до острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Одновременно с этим отмечены множественные изменения в системе врожденного иммунитета, чаще всего в виде выраженной воспалительной реакции в нижних дыхательных путях, проявляющиеся повреждением пневмоцитов II порядка, явлениями апоптоза, гиалинизацией альвеолярных мембран, очаговым или генерализованным отеком легких. Деструктивные процессы в респираторном отделе сопровождались миграцией в очаг воспаления моноцитов/макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов. На фоне перечисленных явлений наблюдалась выработка провоспалительных цитокинов, интенсивность которой могла нарастать до цитокинового шторма. Для SARS-CoV характерны симптомы вторичной иммунодепрессии, проявляющиеся в позднем начале синтеза интерферонов и активации ключевого фактора воспаления — NLRP3-инфламмасомы. Причиной подобной реакции является «вооруженность» CoV обширным набором структурных и неструктурных белков, обладающих провоспалительными и иммунодепрессивными свойствами. Отсроченный синтез IFN позволял вирусу активно и беспрепятственно реплицироваться, а когда же организм запускал синтез IFN I, его действие оказывалось вредным и сопровождалось утяжелением течения инфекции. Таким образом, SARS можно с полным основанием отнести к числу иммунозависимых инфекций с выраженным иммунопатологическим компонентом. Цель этого обзора описать некоторые механизмы формирования врожденного иммунного ответа на инфицирование патогенными коронавирусами: SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 (COVID-19).

Ключевые слова: коронавирус, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, врожденный иммунитет, цитокины, внутриклеточный регуляторный каскад, интерфероны.

INNATE IMMUNITY IN CORONAVIRUS INFECTION

Smirnov V.S.^{a,b}, Totolian Areg A.^a

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b JSC MBNPK "Cytomed", St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Coronaviruses (CoVs) comprise a polymorphic group of respiratory viruses causing acute inflammatory diseases in domestic and agricultural animals (chicken, pig, buffalo, cat, dog). Until recently, this infection in humans was mainly

Адрес для переписки:

Смирнов Вячеслав Сергеевич
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 911 948-59-22 (моб.). E-mail: vssmi@mail.ru

Contacts:

Vyacheslav S. Smirnov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 911 948-59-22 (mobile). E-mail: vssmi@mail.ru

Библиографическое описание:

Смирнов В.С., Тотолян Арг А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 259–268. doi: 10.15789/2220-7619-III-1440

© Смирнов В.С., Тотолян Арг А., 2020

Citation:

Smirnov V.S., Totolian Areg A. Innate immunity in coronavirus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 259–268. doi: 10.15789/2220-7619-III-1440

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-III-1440>

observed during the autumn-winter period and characterized by a mild, often asymptomatic, course. The situation changed dramatically in 2003, when SARS outbreak caused by pathogenic CoV (SARS-CoV) was recorded in China. A decade later, a new CoV outbreak occurred in the form of the Middle East respiratory syndrome (MERS-CoV), whereas in December 2019, SARS-CoV-2 (COVID-19) cases were recorded, which transformed within the first months of 2020 into the pandemic. In all three cases, CoV disease led to severe bronchopulmonary lesions, varying from dry, debilitating cough to acute respiratory distress syndrome (ARDS). At the same time, multiple changes in innate immunity were noted most often manifested as a pronounced inflammatory reaction in the lower respiratory tract, featured by damaged type II pneumocytes, apoptosis, hyalinization of alveolar membranes, focal or generalized pulmonary edema. Destructive processes in the respiratory tract were accompanied by migration of monocytes/macrophages and granulocyte neutrophils to the inflammatory focus. Such events were accompanied by production of pro-inflammatory cytokines, which magnitude could ascend up to a cytokine storm. SARS-CoV is characterized by symptoms of secondary immunosuppression, manifested by the late onset of interferon production and activation of NLRP3 inflammasomes – the key inflammatory factor. The reason for such reaction may be accounted for by CoV arsenal containing extensive set of structural and non-structural proteins exerting pro-inflammatory and immunosuppressive properties. Delayed IFN production allowed CoV to replicate actively and freely, and when type I IFN synthesis was eventually triggered, its activity was detrimental and accompanied by an aggravated infection course. Thus, SARS can surely be referred to immune-dependent infections with a marked immuno-pathological component. The purpose of this review was to describe some mechanisms underlying formation of innate immune response to infection caused by pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19).

Key words: coronavirus, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, innate immunity, cytokines, intracellular regulatory cascade, interferons.

Введение

Коронавирусы (CoV) относятся к большой группе РНК-содержащих вирусов, известных как возбудители, патогенные преимущественно для птиц, сельскохозяйственных, домашних и некоторых видов диких животных [3, 15]. Семейство коронавирусов включает около 37 видов возбудителей, распределенных по четырем группам из которых только альфа- и бета-коронавирусы способны поражать человека, домашних и диких птиц, кошек и собак, крупный рогатый скот и свиней. У человека встречаются четыре вида CoV: 229E, NL63, OC43 и HKU, которые, как правило, вызывают легкие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), протекающие со скучными симптомами или вовсе бессимптомно [59]. Считается, что в период сезонной вспышки ОРВИ до трети случаев приходится на CoV.

Такая вполне благополучная картина наблюдалась до 2003 года, когда в Китае была зафиксирована первая в истории вспышка заболевания, вызванного патогенным CoV, которое получило название SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome) [17]. Спустя почти 10 лет на Ближнем Востоке произошла вторая вспышка CoV, названная «Ближневосточным респираторным синдромом» (MERS-CoV — Middle East Respiratory Syndrome) [41], а на рубеже 2019–2020 гг. в Ухане (Китай) были зафиксированы первые случаи тяжелого респираторного заболевания, причиной которого стал новый патогенный коронавирус (SARS-CoV-2) [58, 66]. Эти вспышки при всех их особенностях, имеют одно очевидное общее свойство: высокую вовлеченность в патогенез системы иммунной защиты. С одной стороны, иммунная система

играет ключевую роль в контроле и элиминации CoV, с другой разнообразные ее нарушения могут приводить к развитию тяжелого воспалительного заболевания с обширными нередко фатальными нарушениями многочисленных систем и органов, в первую очередь, дыхательной системы [58].

Вирион CoV представляет собой шарообразную частицу диаметром 80–229 нм, содержащую одноцепочечную РНК позитивной полярности, размером около 32 000 нуклеотидов, ассоциированную с N-белком. Вирион окружена липидной оболочкой, в которую встроены три структурных белка, имеющих важное значение в патогенезе инфекции. С внешней стороны липидной мембраны расположены гликопротеиновые шипы (S-белок), образующие некое подобие короны, откуда и название «коронавирус». Основное предназначение этих гликопротеинов — связывание с поверхностными структурами и слияние вириона с цитоплазматической мембраной клетки хозяина [59]. Считается, что S-белок, а точнее его домен-связывающий рецептор (RBD), может подвергаться конформационным изменениям, позволяющим ему избегать распознавания механизмами врожденного иммунитета [22]. Тип рецептора связывания в организме хозяина специфичен для каждого патогенного вируса. Так, SARS-CoV и SARS-CoV-2 связываются с ангиотензинпревращающим рецептором 2 (ACE2), тогда как MERS-CoV — с дипептидилпептидазой 4 (DPP4) [22]. Кроме того, SARS-CoV может проникать в клетку в результате связывания с еще одним рецептором CD147 [65]. Имеются также данные о том, что TLR4 может распознавать S-белок и индуцировать активацию выработки провоспалительных цитокинов [38].

В состав липидной мембраны входят еще два важных структурных белка Е и М [38]. Подробное описание указанных структурных белков не входит в задачу обзора. Следует только упомянуть, что они также могут участвовать в формировании воспалительного ответа и уклонении вируса от распознавания системами врожденного иммунитета [39, 55]. Показано, в частности, что М-белок, наряду с 4a, 4b и P1ppro белками MERS-CoV, участвует в подавлении путей трансдукции сигналов IFN I типа и фактора инициации трансляции NF-кВ [55].

Кроме перечисленных структурных белков, CoV генерирует ряд неструктурных (вспомогательных) белков, играющих важную роль в активации воспаления, подавлении IFN I типа и уклонении от распознавания вируса системой врожденного иммунитета [12, 49, 54].

Таким образом, патогенные коронавирусы представляют собой хорошо «вооруженного» возбудителя, способного вызывать у инфицированного хозяина тяжелое, а порой и смертельное заболевание, сопровождающееся цитокиновым штормом, подавлением выработки IFN и развитием ОРДС, что было наглядно продемонстрировано в Китае и Италии зимой-весной 2020 года.

Мы не ставили перед собой цель дать исчерпывающее полный анализ реакции иммунной системы человека на инфицирование CoV как таковым. Цель этого обзора описать некоторые механизмы формирования врожденного иммунного ответа при инфицировании высокопатогенными SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 (COVID-19).

Врожденный иммунный ответ при CoV

Система врожденного иммунитета, является одним из первых барьеров на пути вторжения в организм патогенного возбудителя. Все известные CoV у человека внедряются через респираторную систему, где вирус вступает в первый контакт с респираторным эпителием. В отличие от вируса гриппа, фиксирующегося на эпителии бронхиального дерева посредством нейраминидазы и гемагглютинина [2], CoV используют иные рецепторы. Так SARS-CoV и SARS-CoV-2 обладают средством своего поверхностного S-протеина к ACE2, экспрессирующемуся в небольшом количестве на эпителиальных клетках альвеол, трахеи, бронхов, бронхиальных серозных желез [23, 36], тогда как вирусы MERS-CoV связываются с другим клеточным рецептором (DPP4) [59]. Кроме ACE2 вирусы SARS могут использовать дополнительный рецептор CD147, известный также как Basigin или EMMPRIN [65].

Связавшиеся с тем или иным рецептором CoV затем транспортируются в эндосому, где РНК вируса высвобождается и распознается эндосомальными рецепторами TLR3 и TLR7. Далее сигнал транслируется нижестоящими посредниками TRIF, TRAF6 в направлении комплекса I-кВ, который диссоциирует и высвобождает NF-кВ, ответственный за синтез широкого спектра провоспалительных цитокинов, таких, в частности, как proIL-1, IL-6, proIL-18, TNF α [9, 16] (рис. 1, вклейка, с. III).

Другой сигнал трансдуцируется через адаптерный белок TRAF3 на семейство IRF, включающее, по меньшей мере, IRF3 и IRF7, которые после фосфорилирования мигрируют в ядро, где инициируют синтез IFN I типа [16, 46]. Если сигнал РНК вируса распознается TLR7 он трансдуцируется по классическому пути [10].

Существует еще один путь внедрения CoV в клетку — прямое слияние с плазматической мембраной. В этом случае вирион высвобождает одноцепочечную РНК, которая синтезирует две открытых рамки считывания ORF1a и ORF1ab. С этих рамок синтезируются полипротеины pp1a и pp1ab, из которых в результате посттрансляционных изменений образуются 12 неструктурных белков, локализующихся в перинуклеарном пространстве клетки. Неструктурные белки образуют комплекс РНК-репликаза-транскриптаза, которая участвует в синтезе отрицательной цепи РНК [59, 64]. Кроме процессов репликации, РНК распознается цитоплазматическими рецепторами RLR и MDA 5, трансдуцирующими нисходящий сигнал через MAVS на протеиновый ансамбль TRAF-TANK-IKK ϵ -TBK 1, далее на IRF3, IRF7 и NF-кВ с последующим импортом в ядро и синтезом IFN I типа и провоспалительных цитокинов [16, 44].

Таким образом, в клетке существует разветвленная система переноса клеточных сигналов, позволяющая секretировать широкий набор цитокинов, которые в зависимости от вирулентности возбудителя и функционального состояния инфицированных клеток хозяина, могут выполнять либо защитную функцию, либо приводить к нарастанию неконтролируемого воспаления с последующим развитием тяжелых патологических реакций вплоть до гибели инфицированного организма [7, 11, 13, 14, 21, 34, 38].

Роль NLRP3 при CoV

Продукты взаимодействия вируса с клеткой хозяина, будь то пневмоцит II типа или макрофаг, распознаются также Nod-подобными рецепторами [12, 51, 69], участвующими в формировании особого полипротеинового комплекса, названного инфламмасомой [69]. Существует большое семейство инфламмасом,

выполняющих разнообразные функции в системе врожденного иммунитета [23]. Среди них наибольшее внимание привлекает NLRP3-инфламмасома, которая формируется в ответ на вторжение различных патогенов, и является ключевым фактором системы противовирусной защиты организма хозяина [69]. Целый ряд патогенов, в том числе РНК-содержащие патогенные вирусы, такие как вирус гриппа, CoV и др., индуцируют сборку и активацию NLRP3-инфламмасомы на ранней стадии инфекции, что сопровождается защитной реакцией организма хозяина [32, 56].

Внедрение патогенного возбудителя сопровождается распознаванием его РНК и белков, что вызывает каскад регуляторных реакций, приводящих к сборке NLRP3 инфламмасомы, образуемой белками NACHT, LRR, NLRP3, спекоподобного белка ASC, проакаспазы 1 и последующей активации этого комплекса [69].

Процесс формирования и последующей активации инфламмасомы индуцируется несколькими событиями. Распознавание патогенного вируса, например, эндосомальными TLR3, TLR7 сопровождается трансдукцией сигнала до I-кВ, диссоциацией этого комплекса, высвобождением NF-кВ и его импортом в ядро с последующим синтезом каскада провоспалительных цитокинов, часть из которых секретируется в форме незрелых предшественников, например, proIL-1, proIL-18 и др.

Одновременно с этим вирусные белки, такие как Е-протеин и вспомогательный белок Зα, активируют ионные каналы, приводя к утечке из клетки ионов K⁺ и притока Ca²⁺ [20, 37, 39, 48]. Подобный ионный дисбаланс является сильным активатором NLRP3-инфламмасомы. С другой стороны, накопление промежуточных продуктов вирусного метаболизма сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК), повреждением митохондрий с высвобождением из них ДНК [12, 69]. Наконец, определенную роль в активации эндосомы может играть и катепсин, необходимый для расщепления S-белка и последующего его слияния с мембраной клетки-мишени [57]. Избыточное высвобождение катепсина в цитоплазму также будет активировать NLRP3-инфламмасому [69].

В результате всех этих событий уже собранная NLRP3-инфламмасома расщепляет проакаспазу 1 до ее зрелой формы, которая обеспечивает протеолитическую обработку proIL-1, proIL-18 и пропироптотического фактора GSDMD до их зрелых форм [6, 53]. В свою очередь, GSDMD формирует поры в плазматической мембране, что облегчает секрецию в межклеточное пространство зрелых провоспалительных цитокинов и вызывает пироптоз клеток [66]. Секретированный в межклеточное

пространство IL-1β рекрутирует нейтрофилы, макрофаги и цитотоксические Т-клетки в место воспаления, которым в случае SARS-CoV являются нижние дыхательные пути, где накапливаются продукты разрушения вирусом альвеолярных клеток [21].

Отмечено, что низковирулентные вирусы CoV чаще локализуются в верхних дыхательных путях и практически не опускаются на уровень альвеол. Как следствие, это сопровождается легким течением заболевания и минимальной симптоматикой, а нередко и полным отсутствием таковой [9]. Иная картина развивается при инфицировании высоковирулентным штаммом SARS-CoV или MERS-CoV, которые связываются с альвеолярными клетками. В этом случае нейтрофилы и цитотоксические Т-клетки совместно с секретированными цитокинами и хемокинами могут способствовать повреждению легочной ткани, развитию местного отека и тяжелой пневмонии с исходом в фиброз легких. Вероятность подобного исхода увеличивается с возрастом [28, 31]. Показано, что развитие тяжелых повреждений в нижних дыхательных путях может сопровождаться неконтролируемой секрецией провоспалительных цитокинов и хемокинов, квалифицируемой как цитокиновый штурм [11].

Таким образом, NLRP3-инфламмасома является ключевым звеном патогенеза, что делает ее возможным объектом терапевтических манипуляций. Как уже было указано выше, одним из возможных активаторов NLRP3-инфламмасомы являются АФК, генерируемые в при повреждения лизосом, митохондрий и вследствие других процессов [69].

Одним из широко известных антиоксидантов, способных связывать АФК, подавляя таким образом провоспалительное действие вирусов, является аскорбиновая кислота, известная как витамин С [33]. В этой связи логично предположить, что применение антиоксидантов, может оказать аттенуирующее действие как на процессы активации и функционирования NLRP3-инфламмасомы, так и в целом на течение острого воспалительного процесса вирусного происхождения. Правомерность подобной гипотезы подтверждают данные о противовоспалительной активности антиоксидантов при ОРВИ, вызванных вирусами гриппа, респираторно-синцитиальным вирусом, а также вирусных и бактериальных пневмониях и других заболеваниях инфекционного генеза [8, 26, 27]. Известно, что тяжелые инфекции часто сопровождаются выраженной воспалительной реакцией, обусловленной в том числе повышенным потреблением аскорбиновой кислоты с последующей продукцией провоспалительных цитокинов, сопровождающей активацию NLP3-

инфламмасомы. Показано снижение интенсивности воспаления на фоне приема витамина С [4]. Вместе с тем влияние аскорбиновой кислоты не ограничивается только ее антиоксидантными свойствами. Показано также ее модулирующее действие на процессы активации NF- κ B и последующую экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как TNF α , IL-6 и др. [5]. Возможно, что истощение уровня витамина С у пожилых пациентов на фоне пневмонии CoV может оказаться причиной утяжеления патологического процесса и наступления фатального исхода. К сожалению,енным образом данный вопрос не исследовался.

Другим фактором активации NLRP3-инфламмасомы является утечка ионов K $^{+}$ через формируемые CoV ионные каналы. В прямых экспериментах было показано, что внутриклеточное истощение K $^{+}$, действующее на NLRP3 или выше по регуляторному клеточному каскаду, является минимальным общим клеточным событием, которое необходимо и достаточно для активации воспаления NLRP3 [47]. Патофизиологический смысл этого процесса применительно к патогенезу CoV заключается в нарушении в клетке оптимального ионного баланса, что может быть вызвано структурными (E) и неструктурными (ORF 3a) белками CoV, формирующими ионные каналы, через которые происходит утечка ионов K $^{+}$, и, напротив, приток ионов Ca $^{2+}$ [12, 69]. В результате внутриклеточное ионное равновесие сдвигается в кислую зону, вследствие чего NLRP3 получает сигналы опасности и соответственно активируется [25]. Это свойство NLRP3-инфламмасомы открывает дополнительные возможности регуляции активности воспалительного ответа путем блокировки калиевых каналов, хотя эта, на первый взгляд, очевидная задача представляется совсем не простой, что обусловлено, с одной стороны, низкой специфичностью блокаторов K $^{+}$ каналов, а с другой, сравнительно высокой токсичностью кандидатных соединений [30]. К числу наиболее известных блокаторов K $^{+}$ каналов относятся производные адамантанов, противомалярийные и гипотензивные препараты [20, 43, 62]. В частности, противомалярийный препарат хлорокин и его производные были испытаны при терапии COVID-19 [19], а блокатор калиевых каналов и иммуномодулятор 2-бензилбензимидазола гидрохлорид используется в препарате Цитовир-3, применяемом при профилактике и ранней терапии гриппа и ОРВИ [2]. Таким образом, управляемая модуляция NLRP3-инфламмасомы представляет собой новое перспективное направление патогенетической терапии вирусных инфекций, в том числе и CoV, для которой особенно характерна гиперцитокинемия.

Цитокиновый профиль при SARS-CoV

Характерной особенностью иммунопатогенеза CoV является формирование воспалительного ответа, выраженность которого зависит, с одной стороны, от вирулентности возбудителя, а с другой, от иммунорезистентности хозяина. Как уже было отмечено, для низковирулентных штаммов таких, например, как CoV 229E, местом первичной фиксации служат клетки мерцательного эпителия верхних дыхательных путей. Результатом этого является развитие легких, порой бессимптомных инфекций [60]. Иная ситуация складывается в отношении высоковирулентных штаммов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 [52]. Патогенный вирус, достигая респираторного отдела легких, инфицирует пневмоциты II типа и индуцирует в очаге секрецию широкого пула провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, TNF α , CCL3, CCL5, CCL2 и CXCL10 в меньшей степени он активирует секрецию TNF и IL-6 и минимально — IFN α/β [10, 58]. Поскольку патогенные CoV активируют NLRP3-инфламмасому, это сопровождается секрецией пропироптотического фактора GSDMD, который вызывает пироптотическую гибель инфицированных клеток. В результате альвеола заполняется клеточным детритом, что рекрутирует в очаг нейтрофилы и моноциты/макрофаги, секретирующие провоспалительные цитокины (рис. 2, вклейка, с. IV). Существенную роль в этих процессах играет белок E оболочки SARS-CoV [21].

По мере развития патологического процесса мигрировавшие в очаг и инфицированные SARS-CoV макрофаги демонстрировали повышение уровней IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α и широкого спектра хемокинов: CCL3, CCL5, CCL2 и CXCL10 [11, 13, 34, 52]. Одновременно с этим наблюдалась активная секреция IFN α . Однако в этом случае IFN α способствовал усилинию патологического процесса, как это было установлено у больных MERS-CoV [10]. При сравнительном обследовании пациентов с тяжелой степенью заболевания были отмечены повышенные уровни сывороточных провоспалительных цитокинов (IL-6, IFN α) и хемокинов (IL-8, CXCL10 и CCL5) по сравнению с уровнями упомянутых цитокинов у пациентов с легким и умеренным течением заболевания [33]. Высокие уровни цитокинов и хемокинов у пациентов MERS-CoV коррелировали с увеличением количества нейтрофилов и моноцитов в легких и периферической крови, что свидетельствует об их важной роли в патогенезе CoV инфекций [63].

Таким образом, репликация CoV сопровождается интенсивной цитокиновой реакцией,

которая нередко приобретает характер цитокинового шторма, что проявляется, с одной стороны, некоторым снижением вирусной нагрузки, а с другой — постепенным нарастанием признаков дыхательной недостаточности, вызванной накоплением клеточного детрита, отеком легких и образованием гиалиновых мембран, затрудняющих дыхание (рис. 2, вклейка, с. IV) [21]. Все это, вместе взятое, приобретает неконтролируемый характер, и применение искусственной вентиляции легких с интенсивной антигипоксической терапией уже не спасает ситуацию, поскольку в случае быстрого прогрессирования инфекции к дыхательной недостаточности присоединяется почечная недостаточность, и все это протекает на фоне тяжелого цитокинового шторма с явлениями апоптоза, гибелю эндотелиоцитов и сосудистой утечкой, накоплением избыточно активированных макрофагов,нейтрофилов и фибробластов, фиброзом интерстициального и альвеолярного пространства и закономерным развитием ОРДС, являющегося основной причиной смерти больных с тяжелым острым респираторным синдромом [7, 11, 70].

Интерфероны

Реакция врожденного иммунитета на внедрение патогенного возбудителя посредством выработки эндогенных IFN представляет собой наиболее быстрый и универсальный механизм защиты от большинства вирусов. При этом наиболее полно исследованы противовирусные свойства IFN I типа, включающие IFN α и IFN β . Всего существует минимум 12 подтипов IFN α и один IFN β [42]. Паттерн экспрессии конкретного IFN в основном зависит от типа клеток, вовлеченных в патологический процесс. К числу производителей IFN β относятся эпителиальные клетки и фибробlastы, которые экспрессируют его на раннем этапе инфекционного процесса. В отличие от этого, IFN α экспрессируется на более позднем этапе инфекции другими типами клеток, за исключением дендритных клеток, экспрессирующих IFN α с самого начала инфекционного процесса [18, 61].

Существует несколько альтернативных путей синтеза IFN (рис. 1, вклейка, с. III):

I — эндосомальный, когда вирус, транспортированный эпимембранным рецептором в эндосому, высвобождает РНК, которая распознается TLR3/7/8. При этом сигнал по нисходящим путям трансдуцируется до IRF3/7, которые при этом фосфорилируются и мигрируют в ядро. Функционируя как факторы инициации трансляции, они запускают выработку и секрецию IFN α/β ;

II — цитоплазматический, при котором вирус проникает в клетку посредством пиноци-

тоза, после чего происходит высвобождение РНК, распознавание ее RIG-1-подобными рецепторами (RLR), также переносящими сигнал на IRF3/7 по другому сигнальному маршруту.

Перечисленные пути реализуются большинством вирусов, однако для некоторых из них, таких как SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2, выявлен ряд особенностей, касающихся количественных характеристик, временных параметров и последовательности синтеза IFN. Показано, в частности, что инфекция MERS-CoV слабо индуцирует IFN α/β как в экспериментальных моделях, так и у больных [40]. В значительной степени это вызвано наличием у патогенных CoV многокомпонентной системы подавления экспрессии и секреции IFN I типа [40, 61]. Установлено, что эту систему образуют как структурные белки (E, M, N), так и неструктурные (ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF9) [40, 49, 68]. Были описаны разнообразные механизмы подавления интерфероногенеза. Так, например, белки N, ORF3b и ORF6 способны подавлять активацию IRF3, а ORF7a ингибирует синтез клеточного белка [35]. Интересно, что *in vitro* химерный вирус, в котором отсутствовали гены ORF3ab, 4a, 4b и 5, показал усиленный ответ IFN типа I и III [45]. Эти данные свидетельствуют о том, что коронавирус использует многочисленные механизмы подавления интерфероногенеза и уклонения от иммунного ответа. Часть из них суммирована в таблице.

Сведения, представленные в таблице, ни в коем случае не являются исчерпывающими. Мы обобщили часть из них только с целью иллюстрации использования CoV сложной многокомпонентной системы факторов патогенности, применяемых вирусом для защиты от врожденного иммунитета хозяина. Следует также отметить, что важным фактором патогенеза может быть отсроченная продукция IFN, обусловленная перечисленными выше факторами.

На более позднем этапе инфекции, синтез IFN I типа все же запускается, однако в этом случае IFN I реализует уже не столько защитную, сколько повреждающую функцию. Показано, что отсроченный синтез IFN I может сопровождаться накоплением патогенных воспалительных мононуклеаров, повышением уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов в нижних дыхательных путях, формированием локального или генерализованного отека легких и, наконец, нарушениями противовирусных Т-клеточных ответов [10]. Из сказанного следует, что практикуемое в клинической практике применение с терапевтической целью IFN и их индукторов, применительно к патогенным CoV может оказаться приемом далеко не безобидным. Не вызывает сомнений и хорошо доказана терапевтическая эффектив-

ность применения IFN I типа в раннем периоде инфекции на 1–2 сутки манифестации. В этот период чаще всего наблюдается задержка синтеза эндогенного IFN с одновременной активной репликацией вирулентного CoV. Введение экзогенного IFN может существенно снизить уровень репликации вируса и, соответственно, уменьшить тяжесть формируемого воспалительного ответа или предотвратить его совсем [10]. Назначение индукторов IFN в этом периоде, скорее всего, никакого терапевтического результата иметь не будет.

Отсроченное применение препаратов коммерческого IFN в фазе манифестации заболевания может иметь неблагоприятные последствия, поскольку в этом случае, как уже было сказано выше, введение IFN, скорее всего, не окажет терапевтического эффекта, но может принести существенный вред в виде активации воспалительной реакции и послужить пусковым сигналом для формирования цитокинового шторма [11]. Кроме того, по приведенным выше соображениям, в этом периоде инфекционного процесса явно не показано применение каких-либо индукторов эндогенного интерферона в связи с угрозой усиления инфекционного процесса и риском развития осложнений, среди которых наиболее серьезным является ОРДС. В этой связи вызывает недоумение предлагаемое некоторыми авторами использование в качестве фармакологических средств препаратов госспипола (кагоцел), а тем более гомеопатических средств (анаферон, эргоферон) [1].

Таким образом, IFN играют ключевую роль в патогенезе CoV, во многом определяя ее течение и исход. С другой стороны, сам вирус в процессе эволюции выработал множество разнообразных стратегий уклонения от факторов врожденного иммунитета. В этой связи при разработке тактики терапии инфекций, вызываемых патогенными CoV, следует стремиться не только к подавлению репликации вируса, но и уменьшению тяжести воспаления.

Заключение

С момента появления первого патогенного CoV, послужившего этиологической причиной SARS, прошло почти 20 лет. За это время человечество пережило вспышку MERS-CoV и на момент написания статьи переживает третью вспышку — SARS-CoV-2 инфекции, объявленную ВОЗ пандемией планетарного масштаба. Как могло получиться, что практически безвредные для человека CoV эволюционировали до высокопатогенных вирусов? Точного ответа на этот вопрос скорее всего никто так и не получит, однако совершенно очевидно, что эволюция вируса в определенном отношении связана с уси-

Таблица. Влияние основных и акцессорных белков CoV на некоторые функции врожденного иммунитета [49, 50, 68]

Table. The effect of CoV basic and accessory proteins on some functions of innate immunity [49, 50, 68]

Белок CoV CoV protein	Влияние на врожденный иммунитет Effects on innate immunity
3a	NF-κB↑, JNK↑, IL-8↑, RANTES↑, NLRP3-инфламмасома↑, апоптоз↑, клеточный арест NF-κB↑, JNK↑, IL-8↑, RANTES↑, NLRP3 inflammasome↑, apoptosis↑, cell arrest
3b	IFN I типа↓, апоптоз↑, арест клеточного цикла Type I IFN ↓, apoptosis↑, cell arrest
6	IFN I типа↓ Type I IFN
7a	NF-κB↑, JNK↑, p38 MAP киназа↑, трансляция сигнала↓, апоптоз↓, арест клеточного цикла NF-κB↑, JNK↑, p38 MAP kinase↑, signal translation↓, apoptosis↓, cell arrest
7b	Функция неизвестна Function unknown
8a	Апоптоз↑ Apoptosis↑
8b	Репликация вируса↓ Virus replication↓
9b	IFN↓

лением его патогенности для человека. Хорошо известно, что местом фиксации слабопатогенного вируса служат цилиарные клетки бронхиальных путей, способ, при котором наблюдаются слабые респираторные симптомы, типичные для ОРВИ. Напротив, высокопатогенные штаммы CoV фиксируются уже в альвеолах на пневмоцитах II типа, что сопровождается формированием целого ряда патологических процессов, приводящих к развитию острой дыхательной недостаточности и исходом в ОРДС. В основе указанных процессов лежит широкий спектр воспалительных явлений от гибели пневмоцитов, миграции в очаг активированных макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов, до активации апоптоза, пироптоза и сосудистой утечки. Закономерным исходом этого процесса будет массивная секреция провоспалительных цитокинов, гиалинизация альвеолярных стенок и интерстиция, локальный или генерализованный отек легких. Стремительное развитие перечисленных событий связано с многочисленными факторами иммунодепрессии, секретируемыми реплицирующимся патогенным вирусом. Как уже сказано выше, вирус способен на ранней стадии патологического процесса ингибировать синтез IFN, обеспечивая себе оптимальную скорость репликации. Одновременно не-

структурные белки вируса активируют NLRP3-инфламмасому и связанное с этим созревание IL-1, IL-18, пироптотического фактора GSDMD. На более поздней фазе развития инфекции организм хозяина все-таки начинает секретировать IFN α , однако это только усугубляет ситуацию, поскольку секретированный цитокин не только не защищает организм от инфекции, но, напротив может, усилить патологический процесс.

Таким образом, сформировавшиеся за последние 20 лет патогенные штаммы CoV, приобрели или усилили множество факторов патогенности, определяющих тяжесть течения инфекционного процесса. В этой связи поиск новых эффективных средств терапии CoV и разработка эффективных вакцин представляет собой важнейшее направление современных исследований коронавирусной инфекции человека.

Список литературы/References

1. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Миронов А.Ю., Забозлаев Ф.Г. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Москва, 2020. 48 с. [Nikiforov V.V., Suranova T.G., Mironov A.Yu., Zabozlaev F.G. New coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention. Moscow, 2020. 48 p. (In Russ.)]
2. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Петленко С.В. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ. СПб.: Гиппократ, 2020. 336 с. [Smirnov V.S., Zarubaev V.V., Petlenko S.V. Biology of pathogens and control of influenza and acute respiratory viral infection. St. Petersburg: Hippocrates, 2020. 336 c. (In Russ.)]
3. Amer H.M. Bovine-like Coronaviruses in domestic and wild ruminants Anim. *Health Res. Rev.*, 2018, vol. 19, no. 2, pp. 113–124. doi: 10.1017/S1466252318000117
4. Ang A., Pullar J.M., Currie M.J., Vissers M.C.M. Vitamin C and immune cell function in inflammation and cancer. *Biochem. Soc. Trans.*, 2018, vol. 46, no. 5, pp. 1147–1159. doi: 10.1042/BST20180169
5. Bowie A.G., O'Neill L.A.J. Vitamin C inhibits NF-κB activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, pp. 7180–7188. doi: 10.4049/jimmunol.165.12.7180
6. Broz P., Dixit V.M. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signal-ling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, vol. 16, pp. 407–420. doi: 10.1038/nri.2016.58
7. Cameron M.J., Bermejo-Martin J.F., Danesh A., Muller M.P., Kelvin D.J. Human Immunopatho-genesis of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). *Virus Res.*, 2008, vol. 133, no. 1, pp. 13–19. doi: 10.1016/j.virusres.2007.02.014
8. Carr A.C., Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 2017, vol. 9, no. 11, p. 1211. doi: 10.3390/nu9111211
9. Channappanavar R., Fehr A.R., Vijay R., Mack M., Zhao J., Meyerholz D.K., S. Perlman. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell. Host. Microbe*, 2016, vol. 19, no. 2, pp. 181–193. doi: 10.1016/j.chom.2016.01.007
10. Channappanavar R., Fehr A.R., Zheng J., Wohlford-Lenane C., Abrahante J.E., Mack M., Sompallae R., McCray P.B. Jr, Meyerholz D.K., Perlman S. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J. Clin. Invest.*, 2019, vol. 129, no. 9, pp. 625–3639. doi: 10.1172/JCII26363
11. Channappanavar R. Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and con-sequences of cytokine storm and im-munopathology. *Semin. Immunopathol.*, 2017, vol. 39, pp. 529–539. doi: 10.1007/s00281-017-0629
12. Chen I-Y., Moriyama M., Chang M.-F., Ichinohe T. Severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporin 3a activates the NLRP3 inflammasome. *Front. Microbiol.*, 2019, vol. 10, p. 50. doi: 10.3389/fmicb.2019.00050
13. Chien J.-Y., Hsueh P.-R., Cheng W.-C., Yu C.-J., Yang P.-C. Temporal changes in cytokine/ chemokine profiles and pul-monary involvement in severe acute respiratory syndrome. *Respirology*, 2006, vol. 11, no. 6, pp. 715–722. doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00942.x
14. Cong Y., Hart B. J., Gross R., Zhou H., Frieman M., Bollinger L., Wada J., Hensley L.E., Jahrling P.B., Dyall J., Holbrook M.R. MERS-CoV pathogenesis and antiviral efficacy of licensed drugs in human monocyte-derived antigen-presenting cells. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 3, pp. e0194868. doi: 10.1371/journal.pone.0194868
15. Cui J., Li F., Shi Z.-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2019 vol. 17, pp. 181–192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9
16. DeDiego M.L., Nieto-Torres J.L. Jimenez-Guardeño J.M., Regla-Nava J.A., Castaño-Rodriguez C., Fernandez-Delgado R., Usera F., Enjuanes L. Coronavirus virulence genes with main focus on SARS-CoV envelope gene. *Virus Res.*, 2014, vol. 19, no. 194, pp. 124–137. doi: 10.1016/j.virusres.2014.07.024
17. Drosten C., Günther S., Preiser W., van der Werf S., Brodt H.-R., Becker S., Rabenau H., Pan-ning M., Kolesnikova L., Fouchier R.A.M., Berger A., Burguière A.-M., Cinatl J., Eickmann M., Escriou N., Grywna K., Kramme S., Manuguerra J.-C., Müller S., Rickerts V., Stürmer M., Vieth S., Klenk H.-D., Osterhaus A.D.M.E., Schmitz H., Doerr H.W. Identification of a nov-el corona-virus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 348, no. 20, pp. 1967–1976. doi: 10.1056/NEJMoa030747
18. Feng B., Zhang Q., Wang J., Dong H., Mu X., Hu G., Zhang T. IFIT1 expression patterns induced by H9N2 virus and inactivated viral particle in human umbilical vein endothelial cells and bronchus epithelial cells. *Mol. Cells*, 2018, vol. 41, no. 4, pp. 271–281. doi: 10.14348/molcells.2018.2091
19. Gao J., Tian Z., Yang X. Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci. Trends.*, 2020, vol. 14, no. 1, pp. 72–73. doi: 10.5582/bst.2020.01047
20. Grainger J., Boachie-Ansah G. Anandamide-induced relaxation of sheep coronary arter-ies: the role of the vascular endothe-lium, arachidonic acid metabolites and potassium channels. *Br. J. Pharmacol.*, 2001, vol. 134, no. 5, pp. 1003–1012. doi: 10.1038/sj.bjp.0704340
21. Gralinski L.E., Bankhead III A., Jeng S., Menachery V.D., Proll S., Belisle S.E., Matzke M., Webb-Robertson B.-J.M., Luna M.L., Shukla A.K., Ferris M.T., Bolles M., Chang J., Aicher L., Waters K.M., Smith R.D., Metz T.O., Law G.L., Katze M.G.,

- McWeeney S., Baric R.S. Mechanisms of severe acute respiratory syndrome coronavirus-induced acute lung injury. *mBio.*, 2013, vol. 4, no 4: e00271-13. doi: 10.1128/mBio.00271-13
22. Gralinski L.E., Baric R.S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J. Pathol.*, 2015, vol. 235, no. 2, pp. 185–195. doi: 10.1002/path.4454.
 23. Guo H., Callaway J.B., Ting J.P.-Y. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.*, 2015, vol. 21, no. 7, pp. 677–687. doi: 10.1038/nm.3893
 24. Guo Y.-R., Cao Q.-D., Hong Z.-S., Tan Y.-Y., Chen S.-D., Jin H.-J., K.-S. Tan, Wang D.-Y., Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Mil. Med. Res.*, 2020, vol. 7, no. 1, p 11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0
 25. He Y., Hara H., Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends Biochem. Sci.*, 2016, vol. 4, no. 12, pp. 1012–1021 doi: 10.1016/j.tibs.2016.09.002
 26. Hemilä H. Vitamin C and Infections. *Nutrients*, 2017, vol. 9, no. 4, p. 339. doi: 10.3390/nu9040339.
 27. Hemilä H., Chalker E. Vitamin C for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2013, no. 1: CD000980. doi: 10.1002/14651858.CD000980.pub4
 28. Hendrickson C.M., Matthay M.A. Viral pathogens and acute lung injury: investigations inspired by the SARS epidemic and the 2009 H1N1 influenza pandemic. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2013, vol. 34, no. 4, pp. 475–486. doi: 10.1055/s-0033-1351122.
 29. Hornung V., Latz E. Critical functions of priming and lysosomal damage for NLRP3 activation. *Eur. J. Immunol.*, 2010, vol. 40, pp. 20–623. doi: 10.1002/eji.200940185.
 30. Humphries E.S.A., Dart C. Neuronal and cardiovascular potassium channels as therapeutic drug targets. *J. Biomol. Screen.*, 2015, vol. 20, no. 9, pp. 1055–1073. doi: 10.1177/1087057115601677
 31. Ishiguro T., Kobayashi Y., Uozumi R., Takata N., Takaku Y., Kagiya N., Kanauchi T., Shimizu Y., Takayanagi N. Viral pneumonia requiring differentiation from acute and progressive diffuse interstitial lung diseases. *Intern. Med.*, 2019, vol. 58, no. 24, pp. 3509–3519. doi: 10.2169/internalmedicine.2696-19
 32. Jacobs S.R., Damania B. NLRs, inflammasomes, and viral infection. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, vol. 92, no. 3, pp. 469–477. doi: 10.1189/jlb.0312132
 33. Khomich O.A., Kochetkov S.N., Bartosch B., Ivano A.V. Redox biology of respiratory viral infections. *Viruses*, 2018, vol. 10, no. 8, pp. 392. doi: 10.3390/v10080392.
 34. Kim E.S., Choe P.G., Park W.B., Oh H.S., Kim E.J., Nam E.Y., Na S.H., Kim M., Song K.H., Bang J.H., Park S.W., Kim H.B., Kim N.J., Oh M.D. Clinical progression and cytokine profiles of middle east respiratory syndrome coronavirus infection. *J. Korean Med. Sci.*, 2016, vol. 31, no. 11, pp. 1717–1725. doi: 10.3346/jkms.2016.31.11.1717
 35. Kopecky-Bromberg S.A., Martinez-Sobrido L., Frieman M., Baric R.A., Palese P. Severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading frame (ORF) 3b, ORF 6, and nucleocapsid proteins function as interferon antagonists. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 2, pp. 548–557. doi: 10.1128/JVI.01782-06.
 36. Kuhn J.H., Li W., Choe H., Farzan M. Angiotensin-converting enzyme 2: a functional receptor for SARS coronavirus. *Cell Mol. Life Sci.*, 2004, vol. 61, no. 21, pp. 2738–43. doi: 10.1007/s00018-004-4242-5
 37. Latz E., Xiao T.S., Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 13, pp. 397–411. doi: 10.1038/nri3452
 38. Li G., Fan Y., Lai Y., Han T., Li Z., Zhou P., Pan P., Wang W., Hu D., Liu X., Zhang Q., Wu J. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, pp. 424–432. doi: 10.1002/jmv.25685
 39. Li S., Yuan L., Dai G., Chen R.A., Liu D.X., Fung T.S. Regulation of the ER stress response by the ion channel activity of the infectious bronchitis coronavirus envelope protein modulates virion release, apoptosis, viral fitness, and pathogenesis. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 10, p. 322. doi: 10.3389/fmicb.2019.03022
 40. Lui P.-Y., Wong L.-Y. R., Fung C.-L., Siu K.-L., Yeung M.-L., Yuen K.-S., Chan C.-P., Woo P.C.-Y., Yuen K.-Y., Jin D.-Y. Middle East respiratory syndrome corona-virus M protein suppresses type I interferon expression through the inhibition of TBK1-dependent phosphorylation of IRF3. *Emerg. Microbes Infect.*, 2016, vol. 5, no. 4: e39. doi: 10.1038/emi.2016.33
 41. Mackay I.M., Arden K.E. MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virol. J.*, 2015, vol. 12, p. 222. doi: 10.1186/s12985-015-0439-5
 42. Markušić M., Šantak M., Košutić-Gulija T., Jergović M., Jug R., Forčić D. Induction of IFN- α subtypes and their antiviral activity in mumps virus infection. *Viral Immunol.*, 2014, vol. 27, no. 10, pp. 497–505. doi: 10.1089/vim.2014.0028
 43. Marmolejo-Murillo L.G., Aréchiga-Figueroa I.A., Cui M., Moreno-Galindo E.G., Navarro-Polanco R.A., Sánchez-Chapula J.A., Ferrer T., Rodríguez-Menchaca A.A. Inhibition of Kir4.1 potassium channels by quinacrine. *Brain Res.*, 2017, vol. 1663, pp. 87–94. doi: 10.1016/j.brainres.2017.03.009
 44. Martín-Vicente M., Medrano L.M., Resino S., García-Sastre A., Martínez I. TRIM25 in the regulation of the antiviral innate immunity. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8, p. 1187. doi: 10.3389/fimmu.2017.01187
 45. Menachery V.D., Mitchell H.D., Cockrell A.S., Gralinski L.E., Yount B.L. Jr, Graham R.L., McAnarney E.T., Douglas M.G., Scobey T., Beall A., Dinnon 3rd K., Kocher J.F., Hale A.E., Stratton K.G., Waters K.M., Baric R.S. MERS-CoV accessory ORFs play key role for infection and pathogenesis. *mBio*, 2017, vol. 8, no. 4. doi: 10.1128/mBio.00665-17
 46. Mubarak A., Alturaikiand W., Hemida M.G. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): infection, immunological response, and vaccine development. *J. Immunol. Res.*, 2019, p. 6491738. doi: 10.1155/2019/6491738.
 47. Muñoz-Planillo R., Kuffa P., Martínez-Colón G., Smith B.L., Rajendiran T.M., Núñez G. K⁺ efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate. *Matter. Immunity*, 2013, vol. 38, no. 6, pp. 1142–1153. doi: 10.1016/j.immuni.2013.05.016
 48. Murakami T., Ockinger J., Yu J., Byles V., McColl A., Hofer A.M., Horng T. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, pp. 11282–11287. doi: 10.1073/pnas.1117765109
 49. Narayanan K., Huang C., Makino S. SARS coronavirus accessory proteins. *Virus Res.*, 2008, vol. 133, no. 1, pp. 113–121. doi: 10.1016/j.virusres.2007.10.009
 50. Nelemans T., Kikkert M. Viral Innate immune evasion and the pathogenesis of emerging RNA virus infections. *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 10, p. 961. doi: 10.3390/v11100961

51. Nieto-Torres J. L., Verdiá-Báguena C., Jimenez-Guardeño J.M., Regla-Nava J.A., Castaño-Rodriguez C., Fernandez-Delgado R., Torres J., Aguilella V.M., Enjuanes L. Severe acute respiratory syndrome coronavirus e protein transports calcium ions and activates the NLRP3 inflammasome. *Virology*, 2015, vol. 485, pp. 330–339. doi: 10.1016/j.virol.2015.08.010
52. Prompetchara E., Ketloy C., Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2020, vol. 38, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.12932/AP-200220-0772
53. Rathinam V.A.K., Chan F.K.-M. Inflammasome, inflammation and tissue homeostasis. *Trends. Mol. Med.*, 2018, vol. 24, no. 3, pp. 304–318. doi: 10.1016/j.molmed.2018.01.004
54. Shi C.-S., Qi H.-Y., Boularan C., Huang N.-N., Abu-Asab M., Shelhamer J.H., Kehrl J.H. SARS-CoV ORF9b suppresses innate immunity by targeting mitochondria and the MAVS/TRAF3/TRAF6 signalosome. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, no. 6, pp. 3080–3089. doi: 10.4049/jimmunol.1303196
55. Shokri S., Mahmoudvand S., Taherkhani R., Farshadpour F. Modulation of the immune response by middle east respiratory syndrome coronavirus. *J. Cell. Physiol.*, 2019, vol. 234, no. 3, pp. 2143–2151. doi: 10.1002/jcp.27155
56. Silva da Costa L., Outlioua A., Anginot A., Akarid K., Arnoult D. RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through cytopathogenic effect-induced potassium efflux. *Cell Death Dis.*, 2019, vol. 10, no. 5, p. 346. doi: 10.1038/s41419-019-1579-0
57. Simmons G., Zmora P., Gierer S., Heurich A., Pöhlmann S.. Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: Cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. *Antiviral Res.*, 2013, vol. 100, no. 3, pp. 605–614. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.09.028
58. Singhal T.A Review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J. Pediatr.*, 2020, vol. 87, no. 4, pp. 281–286. doi: 10.1007/s12098-020-03263-6
59. Song Z., Xu Y., Bao L., Zhang L., Yu P., Qu Y., Zhu H., Zhao W., Han Y., Qin C. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses.*, 2019, vol. 11, no. 1: 59. doi: 10.3390/v11010059
60. Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J., Liu W., Bi Y., Gao G.F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.*, 2016, vol. 24, no. 6, pp. 490–502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003
61. Thiel V., Weber F. Interferon and cytokine responses to SARS-coronavirus infection. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2008, vol. 19, no. 2, pp. 121–132 doi:10.1016/j.cytofr.2008.01.001
62. Tykocki N.R., Boerman E.M., Jackson W.F. Smooth muscle ion channels and regulation of vascular tone in resistance arteries and arterioles. *Compr. Physiol.*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 485–581. doi: 10.1002/cphy.c160011
63. Tynell J., Westenius V., Rönkkö E., Munster V.J., Melén K., Österlund P., Julkunen I. Middle East respiratory syndrome coronavirus shows poor replication but significant induction of antiviral responses in human monocyte-derived macrophages and dendritic cells. *J. Gen. Virol.*, 2016, vol. 97, no. 2, pp. 344–355. doi: 10.1099/jgv.0.000351
64. Van der Meer Y., van Tol H., Locker J.K., Snijder E.J. ORF1a-encoded replicase subunits are involved in the membrane association of the arterivirus replication complex. *J. Virol.*, 1998, vol. 72, no. 8, pp. 6689–6698. PMID: 9658116
65. Wang K., Chen W., Zhou Y.-S., Lian J.-Q., Zhang Z., Du P., Gong L., Zhang Y., Cui H.-Y., Geng J.-J., Wang B., Sun X.-X., Wang C.-F., Yang X., Lin P., Deng Y.-Q., Wei D., Yang X.-M., Zhu Y.-M., Zhang K., Zheng Z.-H., Miao J.-L., Guo T., Shi Y., Zhang J., Fu L., Wang Q.-Y., Bian H., Zhu P., Chen Z.-N. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *Preprint*, 2020. doi: 10.1101/2020.03.14.988345
66. Wang Y., Shi P., Chen Q., Huang Z., Zou D., Zhang J., Gao X., Lin Z. Mitochondrial ROS promote macrophage pyroptosis by inducing GSDMD oxidation. *J. Mol. Cell Biol.*, 2019, vol. 11, no. 12, pp. 1069–1082. doi: 10.1093/jmcb/mjz020
67. Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., Zhong W., Hao P. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci. China Life Sci.*, 2020, vol. 63, no. 3, pp. 457–460. doi: 10.1007/s11427-020-1637-5
68. Yue Y., Nabar N. R., Shi C.-S., Kamenyeva O., Xiao X., Hwang I.-Y., Wang M., Kehrl J.H. SARS-coronavirus open reading frame-3a drives multimodal necrotic cell death. *Cell Death Dis.*, 2018, vol. 9, no. 9, p. 904. doi: 10.1038/s41419-018-0917-y
69. Zhao C., Zhao W. NLRP3 Inflammasome — a key player in antiviral responses. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11, p. 211. doi: 10.3389/fimmu.2020.00211
70. Zumla A., Chan J.F.W., Azhar E.I. Coronaviruses — drug discovery and therapeutic options. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2016, vol. 15, no. 5, pp. 327–347. doi: 10.1038/nrd.2015.37

Авторы:

Смирнов В.С., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия, главный научный сотрудник АО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия;

Тотолян Арг А., академик РАН, д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Smirnov V.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head Researcher, JSC MBSPC "Cytomed", St. Petersburg, Russian Federation;

Totolian Areg A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЕ ИММУННЫЕ ОТВЕТЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

А.П. Топтыгина^{1,2}

¹ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

²ФГБО УВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Резюме. Иммунологическая память и толерантность являются главными достижениями и преимуществами адаптивного иммунитета. Организмы, обладающие адаптивным иммунитетом, имеют серьезные конкурентные преимущества в борьбе с инфекциями. Клетки иммунологической памяти сохраняются десятилетиями и способны отразить повторную атаку инфекционного агента. Однако исследования XXI века показали, что клетки памяти способны быстро и эффективно уничтожать даже неродственные патогены. Такой тип ответа называют гетерологичным. Гетерологические иммунные ответы наиболее типичны для вирусных инфекций и других внутриклеточных инфекций, где ведущую роль в защите организма играют Т-клетки. В обзоре рассмотрены различные механизмы, вовлеченные в реализацию Т-клеточной кросс-реактивности, описаны молекулярные предпосылки для гетерологических ответов Т-клеток. Также обсуждаются экспериментальные подтверждения способности Т-клеток памяти к гетерологическим иммунным ответам на мышиных моделях и при инфекциях у человека. Гетерологические иммунные ответы являются важной составляющей иммунитета у взрослых и пожилых, когда в результате инволюции тимуса снижается выход наивных клеток на периферию. Наряду с очевидными преимуществами, гетерологические иммунные ответы приводят к перекосам в репертуаре Т-клеток памяти, замене иммунодоминантных эпитопов на мажорные, что позволяет вирусам ускользнуть от иммунного ответа, приводя к персистенции вируса, или, напротив, к фульминантным формам инфекции. Другая опасность гетерологического иммунного ответа — это случайное распознавание аутоэпипотопа в результате смены доминантного репертуара распознаваемых эпипотопов, что может приводить к развитию аутоиммунной патологии. Также гетерологический иммунитет может нарушать индуцируемую медикаментозно толерантность при пересадках органов и тканей и приводить к отторжению трансплантата. Следует учитывать особенности гетерологических иммунных ответов при разработке новых вакцин и применении их, особенно у взрослых и пожилых людей.

Ключевые слова: гетерологичный иммунитет, кросс-реактивность Т-клеток, Т-клетки памяти, вирусные инфекции, иммунопатогенез.

HETEROLOGOUS IMMUNE RESPONSES IN HEALTH AND DISEASE

Toptygina A.P.^{a,b}

^aG.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^bLomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Immunological memory and tolerance represent major achievements and advantages of adaptive immunity. Organisms bearing adaptive immunity display prominent competitive advantages in the fight against infections. Memory

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского.
Тел.: +8 (495) 452-18-01 (служебн.). Факс: +8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Contacts:

Anna P. Toptygina
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 (495) 452-18-01 (office). Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Библиографическое описание:

Топтыгина А.П. Гетерологичные иммунные ответы в норме и при патологии // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 269–276. doi: 10.15789/2220-7619-HIR-1292

Citation:

Toptygina A.P. Heterologous immune responses in health and disease // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 269–276. doi: 10.15789/2220-7619-HIR-1292

© Топтыгина А.П., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HIR-1292>

immune cells are preserved for decades and are able to repel a second attack of an infectious agent. However, studies performed in the XXI century have shown that even unrelated pathogens may be quickly and effectively destroyed by memory cells. This type of response is called heterologous so that heterologous immune response is mainly typical to viral infections and other intracellular infections, where T-cells play a lead role in protection. This review will discuss various mechanisms involved in implementing T-cell cross-reactivity, describe molecular prerequisites for heterologous T-cell responses. Experimental evidence of memory T-cell potential to heterologous immune response in mouse models and in human infections are also discussed. Heterologous immune response is an important immune arm in adults and the elderly when the yield of naive cells to the periphery declines due to thymus involution. Along with obvious advantages, heterologous immune response leads to imbalanced memory T-cell repertoire, replacement of immunodominant epitopes with minor ones allowing viruses to evade immune response that results in virus persistence, or, conversely, fulminant infection course. Another threat of heterologous immune response due to switch in dominant repertoire of recognizable epitopes is presented by random self-epitope recognition, which can lead to development of autoimmune pathology. Heterologous immunity can also disrupt drug-induced tolerance in organ and tissue transplants and lead to graft rejection. Heterologous immune response should be taken into consideration while developing and using new vaccines, especially in adults and the elderly.

Key words: heterologous immunity, cross-reactive T cell, T-cell memory, viral infections, immunopathogenesis.

Введение

Исторически сложилось так, что иммунологию как науку создали микробиологи в XIX в., когда серьезную проблему составляли тяжелые острые инфекции, разрешавшиеся либо выздоровлением, либо смертью больного. Долгое время иммунология развивалась именно как инфекционная иммунология. Детально исследован первичный иммунный ответ на первую встречу с антигеном и на модельных животных, и у больных людей. Хорошо изучено формирование и поддержание иммунологической памяти и вторичный иммунный ответ на повторную встречу с антигеном. Тем не менее остаются некоторые вопросы. Например, почему взрослые болеют детскими инфекциями тяжелее, чем дети? Почему маленький ребенок идет в детский сад и часто болеет, через год-два болеет намного реже, а взрослые болеют существенно реже? Понятно, что маленький ребенок отвечает на каждую инфекцию первичным иммунным ответом, который развивается медленно, но не может же быть, чтобы за несколько лет он переболел всеми возможными инфекциями и сформировал на них соответствующие клетки памяти. Практические врачи говорят, что ребенок «перерастает», что это значит? Возможным ответом на эти вопросы является так называемый гетерологический иммунный ответ, когда иммунные клетки, сформированные на один патоген, отвечают на другой, неродственный патоген [9]. Данное явление описано для очень отдаленных таксонометрических единиц. Например, известно, что вакцина БЦЖ защищает мышей также и против осповакцины [22]. Гетерологическая иммунная защита может осуществляться как за счет врожденного иммунитета (хорошо теперь известный эффект тренированного иммунитета), так и за счет адаптивного

иммунитета. Так известно, что вакцина БЦЖ дает краткосрочную защиту от многих инфекций за счет активированных макрофагов (тренированный врожденный иммунитет) и длительную перекрестную защиту (адаптивный иммунитет) от *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus* и др. [5]. Не вполне понятно, часто ли иммунная защита осуществляется за счет гетерологичных ответов, является ли гетерологический иммунный ответ достаточной защитой от неродственной инфекции и не является ли гетерологический иммунный ответ причиной аутоиммунной патологии [7, 40]. Также интересно понять, за счет каких механизмов осуществляется эффект гетерологического иммунного ответа. Рассмотрению этих вопросов будет посвящен настоящий обзор.

Механизмы формирования гетерологичного иммунного ответа

Теоретически, кросс-реактивность Т-клеток может осуществляться за счет 4-х механизмов. Первый вариант: у двух неродственных вирусов может случайно оказаться одинаковый мотив — антигенный пептид, причем даже в неродственных белках, но поскольку Т-клетки распознают не белок, а пептид, такое совпадение может активировать Т-клетки памяти, сформированные на первый патоген, при попадании в организм второго патогена [19]. Другой вариант: наличие в организме хронической персистирующей инфекции, которая постоянно слегка активирует иммунитет, индуцируя продукцию соответствующих цитокинов, которые могут иметь прямое противовирусное действие или активировать врожденный иммунитет, например, макрофаги, на защиту против второй инфекции [3]. Третий механизм: эффект bystander,

Т-клетки памяти могут активироваться без контакта с антигеном в среде провоспалительных цитокинов, индуцированных предыдущей инфекцией [17]. И, наконец, четвертый механизм: распознавание аутоантигенов, выделяющихся из поврежденной ткани в среде провоспалительных цитокинов, особенно интерферонов I и II типов, под действием второго патогена. Тем не менее оказалось, что у кросс-реактивности Т-клеток есть еще одна причина.

Существовавшая ранее парадигма: один пептид — один клонотип Т-клеток оказалась не совсем корректной. Хорошо известно, что Т-клеточный рецептор (TCR) распознает антигенный пептид в 11 аминокислот в основном комплексе тканевой совместимости (МНС) II у CD4⁺ клеток и в 9 аминокислотных остатков в комплексе МНС I у CD8⁺ лимфоцитов. Исследование кристаллических структур таких комплексов показало, что, в основном, TCR расположен по диагонали комплекса МНС-пептид и большая часть взаимодействий направлена на распознавание МНС, а не пептида [46]. Теоретически, из 20 аминокислот можно составить 5×10^{11} антигенных пептидов по 9 аминокислотных остатков для CD8⁺ клеток и 2×10^{14} по 11 остатков для CD4⁺ клеток. Теоретически у мыши может быть 10^{15} вариантов TCR, а у человека и того больше, то есть все сходится. Но в реальности у мыши формируется 10^6 , а у человека 10^8 клонотипов [6, 25]. При этом из этого количества следует еще исключить аутопептиды самого человека, на которые не должно индуцироваться иммунного ответа. Подсчитано, что МНС I человека могут экспрессировать $2,5 \times 10^6$ собственных 9-мерных пептидов, а патогены способны реализовать 10^3 – 10^6 9-мерных пептидов [46]. Такой расклад означает, что каждый клон Т-клеток должен реагировать с более чем одним антигенным пептидом. При этом Т-клетки должны быстро и с высокой специфичностью распознавать пептиды патогенов и практически не реагировать на аутопептиды [44]. По-видимому при положительной и отрицательной селекции в тимусе исключаются аутореактивные клонсы, но не ограничивается количеством гетерологичных пептидов, распознаваемых одной и той же клеткой. Расчеты показывают, что каждый TCR может распознавать 10^5 – 10^6 вариантов пептидов [44]. Из вышесказанного следует, что на один антигенный пептид может отвечать несколько клонов Т-клеток. В эксперименте показано, что действительно, эпитоп-специфичный иммунный ответ состоит из нескольких сотен клонов Т-клеток [28]. Конечно, распознавание антигенного пептида TCR разных клонов имеет разный аффинитет, но, тем не менее, вероятность того, что Т-клетка, распознавшая один из пептидов

первого патогена, может также распознать один из эпитопов второго патогена резко повышается. Более того, клетки памяти, по ряду своих особенностей, более готовы к активации, чем наивные клетки [34].

На молекулярном уровне существует несколько механизмов, обеспечивающих кросс-реактивность Т-клеток. Так TCR обладает некоторой пластичностью за счет того, что Т-клетка сначала сложным образом связывается с МНС, а затем с более высокой аффинностью взаимодействует с пептидом. CDR3-область TCR, богатая глициновыми остатками, дающими большую подвижность, подвергается конформационным изменениям, что позволяет лучше распознавать разные комплексы МНС-пептид [20, 45]. Второй механизм — нарушение геометрии стыковки TCR—МНС-пептид. Показано, что TCR не всегда точно ориентирован относительно МНС, также возможна частичная дегенерация антигенного пептида (он может иметь не 9, а 8 остатков и лучше укладываться в щели МНС). Описаны также механизмы молекулярной мимикрии и гибкости в связывании пептида МНС [30, 48]. Более того, TCR может использовать комбинации этих молекулярных механизмов, что повышает вероятность вовлечения различных клонов Т-клеток в конкретный иммунный ответ, а следовательно, повышает вероятность гетерологичных ответов [30]. Важно, что TCR взаимодействует преимущественно с МНС и распознает далеко не все 9, или 11 остатков антигенного пептида. Обычно он взаимодействует с 2–4 аминокислотными остатками, тогда как другие участвуют в связывании с МНС [44, 46]. Эксперименты по замене аминокислот в антигennом пептиде на сходные показали, что можно биохимически заменить многие аминокислоты в пептиде без потери связывание с TCR [16]. Из этого следует, что для индукции гетерологичного иммунного ответа нет необходимости двум разным патогенам иметь гомологичные на 100% антигенные пептиды, достаточно, чтобы совпали ключевые аминокислотные остатки, а остальные не мешали распознаванию. Так, например, описан гетерологичный иммунный ответ между вирусом гепатита С и адено-вирусом, у которых пептид (133–147) core-белка и Ad5 пептид (770–784) имеют гомологию 53% [2].

Роль гетерологичных иммунных ответов в противоинфекционной защите

На мышиной модели было показано, что иммунизация животных БЦЖ, вирусом гриппа А (IAV), вирусом лимфоцитарного хориоменин-

гита (LCMV), мышиным цитомегаловирусом (MCMV) и Pichinde вирусом (PV) обеспечивало защиту от вируса осповакцины. Иммунизация животных LCMV, PV или MCMV защищает их от заражения двумя другими вирусами из этой тройки с разной степенью эффективности. Заражение IAV, несмотря на защиту от вируса осповакцины, делает мышей более восприимчивыми к LCMV и MCMV. А вирус осповакцины вообще никого ни от чего не защищает, кроме себя самого. Поскольку аналогичные эффекты были зарегистрированы как на мышах линии C57BL/6, имеющих H2b-гаплотип МНС, так и на линии BALB/c, несущих H2d-гаплотип, такой высокий уровень перекрестной защиты от этих очень разных микроорганизмов свидетельствует в пользу того, что гетерологичные иммунные ответы являются нормальной общей особенностью иммунореактивности [42]. Учитывая тот факт, что на каждый антигенный пептид может отвечать несколько клонов Т-клеток, нужно понимать, что не все эпитопы и не все клоны равны между собой по эффективности. Т-клеточные ответы на одни эпитопы высоки, а на другие низки. Такая иерархия обозначается термином «иммунодоминантность эпитопа» [47]. Эта иерархия достигается за счет эффективности процессинга вирусных белков и презентации пептидов в МНС дендритными клетками на начальной стадии иммунного ответа и наличия Т-клеток с высоким сродством их TCR к данному эпитопу. Иммунодоминантная иерархия эпитопов меняется в результате гетерологичного иммунного ответа, когда второй заражающий патоген кодирует эпитоп, перекрестно-реактивный с патогеном, который ранее заразил хозяина. Так, LCMV и PV относятся к ареновирусам и имеют перекрестно-реактивные эпитопы (оба называются NP205–212), имеющие 6 общих аминокислот из 8. При каждой из этих инфекций ответ на NP205 является субдоминантным, составляя 1–3% от всех ответивших CD8⁺ Т-клеток. В то же время при формировании гетерологичного иммунного ответа, ответ на NP205 становится доминирующим и составляет 15–30% от всех иммунных ответов CD8⁺. А те эпитопы, которые были доминантными при первичном иммунном ответе, становятся субдоминантными [4]. При вторичном иммунном ответе на тот же вирус отмечается незначительное сужение репертуара TCR, сформировавшегося после первичного иммунного ответа, но при гетерологичном иммунном ответе наблюдается очень сильное сужение репертуара, что приводит к олигоклональности иммунного ответа [11].

Гетерологический иммунитет, осуществляемый кросс-реактивными Т-клетками, по-видимому, является очень важным компонентом,

особенно у взрослых и пожилых организмов. У маленьких детей имеется высокий уровень наивных Т-клеток за счет активной работы тимуса и отсутствия большого количества клеток памяти, поэтому ребенок отвечает на инфекции преимущественно первичным иммунным ответом. Такой ответ развивается относительно медленно, а врожденный иммунитет в одночку не может справиться с серьезной инфекцией. Именно поэтому маленький ребенок болеет часто. Постепенно формируется существенный пул Т-клеток памяти. Одновременно с возрастом развивается физиологическая инволюция тимуса, что ограничивает поступление новых наивных клеток и снижает разнообразие клонотипов Т-клеток. Эти изменения могли бы привести к ситуации, в которой во взрослом или пожилом организме не нашлось бы ни соответствующих клеток памяти, ни наивных клеток, способных ответить на инфекцию. С другой стороны, борьба с новой инфекцией пулом перекрестно-реактивных Т-клеток была бы очень эффективной и быстрой. По-видимому, именно наличием гетерологичных иммунных ответов, в которые вовлечены клетки памяти, сформированные на другие патогены, и объясняется существенно меньшая заболеваемость инфекциями взрослых по сравнению с маленькими детьми [33]. С другой стороны, показанный на мышах эффект смены доминантных и субдоминантных эпитопов и формирование олигоклональности иммунного ответа могут играть злую шутку. При гетерологичном иммунном ответе могут формироваться не оптимальные в своей эффективности элиминации патогена Т-клеточные ответы, так как доминировать при таких ответах начинают субдоминантные перекрестные антигены. Это может приводить к ускользанию патогена из-под контроля иммунитета, формированию хронических, латентных форм заболевания и вирусоносительству [27]. Возможно, именно этим объясняется известный факт, что взрослые тяжелее болеют детскими инфекциями — быстрый гетерологичный иммунный ответ взрослого дает менее эффективную защиту в смысле клиренса вируса, чем медленный детский первичный иммунный ответ.

Исследования гетерологичных иммунных ответов у человека значительно сложнее, чем на модельных животных. Тем не менее накапливаются факты, свидетельствующие о том, что иммунизация против гриппа штаммом H1N1 обеспечивает некоторый уровень защиты и от штамма H2N2 [14]. Аналогичные данные были получены по гетерологичным иммунным ответам между H1N1 и H3N2 [18], H1N1 и H7N9 [39] и даже H1N1 и H5N1 [21]. Другой пример гетерологичного иммунитета между неродствен-

ными человеческими вирусами описан между вирусом гриппа и гепатита С. Был обнаружен эпитоп NS31073–1081 вируса гепатита С, в котором совпадают 7 аминокислот из 9 с эпитопом NA231–239 вируса гриппа [41]. У большинства пациентов с гепатитом С был выявлен широкий спектр реактивности на пептиды вируса, тогда как у двух пациентов был олигоклональный тип иммунного ответа, причем на перекрестные пептиды вирусов гриппа и гепатита С. И именно у этих пациентов развился фульминантный некроз печени [37]. Еще один пример — вирус Эпштейна–Барр. У маленьких детей инфекция протекает чаще в субклинической форме, а у подростков и молодых взрослых может давать клинику острого инфекционного мононуклеоза. Характерным признаком последнего является наличие в крови больного атипичных мононуклеаров, которые на самом деле представляют собой цитотоксические содержащие гранулы активированные CD8⁺ Т-клетки, отвечающие на EBV-инфицированные В-клетки и эпителиальную ткань. При этом такой ответ не слишком эффективен в смысле элиминации вируса. Нет никаких доказательств, что при мононуклеозе вирусная нагрузка выше, чем при субклинических формах. В то же время было показано, что при остром мононуклеозе доминируют Т-клеточные ответы, перекрестно реагирующие с эпигоптами вируса гриппа [10].

В процессе работы над вакциной к вирусу гепатита С, где в качестве носителя использовали оболочку аденоовириуса был получен очень хороший эффект на одни антигены и почти никакого на другие. Дополнительные исследования выявили значительную гомологию (25–53%) между отдельными пептидами этих двух неродственных вирусов. Более того, иммунизация мышей нерекомбинантным, неспособным к репликации аденоовириусом также приводила к формированию Т-клеточных иммунных ответов, специфичных к пептидам вируса гепатита С [2].

Участие гетерологичных иммунных ответов в иммунопатологии

В описанной выше модели мышей, первично инфицированных LCMV, а затем иммунизированных осповакциной, помимо описанного эффекта защиты от осповакцины, у некоторых мышей при низкой вирусной нагрузке развивался тяжелый панникулит в виде воспаления и некроза висцеральной жировой ткани. Такой вид патологии несколько напоминает синдром неизвестной этиологии Вебера–Кристиана, описанный у человека, а также узелковую эритему при волчанке [31]. Важно, что возникно-

вение патологии не связано с уровнем вирусной нагрузки и генетическими факторами, поскольку возникает лишь у некоторых мышей в генетически идентичной группе [24]. Ранее было показано, что защита в такой схеме эксперимента осуществляется за счет вовлечения гетерологичных Т-клеток памяти, отвечающих на субдоминантный пептид для LCMV NP205, поскольку есть перекрестно реагирующий пептид у вируса осповакцины a11g, однако некоторые мыши отвечали на пептиды GP34 или GP118, и это не было связано с H2-гаплотипом, а зависело от типа ответа на первичную инфекцию LCMV [12]. Это означает, что даже у генетически идентичных организмов, перенесших одну и ту же инфекцию, репертуар Т-клеток, помимо общих специфичностей, может различаться за счет частных специфичностей, а те, в свою очередь, могут давать перекрестья с аутоантigenами [24]. Как протективный, так и аутоиммунный эффект в описанном эксперименте полностью отменяется при введении анти-IFN γ антител, тогда как панникулит зависит также от TNF [31, 32]. Возможно, вовлечение в патогенез аутоиммунного заболевания гетерологичных Т-клеток памяти, не зависящих от уровня TNF, объясняет случаи неудачи при анти-TNF терапии пациентов с аутопатологией.

При использовании интраназальной схемы введения вируса мышам, инфицирование осповакциной наивных мышей вызывает острое воспаление, некротический бронхиолит и отек легкого. Если мыши были ранее инфицированы LCMV, то в легких отмечается лимфоцитарная инфильтрация, но клинически мыши легко переносят инфекцию осповакцины. Однако у некоторых таких мышей возникает облитерирующий бронхиолит, приводящий к закупорке бронхиол фибрином и воспалительными клетками. У человека также описана подобная патология неизвестной этиологии, приводящая к смерти пациента. Эта патология встречается в случае наслоения вирусной инфекции после трансплантации легких. Считают, что это клеточно-опосредованная иммунопатология. Повидимому, за эту патологию также отвечают гетерологичные клетки памяти [32].

В экспериментах на мышах показано, что гетерологичные иммунные ответы на вирусы могут вызывать такие тяжелые аутоиммунные патологии, как диабет или рассеянный склероз [8, 23]. Некоторые вирусы кодируют полиаргининовый эпигопт, который распознается CD4⁺ лимфоцитами, выделенными у пациентов с рассеянным склерозом [35]. Эти данные свидетельствуют о том, что гетерологичный ответ на вирусы может являться триггером в запуске аутоиммунных патологий. Так, первый вирус может иметь аутоподобный эпигопт и нарушать

толерантность, а последующая вирусная инфекция за счет кросс-реактивности сдвигает иммунный ответ на аутопептид с минорного на доминантный тип и сталкивает иммунитет в аутопатологию.

В свете вышесказанного особое внимание следует уделить процессу вакцинации и календарю прививок. Так известно, что вакцинация БЦЖ, а также вакцинация живой тривалентной вакциной против кори, краснухи и эпидемического паротита каким-то неизвестным способом защищает также от летальных исходов при ротавирусной инфекции и пневмонии. Последующее введение убитой комбинированной вакцины АКДС отменяет этот эффект и увеличивает смертность [15]. Появились описания непонятных реакций при вакцинации молодых женщин широко рекламированной вакциной против папилломавируса [13, 26]. В свете описанных особенностей гетерологичного иммунного ответа следует, видимо, дополнительно изучить проблему кросс-реактивности Т-клеток на антигенные эпитопы различных вакцин и скорректировать календарь прививок относительно того, когда и в какой последовательности следует проводить те или иные вакцинации, а не добавлять новые вакцины по принципу «как удобнее это сделать».

Гетерологичный тип иммунореактивности может вносить свою лепту в отторжение трансплантатов. Известно, что иммуносупрессивная терапия, необходимая при трансплантации, способствует развитию вирусных инфекций, и это может приводить к отторжению. Одним из подходов, позволяющих избежать иммуносупрессивной терапии при аллотрансплантации является индукция аллоспецифичного иммунного ответа Т-клеток и последующая блокада костимулирующих молекул в процессе активации. Такая тактика выводит аллореактивные клонсы в состояние анергии, а затем и в апоптоз, и при последующей трансплантации просто некому осуществлять отторжение [29, 38]. На мышиной модели было показано, что раннее, в течение первых двух недель, инфицирование реципиентов кожного трансплантата LCMV или персистенция этого вируса еще до пересадки приводит к быстрому отторжению кожного лоскута. В то же время заражение мышей LCMV через 50 дней после пересадки не приводило к отторжению трансплантата [36, 43]. Известно, что Т-клетки памяти не столь зависимы от костимулирующих сигналов, как наивные Т-лимфоциты. Присутствие аллоспецифичных Т-клеток памяти, сформированных на вирусную инфекцию, но перекрестно реагирующих на антигены аллотрансплантата,

снижают эффективность индукции толерантности за счет стандартной блокады костимулирующих молекул. Последовательное заражение мышей двумя неродственными вирусами повышало частоту встречаемости аллоспецифичных Т-клеток памяти и более эффективно приводило к отторжению трансплантата [1].

Заключение

Таким образом, гетерологичные иммунные ответы, по-видимому, являются распространенным типом иммунного ответа на инфекцию, особенно у взрослых и пожилых организмов. Способность Т-клеток памяти перекрестно реагировать на неродственные вирусы позволяет взрослым организмам оперативно отражать инфекции и способствует более низкой заболеваемости взрослых, по сравнению с маленькими детьми. Для пожилых организмов гетерологичный иммунный ответ — это еще и способ компенсировать инволюцию тимуса и снижение репертуара наивных Т-клеток. Несмотря на явные преимущества гетерологичных иммунных ответов, этот тип реагирования имеет свою «темную сторону». Наличие этого типа иммунного ответа может объяснить широкую вариабельность в клинической картине некоторых заболеваний от почти бессимптомного течения до летального исхода у разных индивидуумов на один и тот же патоген. Так, например, при Эпштейна–Барр вирусной инфекции такая форма как инфекционный мононуклеоз чаще встречается у молодых взрослых и подростков и очень редко у детей. Также гетерологичные ответы могут быть вовлечены в патологию при заболеваниях с очень вариабельной клинической картиной, как, например, вирусный гепатит С или лихорадка денге, при вирусных заболеваниях, где имеются близкородственные серотипы (энтеровирусы, папилломавирусы) или при персистирующими вирусных инфекциях (герпесвирусных). Гетерологичный иммунный ответ может быть причиной необычной реакции на вакцинацию, особенно при вакцинации взрослых и при вакцинации детей многокомпонентными вакцинами. Также гетерологичный иммунитет может быть триггером в развитии аутоиммунной патологии и причиной отторжения трансплантатов. Несмотря на сложность изучения этого типа иммунного ответа у человека, необходима дальнейшая работа в этой области. Такие исследования позволят использовать особенности гетерологичных иммунных ответов при создании новых безопасных вакцин и подборе адекватной терапии аутоиммунных заболеваний для каждого пациента.

Список литературы/References

1. Adams A.B., Williams M.A., Jones T.R., Shirasugi N., Durham M.M., Kaech S.M., Wherry E.J., Onami T., Lanier J.G., Kokko K.E., Pearson T.C., Ahmed R., Larsen C.P. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J. Clin. Invest.*, 2003, vol. 111, pp. 1887–1895. doi: 10.1172/JCII17477
2. Agrawal B., Gupta N., Vedi S., Singh S., Li W., Garg S., Li J., Kumar R. Heterologous immunity between adenoviruses and hepatitis C virus (HCV): recombinant adenovirus vaccine vectors containing antigens from unrelated pathogens induce cross-reactive immunity against HCV antigens. *Cells*, 2019, vol. 8, no. 5, pii: E507. doi: 10.3390/cells8050507
3. Barton E.S., White D.W., Cathelyn J.S., Brett-McClellan K.A., Engle M., Diamond M.S., Miller V.L., Virgin H.W. 4th. Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection. *Nature*, 2007, vol. 447, pp. 326–329. doi: 10.1038/nature05762
4. Brehm M.A., Pinto A.K., Daniels K.A., Schneek J.P., Welsh R.M., Selin L.K. T cell immunodominance and maintenance of memory regulated by unexpectedly cross-reactive pathogens. *Nat. Immunol.*, 2002, vol. 3, pp. 627–634. doi: 10.1038/ni806
5. Butkeviciute E., Jones C.E., Smith S.G. Heterologous effects of infant BCG vaccination: potential mechanisms of immunity. *Future Microbiol.*, 2018, vol. 13, no. 10, pp. 1193–1208. doi: 10.2217/fmb-2018-0026
6. Casrouge A., Beaudoin E., Dalle S., Pannetier C., Kanellopoulos J., Kourilsky P. Size estimate of the alpha beta TCR repertoire of naive mouse splenocytes. *J. Immunol.*, 2000, vol. 164, pp. 5782–5787. doi: 10.4049/jimmunol.164.11.5782
7. Chen H.D., Fraire A.E., Joris I., Welsh R.M., Selin L.K. Specific history of heterologous virus infections determines antiviral immunity and immunopathology in the lung. *Am. J. Pathol.*, 2003, vol. 163, pp. 1341–1355. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63493-1
8. Christen U., Edelmann K.H., McGavern D.B., Wolfe T., Coon B., Teague M.K., Miller S.D., Oldstone M.B., von Herrath M.G. A viral epitope that mimics a self antigen can accelerate but not initiate autoimmune diabetes. *J. Clin. Invest.*, 2004, vol. 114, pp. 1290–1298. doi: 10.1172/JCI22557
9. Clark I.A. Heterologous immunity revisited. *Parasitology*, 2001, vol. 122 (suppl.), pp. S51–S59.
10. Clute S.C., Watkin L.B., Cornberg M., Naumov Y.N., Sullivan J.L., Luzuriaga K., Welsh R.M., Selin L.K. Cross-reactive influenza virus-specific CD8+ T cells contribute to lymphoproliferation in Epstein–Barr virus-associated infectious mononucleosis. *J. Clin. Invest.*, 2005, vol. 115, pp. 3602–3612. doi: 10.1172/JCI25078
11. Cornberg M., Chen A.T., Wilkinson L.A., Brehm M.A., Kim S.K., Calcagno C., Ghersi D., Puzone R., Celada F., Welsh R.M., Selin L.K. Narrowed TCR repertoire and viral escape as a consequence of heterologous immunity. *J. Clin. Invest.*, 2006, vol. 116, pp. 1443–1456. doi: 10.1172/JCI27804
12. Cornberg M., Sheridan B.S., Saccoccia F.M., Brehm M.A., Selin L.K. Protection against vaccinia virus challenge by CD8 memory T cells resolved by molecular mimicry. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 2, pp. 934–944. doi: 10.1128/JVI.01280-06
13. Debeer P., De M.P., Bruyninckx F., Devlieger R. Brachial plexus neuritis following HPV vaccination. *Vaccine*, 2008, vol. 26, no. 35, pp. 4417–4419. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.074
14. Epstein S.L. Prior H1N1 influenza infection and susceptibility of Cleveland Family Study participants during the H2N2 pandemic of 1957: an experiment of nature. *J. Infect. Dis.*, 2006, vol. 193, pp. 49–53. doi: 10.1086/498980
15. Flanagan K.L., Klein S., Skakkebaek N.E., Marriott I., Marchant A., Selin L.K., Fish E., Prentice A., Whittle H., Benn C., Aaby P. Sex differences in the vaccine-specific and non-targeted effects of vaccines. *Vaccine*, 2011, vol. 29, no. 13, pp. 2349–2354. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.01.071
16. Frankild S., de Boer R.J., Lund O., Nielsen M., Kesmir C. Amino acid similarity accounts for T cell cross-reactivity and for “holes” in the T cell repertoire. *PLoS One*, 2008, vol. 3: e1831. doi: 10.1371/journal.pone.0001831
17. Gilbertson B., Germano S., Steele P., Turner S., Fazekas de St. Groth B., Cheers C. Bystander activation of CD8+ T lymphocytes during experimental mycobacterial infection. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, pp. 6884–6891. doi: 10.1128/IAI.72.12.6884-6891.2004
18. Hillaire M.L., Vogelzang-van Trierum S.E., Kreijtz J.H., de Mutsert G., Fouchier R.A., Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F. Human T-cells directed to seasonal influenza A virus cross-react with 2009 pandemic influenza A (H1N1) and swine-origin triple-reassortant H3N2 influenza viruses. *J. Gen. Virol.*, 2013, vol. 94, pp. 583–592. doi: 10.1099/vir.0.048652-0
19. Kim S.K., Cornberg M., Wang X.Z., Chen H.D., Selin L.K., Welsh R.M. Private specificities of CD8 T cell responses control patterns of heterologous immunity. *J. Exp. Med.*, 2005, vol. 201, pp. 523–533. doi: 10.1084/jem.20041337
20. Lee J.K., Stewart-Jones G., Dong T., Harlos K., Di Gleria K., Dorrell L., Douek D.C., van der Merwe P.A., Jones E.Y., McMichael A.J. T cell cross-reactivity and conformational changes during TCR engagement. *J. Exp. Med.*, 2004, vol. 200, pp. 1455–1466. doi: 10.1084/jem.20041251
21. Lee L.Y., Ha do L.A., Simmons C., de Jong M.D., Chau N.V., Schumacher R., Peng Y.C., McMichael A.J., Farrar J.J., Smith G.L., Townsend A.R., Askonas B.A., Rowland-Jones S., Dong T. Memory T cells established by seasonal human influenza A infection cross-react with avian influenza A (H5N1) in healthy individuals. *J. Clin. Investig.*, 2008, vol. 118, pp. 3478–3490. doi: 10.1172/JCI32460
22. Mathurin K.S., Martens G.W., Kornfeld H., Welsh R.M. CD4 T-cell-mediated heterologous immunity between mycobacteria and poxviruses. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, pp. 3528–3539. doi: 10.1128/JVI.02393-08
23. McCoy L., Tsunoda I., Fujinami R.S. Multiple sclerosis and virus induced immune responses: autoimmunity can be primed by molecular mimicry and augmented by bystander activation. *Autoimmunity*, 2006, vol. 39, no. 1, pp. 9–19. doi: 10.1080/08916930500484799
24. Nie S., Lin S.J., Kim S.K., Welsh R.M., Selin L.K. Pathological Features of Heterologous Immunity Are Regulated by the Private Specificities of the Immune Repertoire. *Am. J. Pathol.*, 2010, vol. 176, no. 5, pp. 2107–2112. doi: 10.2353/ajpath.2010.090656
25. Nikolich-Zugich J., Slifka M.K., Messaoudi I. The many important facets of T-cell repertoire diversity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, vol. 4, pp. 123–132. doi: 10.1038/nri1292
26. Ojaimi S., Butterly J.P., Korman T.M. Quadrivalent Human Papillomavirus recombinant vaccine associated lipoatrophy. *Vaccine*, 2009, vol. 27, no. 36, pp. 4876–4878. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.06.026

27. Petrova G., Ferrante A., Gorski J. Cross-reactivity of T cells and its role in the immune system. *Crit. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 32, pp. 349–372. doi: 10.1615/CritRevImmunol.v32.i4.50
28. Pewe L.L., Netland J.M., Heard S.B., Perlman S. Very diverse CD8 T cell clonotypic responses after virus infections. *J. Immunol.*, 2004, vol. 172, pp. 3151–3156. doi: 10.4049/jimmunol.172.5.3151
29. Schwartz R.H. T cell anergy. *Annu. Rev. Immunol.*, 2003, vol. 21, pp. 305–334. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141110
30. Scott D.R., Borbulevych O.Y., Piepenbrink K.H., Corcelli S.A., Baker B.M. Disparate degrees of hypervariable loop flexibility control T cell receptor cross-reactivity, specificity and binding mechanisms. *J. Mol. Biol.*, 2011, vol. 414, pp. 385–400. doi: 10.1016/j.jmb.2011.10.006
31. Selin L.K., Varga S.M., Wong I.C., Welsh R.M. Protective heterologous antiviral immunity and enhanced immunopathogenesis mediated by memory T cell populations. *J. Exp. Med.*, 1998, vol. 188, pp. 1705–1715 doi: 10.1084/jem.188.9.1705
32. Selin L.K., Włodarczyk 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, no. 4, pp. 328–347. doi: 10.3109/08916934.2011.523277
33. Sewell A.K. Why must T cells be cross-reactive? *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 12, pp. 669–677. doi: 10.1038/nri3279
34. Slifka M.K., Whitton J.L. Functional avidity maturation of CD8(+) T cells without selection of higher affinity TCR. *Nat. Immunol.*, 2001, vol. 2, pp. 711–717. doi: 10.1038/90650
35. Sospedra M., Zhao Y., Zur H.H., Muraro P.A., Hamashin C., de Villiers E.M., Pinilla C., Martin R. Recognition of conserved amino acid motifs of common viruses and its role in autoimmunity. *PLoS Pathog.*, 2005, vol. 1, no. 4: e41. doi: 10.1371/journal.ppat.0010041
36. Turgeon N.A., Iwakoshi N.N., Phillips N.E., Meyers W.C., Welsh R.M., Greiner D.L., Mordes J.P., Rossini A.A. Viral infection abrogates CD8(+) T-cell deletion induced by costimulation blockade. *J. Surg. Res.*, 2000, vol. 93, pp. 63–69. doi: 10.1006/jsre.2000.5962
37. Urbani S., Amadei B., Fisicaro P., Pilli M., Missale G., Bertoletti A., Ferrari C. Heterologous T cell immunity in severe hepatitis C virus infection. *J. Exp. Med.*, 2005, vol. 201, pp. 675–680. doi: 10.1084/jem.20041058
38. Valujskikh A., Lakkis F.G. In remembrance of things past: memory T cells and transplant rejection. *Immunol. Rev.*, 2003, vol. 196, pp. 65–74.
39. Van de Sandt C.E., Kreijtz J.H., de Mutsert G., Geelhoed-Mieras M.M., Hillaire M.L., Vogelzang-van Trierum S.E., Osterhaus A.D., Fouchier R.A., Rimmelzwaan G.F. Human cytotoxic T lymphocytes directed to seasonal influenza A viruses cross-react with the newly emerging H7N9 virus. *J. Virol.*, 2014, vol. 88, pp. 1684–1693. doi: 10.1128/JVI.02843-13
40. Walzl G., Tafuro S., Moss P., Openshaw P.J., Hussell T. Influenza virus lung infection protects from respiratory syncytial virus-induced immunopathology. *J. Exp. Med.*, 2000, vol. 192, pp. 1317–1326. doi: 10.1084/jem.192.9.1317
41. Wedemeyer H., Mizukoshi E., Davis A.R., Bennink J.R., Rehermann B. Cross-reactivity between hepatitis C virus and influenza A virus determinant-specific cytotoxic T cells. *J. Virol.*, 2001, vol. 75, pp. 11392–11400. doi: 10.1128/JVI.75.23.11392-11400.2001
42. Welsh R.M., Che J., 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.
43. Welsh R.M., Markees T.G., Woda B.A., Daniels K.A., Brehm M.A., Mordes J.P., Greiner D.L., Rossini A.A. Virus-induced abrogation of transplantation tolerance induced by donor-specific transfusion and anti-CD154 antibody. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, pp. 2210–2208. doi: 10.1128/jvi.74.5.2210-2218.2000
44. Wilson D.B., Wilson D.H., Schroder K., Pinilla C., Blondelle S., Houghten R.A., Garcia K.C. Specificity and degeneracy of T cells. *Mol. Immunol.*, 2004, vol. 40, pp. 1047–1055. doi: 10.1016/j.molimm.2003.11.022
45. Wu L.C., Tuot D.S., Lyons D.S., Garcia K.C., Davis M.M. Two-step binding mechanism for T-cell receptor recognition of peptide MHC. *Nature*, 2002, vol. 418, pp. 552–556. doi: 10.1038/nature00920
46. Wucherpfennig K.W., Allen P.M., Celada F., Cohen I.R., De Boer R., Garcia K.C., Goldstein B., Greenspan R., Hafler D., Hodgkin P., Huseby E.S., Krakauer D.C., Nemazee D., Perelson A.S., Pinilla C., Strong R.K., Sercarz E.E. Polyspecificity of T cell and B cell receptor recognition. *Semin. Immunol.*, 2007, vol. 19, pp. 216–224. doi: 10.1016/j.smim.2007.02.012
47. Yewdell J.W., Bennink J.R. Immunodominance in major histocompatibility complex class I-restricted T lymphocyte responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999, vol. 17, pp. 51–88. doi: 10.1146/annurev.immunol.17.1.51
48. Yin Y., Mariuzza R.A. The multiple mechanisms of T cell cross-reactivity. *Immunity*, 2009, vol. 31, pp. 849–851. doi: 10.1016/j.immuni.2009.12.002

Автор:

Топтыгина А.П., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия; профессор кафедры иммунологии ФГБО УВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Author:

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Cytokine, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation; Professor, Department of Immunology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

РАННЯЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С COVID-19

А.С. Колбин^{1,2}

¹ ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Коронавирусная инфекция 2019 года является современным вызовом мировому сообществу. На фоне отсутствия вакцин эффективные и безопасные лекарства являются ургентным запросом системы здравоохранения. Нами была проведена оценка медицинских технологий, изучаемых при COVID-19. Поиск проводили с помощью международного ресурса ClinicalTrials.gov на начало апреля 2020 года. В результате было показано, что количество новых клинических исследований в мире, посвященных COVID-19, увеличивается на 65% в неделю. Чаще проводятся интервенционные клинические испытания II и III фазы. Большая часть исследований запланирована или проводится в Западной Европе (n = 92), Китае (n = 79) и США (n = 51). Как правило, оценивают суррогатные точки, такие как: клиническое выздоровление, облегчение заболевания на основе баллов по симптомам (лихорадка, кашель, диарея, миалгия, одышка), отсутствие прогрессирования одышки, скорость искусственной вентиляции, скорость поступления в отделение интенсивной терапии и т.д. В основном изучают антималярийные лекарства. В настоящее время невозможно обсуждать эффективность и безопасность того или иного лекарства в лечении COVID-19, так как большинство исследований только начато. Предлагаемые сейчас в клинических рекомендациях терапевтические схемы не имеют под собой доказательной базы, а указанные в них исследования в лучшем случае считаются генерирующими гипотезы.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, клинические испытания, хлорохин, гидроксихлорохин, ремдесивир, лопинавир/ритонавир, моноклональные антитела.

AN EARLY ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF MEDICINES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH COVID-19

Kolbin A.S.^{a,b}

^a First Pavlov State Medical University of St.Petersburg, St.Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg State University, St.Petersburg, Russian Federation

Abstract. Coronavirus infection 2019 is considered a modern challenge to the world community. In the absence of vaccines and antivirals, effective and safe medicines are an urgent request from the healthcare system. We have evaluated the medical technologies for COVID-19 which are being examined. The search was conducted on the ClinicalTrials.gov at the beginning of April 2020. As a result it was shown that the growth of new clinical trials in the world devoted to COVID-19 is growing by 65% per week. More often, interventional clinical trials of the II and III phases are carried out. Most studies are planned or conducted in Western Europe (n = 92), China (n = 79), and the United States (n = 51). Surrogate points

Адрес для переписки:

Колбин Алексей Сергеевич
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8,
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова МЗ РФ.
Тел.: 8 921 759-04-49.
E-mail: alex.kolbin@mail.ru

Contacts:

Aleksey S. Kolbin
197022, Russian Federation, St. Petersburg, L. Tolstoy str., 6/8,
Pavlov First State Medical University.
Phone: +7 921 759-04-49.
E-mail: alex.kolbin@mail.ru

Библиографическое описание:

Колбин А.С. Ранняя оценка эффективности лекарственных средств при лечении больных с COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 277–286. doi: 10.15789/2220-7619-AEA-1458

Citation:

Kolbin A.S. An early assessment of the efficacy of medicines in the treatment of patients with COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 277–286. doi: 10.15789/2220-7619-AEA-1458

are usually evaluated, such as: clinical recovery, symptom-based disease relief (fever, cough, diarrhea, myalgia, shortness of breath), lack of progression of shortness of breath, rate of artificial ventilation, rate of admission to the intensive care unit, etc. It is antimalarial drugs that are mainly studied. Currently, it is not possible to discuss the efficacy and safety of a drug in the treatment of COVID-19, as most studies have just begun. The therapeutic regimens proposed now in clinical recommendations have no evidence base, and the studies indicated in them are at best considered hypothesizing.

Key words: coronavirus infection, COVID-19, clinical trials, chloroquine, hydroxychloroquine, remdesivir, lopinavir/ritonavir, monoclonal antibodies.

Актуальность

В декабре 2019 года вспышка коронавирусной болезни (COVID-19) в Китае распространилась почти по всем странам и привела к серьезной нагрузке на мировую систему здравоохранения и негативно отразилась на всех аспектах жизни населения земного шара [39]. По данным ВОЗ, приблизительно 15% людей с COVID-19 имеют тяжелую форму заболевания с поражением в основном дыхательных путей, зачастую с высокой летальностью [35]. Анализ контактов, за которым следуют карантин и изоляция, могут эффективно сократить распространение COVID-19. Конечно, ношение масок, мытье рук и дезинфекция поверхностей также способствуют снижению риска заражения. В то же время этиотропная и патогенетическая терапии COVID-19 в настоящее время не одобрены. Хотя международные и национальные экспертные медицинские организации предлагают различные медикаментозные схемы, принципы их создания, источники информации о самих лекарствах, включенных в них, остаются дискуссионными [4, 11, 14, 15, 35].

Целью настоящего исследования была оценка эффективности и безопасности медицинских технологий (лекарств) при COVID-19.

Материалы и методы

Инфекция. COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) — это инфекционное заболевание, вызванное новым коронавирусом в 2019 году [35]. SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) — тяжелый острый респираторный синдром, представляющий собой вирусное респираторное заболевание. Воздушно-воздушный — коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) [12]. MERS (Middle East respiratory syndrome) — ближневосточный респираторный синдром, также связанный с коронавирусом (MERS-CoV).

Оценка технологий здравоохранения. Оценка медицинских технологий (ОМТ) это междисциплинарная область, изучающая медицинские, социальные, этические и экономические аспекты применения медицинских технологий (лекарств, изделий медицинского назначения и т.д.). Выделяют раннюю и классическую ОМТ [3]. Как правило, первый вид ОМТ используют

на этапах доклинического и клинического исследования лекарственного средства. В данном случае мы изучаем действенность (efficacy); условием такого исследования считают состояние, когда проводится рандомизация лекарства в сравнении с плацебо. Если же мы проводим сравнение нового лекарства не с плацебо, а с имеющимся уже в клинике лекарственным средством или иной медицинской технологией, такой вид эффекта называют сравнительной действенностью (relative efficacy). Условием проведения таких исследований по прежнему остается рандомизация, строгие критерии включения и исключения пациентов в исследования, а так же прочие требования системы «Надлежащая клиническая практика» (Good Clinical Practice, GCP). Вторым источником данных являются «данные реальной клинической практики» или «данные реального мира» (Real-World Data, RWD). Здесь мы изучаем эффективность (effectiveness) или сравнительную эффективность (relative effectiveness). Здесь мы изучаем эффективность (effectiveness) или сравнительную эффективность (relative effectiveness), то есть анализируем преимущества нового лекарства над уже используемыми средствами в реальной клинической практике, зачастую с утвержденными протоколами лечения и профилактики заболеваний [2].

Исследования. Применяли следующую классификацию исследований: интервенционное клиническое испытание (Clinical trial); минимально интервенционное клиническое испытание (Low-intervention clinical trial); неинтервенционные исследования. К Clinical trial относят любое исследование, отвечающее хотя бы одному из условий: добровольцы заранее информированы об определенной стратегии терапии; решение назначить исследуемое средство принимается одновременно с решением включить субъекта в исследование; испытание проходит вне рамок обычной клинической практики. В данном случае чаще проводят рандомизированные клинические исследования (РКИ), зачастую плацебо-контролируемые [5]. К минимальным интервенционным клиническим испытаниям относят испытания у людей, где все исследуемые лекарства, кроме плацебо, зарегистрированы. К неинтервенционным исследованиям относят проспективные и ретроспектив-

ные наблюдательные исследования, участники которых не рандомизированы. Выбор лечения в данном случае осуществляется пациент или его лечащий врач с учетом наличия или отсутствия того или иного лекарства, возможностью или не возможностью его приобрести.

Доказательства. Исторически сложилось так, что иерархии данных связаны с «доказательной медициной». Научная информация может считаться надежной и обобщаемой, когда разные исследователи сообщали о схожих результатах. В этой связи у РКИ есть много преимуществ: проспективный дизайн, заранее заданные, четко определенные конечные и суррогатные валидированные точки (исходы), группы рандомизации и контроля, а также ослепление, зачастую всего исследования, в целях обеспечения непредвзятых оценок. По этим причинам РКИ были размещены в основе всех иерархий доказательств и считаются «золотым стандартом» [1].

Ресурсы. В мире существует несколько источников данных по клиническим исследованиям: Китай (<http://www.chictr.org.cn>); Евросоюз (www.clinicaltrialsregister.eu); Россия (<https://www.rosminzdrav.ru>). Самым крупным международным ресурсом считают ClinicalTrials.gov, регистрируемые там клинические исследования проверяются и одобряются Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA).

Поиск. Нами дважды была проанализирована база данных ClinicalTrials.gov: первый раз — 31 марта 2020 г.; второй раз — 6 апреля 2020 г. Поиск велся с использованием следующих ключевых слов: SARS-CoV-2; 2019-nCoV; 2019 novel coronavirus; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Результаты

Данные поиска

В результате было показано, что за период 3 недель 2020 года количество клинических исследований (КИ) нарастает, при этом темп нарастания стал выше. Так, если на конец марта это было 84 в неделю, то на начало апреля уже 114 исследований в неделю. Большая часть КИ запланирована или проводится в Западной Европе (n = 92), Китае (n = 79) и США (n = 51). Подавляющее число исследований (71,8%) являются интервенционными, РКИ, плацебо-контролируемыми. По фазам КИ разделяются на I — 9,1% исследований; II — 34,9%; III — 27,2%; IV — 7,1%. Ряд исследований невозможно оценить по тому, к какой фазе КИ их можно отнести (в 21,7%). В основном оценивают или планируют к оценке суррогатные точки, такие

как: клиническое выздоровление, облегчение заболевания на основе баллов по симптомам (лихорадка, кашель, диарея, миалгия, одышка), отсутствие прогрессирования одышки, время нахождения пациента на искусственной вентиляции легких, скорость поступления в отделение интенсивной терапии и т.д. По данным, извлеченным из ClinicalTrials.gov, невозможно сейчас обсуждать эффективность какой-либо технологии, так как исследования только начинаются, либо идет набор пациентов, либо он вот-вот начнется. Так, из 330 одобренных к проведению КИ, чуть менее половины исследований активны (n = 160). Более чем в половине случаев (51,5%) исследования заявлены, одобрены, но инициаторы пока не приступили к набору пациентов.

Только девять исследований из 330 закончены на начало апреля 2020 года. Из них семь посвящены анализу течения заболевания, осложнениям, диагностическим критериям, прогностическим факторам. Только 2 КИ были посвящены лекарственным средствам. В одном случае это был анализ антималярийного лекарства гидроксихлорохина. Название исследования — «Эффективность и безопасность гидроксихлорохина для лечения пневмонии, вызванной 2019-nCoV (HC-nCoV)». По дизайну это было интервенционное, открытые, параллельное, рандомизированное испытание на 30 участниках. Результаты обрабатывают (ClinicalTrials.gov, номер: NCT04261517). Во втором случае это был анализ терапевтической эффективности ингибитора протеазы гепатита С — данопревира. Исследование — «Оценка Ганово (Данопревир) в сочетании с ритонавиром в лечении новой коронавирусной инфекции»: интервенционное клиническое испытание, открытое, на 11 участниках. Результаты также в стадии обработки (ClinicalTrials.gov, номер: NCT04291729). В целом из 330 КИ (рис. 1). 56% были посвящены лекарственным средствам, в 33% изучают клиническое течение заболевания и его осложнений, прогнозирование исходов, выделение групп риска, организационные меры, в 5 и 6% изучают эффективность различных тестов и респираторную терапию соответственно; в 2% проводится анализ китайской медицины и в 1,5% — изучение вакцин.

В апреле 2020 г на сайте ClinicalTrials.gov были зарегистрированы два КИ для изучения роли БЦЖ (Bacillus Calmette—Guerin) в отношении COVID-19. Первое исследование будет проводиться в Нидерландах под названием «Снижение прогулов среди работников здравоохранения при пандемии SARS-CoV-2 с помощью вакцины Bacillus Calmette—Guerin» (ClinicalTrials.gov, номер: NCT04328441). Клини-

ческое испытание является плацебо-контролируемым адаптивным многоцентровым рандомизированным. Планируется к включению в исследование 15 000 участников, окончание намечено на 26 декабря 2020 года. Второе исследование планируют в Австралии под названием «Вакцинация БЦЖ для защиты работников здравоохранения от COVID-19» (BRACE). КИ будет открытм рандомизированным и контролируемым, III фаза с участием до 4170 медицинских работников. Целью исследования будет определение влияния вакцинации БЦЖ на частоту и тяжесть COVID-19 во время пандемии 2020 года. Окончание КИ — 30 марта 2022 года (ClinicalTrials.gov, номер: NCT04327206).

Только лекарствам посвящено 172 исследования (рис. 2). За 3 недели 2020 года (конец марта — начало апреля), произошло постепенное смещение тренда от сравнения одного какого-то лекарства с плацебо (изучение действенности) к сравнению нескольких лекарственных средств между собой (сравнительная действенность). Лидерами в таких сравнениях являются антималярийные средства (гидроксихлорохин и хлорохин). Именно за счет них и произошел прирост в данном сегменте КИ (16%). Примерно 11% исследований посвящены изучению monoclonalных антител, прежде всего тоцилизумабу в предотвращении цитокинового шторма. Из группы малых молекул прямого противовирусного действия (9%) в основном изучают роль ремдесивира.

Краткая фармакодинамическая характеристика изучаемых лекарственных средств с позиции их применения при COVID-19

Антималярийные средства

На апрель 2019 года в КИ в основном изучают антималярийные средства (рис. 2), а точнее двух их представителей: хлорохин и гидроксихлорохин. По данным ClinicalTrials.gov, проводят 27 РКИ, сравнивающих их с плацебо (действенность), и как минимум 16, сравнивающих их с другими лекарствами (сравнительная действенность). Хлорохин — широко используемое лекарство против малярии и аутоиммунных заболеваний (таких как системная красная волчанка и ревматоидный артрит). В 2006 г. в журнале «The Lancet Infectious Diseases» было показано, что он также может быть потенциальным противовирусным средством [30]. В частности, хлорохин/гидроксихлорохин в клинических испытаниях были применены для лечения ВИЧ-1-инфицированных пациентов. В то же время механизм их противовирусного действия остается обсуждаемым.

По данным M. Vincent и соавт. (2005), хлорохин является слабым основанием, после введения в организм человека лекарство повышает pH кислых внутриклеточных органелл, таких как эндосомы/лизосомы, которые в свою очередь необходимы для слияния мембран вируса и клетки млекопитающего [34]. Поскольку подкисление имеет решающее значение для созревания и функционирования эндосом,

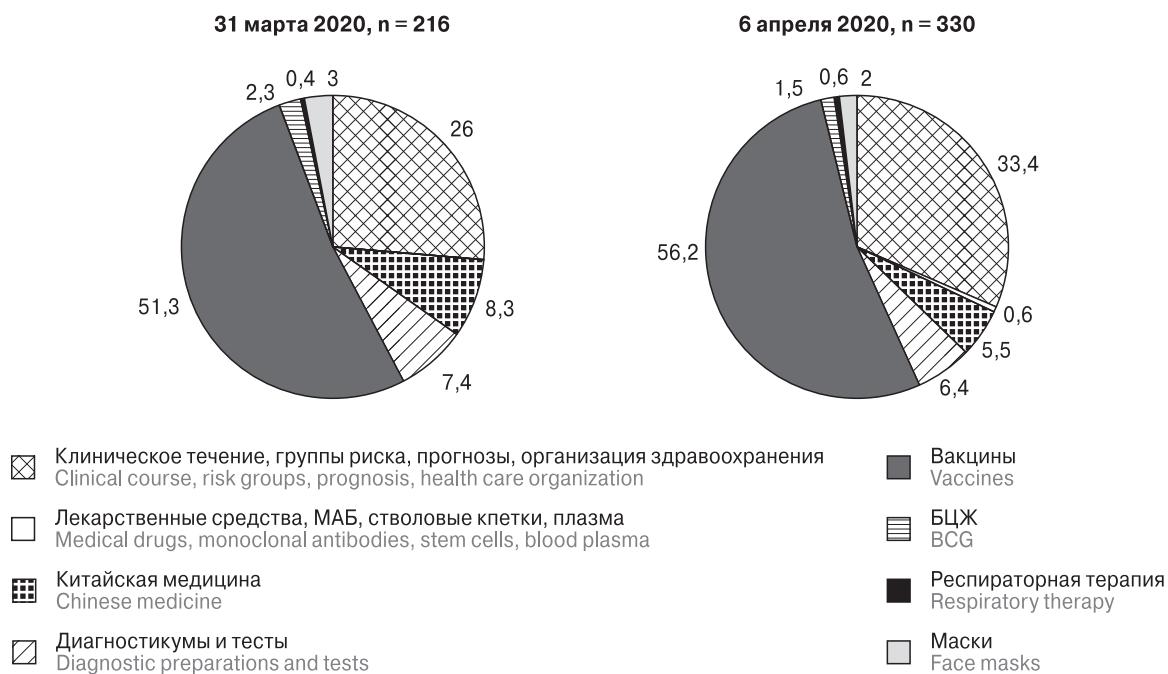


Рисунок 1. Клинические исследования различных медицинских технологий для управления COVID-19
Figure 1. Clinical studies of different medical technologies to manage COVID-19

предполагают, что созревание эндосом при введении хлорохина/гидроксихлорохина может блокироваться на промежуточных стадиях эндоцитоза. В итоге это приводит к неспособности дальнейшего транспорта вирионов в конечный сайт высвобождения, к блокировке сборки нового вириона. Явление влияния различных веществ на созревание лизосом было сформулировано в свое время Де Дювом (1974) и названо в последующем лизосомотропизмом [9]. В России эффект влияния различных химических веществ на лизосомы, при лечении хронических инфекционных заболеваний, в частности туберкулеза, изучался Ю.Н. Куруновым [6]. Современные эксперименты показали, что хлорохин действительно блокировал транспорт SARS-CoV-2 из ранних эндосом в эндолизосомы [27].

Следующим возможным механизмом действия является иммуносупрессивный эффект хлорохина, используемый при лечении системной красной волчанки. Сообщалось, что в ответ на инфекцию SARS-CoV-2 резко увеличивается экспрессия таких провоспалительных цитокинов, как IL-6 и IL-10. Это может привести к цитокиновому штурму с последующей полиорганной недостаточностью и смертью. И хлорохин, и гидроксихлорохин обладают иммуномодулирующим действием и могут подавлять иммунный ответ [31].

Эксперименты, проведенные Е. Keyaerts и соавт. (2004) *in vitro* показали, что хлорохин влияет на раннюю стадию репликации коронавируса SARS [23]. Согласно ряду данных, входными воротами для проникновения в клетку человека при COVID-19 является рецептор ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2) [40]. Исследователи из Центра по контролю и профилактике заболеваний (Атланта, Джорджия, США) сообщили о том, что *in vitro* хлорохин нарушает гликозилирование рецептора коронавируса SARS ACE2 [34]. По их мнению, именно ингибиция гликозилтрансфераз вируса является основным механизмом действия хлорохина.

На апрель 2020 года хлорохин включен практически во все мировые клинические рекомендации по профилактике и лечению COVID-19 [4]. Гидроксихлорохин сульфат (производное хлорохина) был впервые синтезирован в 1946 г. путем введения гидроксильной группы в хлорохин. В экспериментах на животных было продемонстрировано, что он является гораздо менее токсичным (примерно на 40%), чем хлорохин [26]. Используя популяционное фармакокинетическое моделирование и физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование (Physiologically Based Pharmacokinetic, PBPK), было установлено, что гидроксихлорохин является более мощным, чем хлорохин, средством для инфицированных SARS-CoV-2

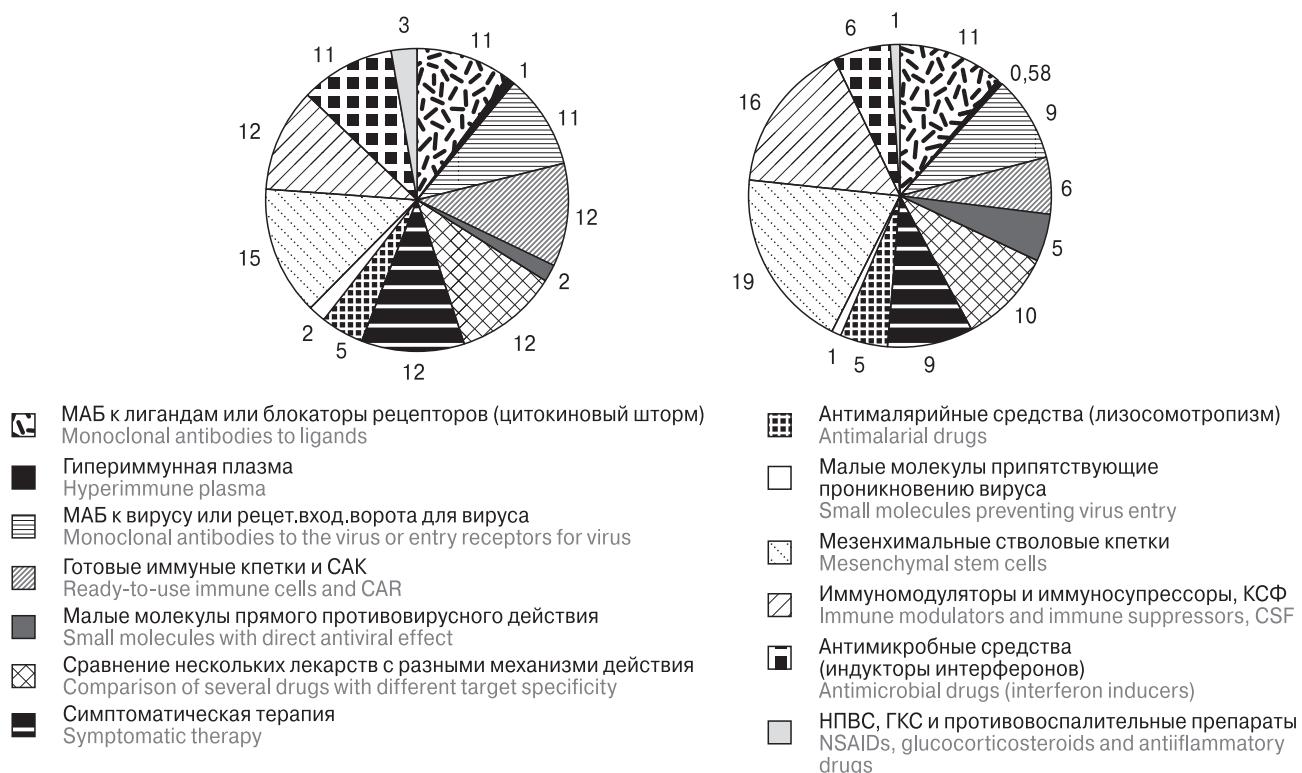


Рисунок 2. Клинические исследования лекарственных средств для управления COVID-19

Figure 2. Clinical studies of medical drugs for COVID-19 management

[40]. В связи с этим при анализе международных клинических рекомендаций, гидроксихлорохин встречается чаще. В то же время оптимальная доза как хлорохина, так и гидроксихлорохина для SARS-CoV-2, так все еще неизвестна и изучается [37, 39].

Малые молекулы прямого противовирусного действия (рис. 2)

Ремдесивир. На апрель 2020 года с ремдесивиром проводят 8 РКИ, сравнивающих его с плацебо (действенность), и как минимум 3, сравнивающих с другими лекарствами (сравнительная действенность). Изначально ремдесивир был разработан для лечения вируса Эбола [28]. Основным механизмом действия является его способность конкурировать за РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRP), что теоретически позиционирует его как средство широкого спектра против всех РНК-вирусов [33]. Что касается SARS-CoV, то в моделях на мышах как профилактический, так и терапевтический прием ремдесивира улучшал функцию легких и уменьшал вирусную нагрузку [32]. При этом ремдесивир был использован для лечения первого случая инфекции COVID-19 в США. На фоне его приема клиническое состояние пациента улучшилось [22].

Фавипиравир. Фавипиравир, также известный как Т-705, является противовирусным препаратом, который был одобрен в 2014 году в Японии для лечения инфекций, вызываемых пандемическим вирусом гриппа. После введения, лекарство проходит внутрь инфицированной клетки, где из пролекарства превращается в активную фосфорилированную форму, которая и распознается в итоге вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой как необходимый субстрат для репликации [17]. Противовирусная активность была получена не только при гриппе, но и при лечении пациентов, инфицированных вирусом Эбола и вирусом Ласса. Это позволило расценивать фавипиравир как противовирусное средство и для других РНК-вирусов.

Ингибиторы протеаз (рис. 2)

На апрель 2020 года с ингибиторами протеаз проводят 3 РКИ, сравнивающих их с плацебо (действенность), и как минимум 12, сравнивающих их с другими лекарствами (сравнительная действенность).

Лопинавир/ритонавир. Лопинавир/ритонавир — комбинация двух ингибиторов протеаз ВИЧ (протеазы и аспартилпротеазы) стала одним из первых средств, который рекомендовали для лечения COVID-19. Ранее было показано, что лопинавир обладает активностью как *in vitro*, так и в экспериментах на животных против коронавируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) [13, 16, 36]. Было высказано предположение, что комбинация

лопинавир-ритонавир является потенциально эффективной и при COVID-19. В настоящее время проводят как минимум три клинических исследования по эффективности и безопасности лопинавира/ритонавира. Схожее средство — дарунавир — изучают в двух КИ.

Рибавирин. Рибавирин, аналог гуанозина, представляет собой противовирусное соединение, используемое для лечения нескольких вирусных инфекций, включая РС-инфекцию, гепатит С и некоторые вирусные геморрагические лихорадки. Обнадеживающие результаты были получены с рибавирином и на модели MERS-CoV у макак-резусов [19]. На апрель 2020 г. проводят как минимум одно сравнительное исследование лопинавира/ритонавира vs рибавирин vs интерферон бета-1b.

Что касается ингибиторов протеаз вирусного гепатита С, то на апрель 2020 года проводят клиническое исследование с данопревиром [25].

Малые молекулы, препятствующие проникновению вируса (рис. 2)

На апрель 2020 года с малыми молекулами, препятствующими проникновению вируса, проводят 7 РКИ сравнивающие их с плацебо (действенность).

Антагонисты ACE1 (angiotensin-converting enzyme 1 gene) или ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента 1 типа (ИАПФ), блокаторы рецептора ангиотензин-II (БРА), агонисты ACE2. Согласно одной из теорий, основным путем проникновения вируса в эпителиальные клетки являются рецепторы ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2 gene), высокая экспрессия которых отмечена в ЖКТ, сердце, почках и в альвеолярных клетках II типа [29]. Известно, что SARS-CoV-2 имеет вирусную оболочку, усыпанную шипами — гликопротеинами, состоящими из двух субъединиц. Субъединица S1 связывается с ACE2 на поверхности клетки, а субъединица S2 сливается с клеточной мембраной. Другой фермент-хозяин, сериновая протеаза TMPRSS2, затем способствует проникновению SARS-CoV-2 в клетку человека. Теоретически, ИАПФ и БРА могут быть факторами риска для развития COVID-19, так как ингибируя активность ACE1 они повышают ACE2, а это в свою очередь может увеличить проникновение вируса в клетки [8]. В то же время клинических подтверждений, свидетельствующих о том, что эти лекарства ухудшают результаты при COVID-19 пока нет. На этом фоне, Совет по гипертонии Европейского общества кардиологов (Council on Hypertension of the European Society of Cardiology), а затем и Американская ассоциация кардиологов, Американское общество по сердечной недостаточности и Американский колледж кардиологов (American Heart Association, the Heart Failure Society of America, American

College of Cardiology) рекомендует, чтобы врачи и пациенты продолжали лечение этими средствами и ни в коем случае их не отменяли [29].

Флюдаза (DAS181). Ведется как минимум четыре клинических исследования с флюдазой (DAS181). Данное лекарство представляет собой рекомбинантный слитый белок сиалидазы, состоящий из каталитического домена сиалидазы, полученного из *Actinomyces viscosus*. Указанная актиномицета входит в состав нормальной оральной и желудочно-кишечной микробиоты человека. Изначально, флюдаза показала эффективность при вирусе гриппа у животных [24]. В ходе анализа литературы, данных исследований *in vitro* и на животных, была показана его потенциальная эффективность и при COVID-19 [20].

Моноклональные антитела, блокирующие растворимые лиганды или рецепторы к лигандам

На апрель 2020 года с моноклональными антителами, блокирующими растворимые лиганды или рецепторы к лигандам, проводят девятнадцать РКИ, сравнивающие их с плацебо (действенность), и как минимум 6, сравнивающих их с другими лекарствами (сравнительная действенность).

Тоцилизумаб. Самым частым изучаемым лекарством является тоцилизумаб — гуманизированное моноклональное антитело к рецептору IL-6. Показано, что при COVID-19 развивается вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (или цитокиновый штурм), характеризующийся молниеносной и фатальной гиперцитокинемией с полиорганной недостаточностью. Зачастую именно это и является причиной смертельного исхода. Схожая проблема возникает при использовании CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-Cell) терапии при лечении В-клеточного острого лимфобластного лейкоза, где уже доказана ведущая роль IL-6 как медиатора дисфункции органов, связанных с цитокиновым штурмом [21]. Тоцилизумаб является единственным одобренным FDA лекарством для купирования цитокинового штурма при CAR-T.

Необходимо подчеркнуть, что если вообще анализировать дизайн исследований всех лекарств при COVID-19, то именно для моноклональных антител КИ планируют с наиболее перспективными исходами. Так, запущена фаза 2 интервенционного клинического испытания с тоцилизумабом — многоцентровое одноэтапное открытое. Все зарегистрированные пациенты получают лечение тоцилизумабом. Измеряют уровень смертности за один месяц, и он же является основной конечной точкой. Параллельно запущено наблюдательное когортное исследование, где участвуют пациенты,

которые не имеют права на участие в исследовании фазы 2 (были интубированы более чем за 48 ч до регистрации). Размер выборки наблюдательного исследования не определен априори, и когорут закроют в конце всего проекта. В обеих исследовательских группах участники получат две дозы тоцилизумаба 8 мг/кг веса тела с интервалом 12 ч (ClinicalTrials.gov, номер: NCT04317092).

Проводят также клинические исследования с сарилумабом ($n = 4$), блокатором рецептора IL-6; бевацизумабом ($n = 2$), моноклональным антителом, ингибирующим биологическую активность фактора роста эндотелия сосудов; барицитинибом ($n = 1$), антителом к фактору некроза опухолей; меплазумабом ($n = 1$), антителом к CD147.

Ограничение

Анализировали данные по клиническим исследованиям представленных только лишь на ClinicalTrials.gov на начало апреля 2020 года. Не учитывали исследования, представленные на китайском и европейских ресурсах, а также клинические исследования, которые регистрируются в России (мефлохин, гидроксихлорохин, колидавир, сарилумаб, олокизумаб, RPH-104). Не представлен анализ требований по введению и эффективности гипериммунной плазмы. За скобками краткой фармакодинамической характеристики остались такие лекарственные средства, как агонисты Toll-подобных рецепторов, ингибиторы JAK-киназы, глюкортикостероиды, интерфероны и готовые иммунные клетки, хотя они и были включены в общий анализ (рис. 1 и 2).

Обсуждение

Пандемия COVID-19 является чрезвычайной ситуацией в области международного общественного здравоохранения и все страны мира нуждаются в скоординированных международных усилиях по борьбе с COVID-19. В настоящее время вакцин нет, на ClinicalTrials.gov зарегистрировано только 8 клинических исследований с вакцинами. При этом первые данные, возможно, будут получены не ранее 20 ноября 2020 г. по одной из них — открытому нерандомизированному исследованию I фазы с 40 здоровыми добровольцами. Целью КИ является изучение безопасности, переносимости и иммуногенности INO-4800 (ClinicalTrials.gov, идентификатор: NCT04336410). Необходимо обратить внимание, что это только первая фаза на здоровых добровольцах по безопасности. Сложно сейчас сказать, когда можно ожидать первые реальные результаты по эффективности вакцин.

В связи с этим в центре внимания оказался целый ряд непатентованных (или off-label — «вне инструкции») для данной инфекции средств — противовирусных препаратов для лечения ВИЧ, гепатита С, гриппа; моноклональных антител (к лигандам или к рецепторам); иммуномодуляторов и иммуносупрессоров (агонист Toll-подобных рецепторов, колониестимулирующих факторов, интерферонов альфа и бета, ингибиторов JAK-киназ); глюкортикоидов; гипериммунной плазмы; готовых иммунных клеток; антималярийных средств; антимикробных средств с функцией индукции интерферонов (азитромицин и карбимицин); мезенхимальных стволовых клеток.

Также ВОЗ заявила о запуске большого клинического исследования SOLIDARITY с целью установить насколько эффективно использование ряда уже применяемых лекарственных средств при лечении COVID-19: ремдесивир; хлорохин и гидроксихлорохин; ритонавир/лопинавир; ритонавир/лопинавир и интерферон-бета [35]. После того как врач сообщает, какие лекарства доступны в больнице, веб-сайт будет рандомизировать пациента к одному из доступных препаратов или к местному стандартному лечению COVID-19. Данное исследование будет открытым, что безусловно с позиций ранжирования в доказательной медицине не позволит его отнести к высоконадежным, тем не менее, видимо, в условиях COVID-19 количество таких КИ будет пока доминирующим.

Нам также сложно было игнорировать позиции национальных и международных экспертных организаций. Так, в рекомендациях The International Surviving Sepsis Campaign (SCCM, международной организации по изучению сепсиса) не рекомендуется использовать лопинавир/ритонавир для ведения пациентов с COVID-19 [21]. Данное заключение было сделано после анализа результатов, проведенного в марте 2020 года рандомизированного исследования на 199 пациентах. Было показано, что лопинавир/ритонавир неэффективен при лечении COVID-19. Все пациенты были госпитализированы с $\text{pO}_2 < 94\%$. Не было никакой разницы во времени до клинического улучшения, в 28-дневной смертности (19,2% против 25,0%; 95% доверительный интервал от -17,3 до 5,7) и определяемой вирусной РНК [7]. В своих рекомендациях SCCM указывают, что данных для подготовки рекомендаций о применении тоцилизумаба, хлорохина или гидроксихлорохина при лечении COVID-19 также нет [7].

Остается открытым вопрос широкого применения антималярийных средств, как на амбулаторном этапе оказания медицинской помощи, так и самостоятельно пациентами [10]. Во-первых, к сожалению, в мире растет количество сообще-

ний о нежелательных явлениях, и, по крайней мере, об одной смерти у пациента, который пил очиститель для аквариума из-за содержания в нем хлорохина [38]. Противомалярийные препараты могут вызывать желудочковые аритмии, удлинение интервала QT и другие сердечные токсические явления, которые могут представлять особый риск для критически больных людей [18]. Во-вторых, гидроксихлорохин является краеугольным камнем в терапии системной красной волчанки (СКВ). Гидроксихлорохин эффективен в купировании таких проявлений болезни, как боль в суставах и сыпь. Лекарство уменьшает не только тромботические явления, но продлевает жизнь пациентам с СКВ. Следует отметить, что отмена гидроксихлорохина может привести к рецидиву заболеваний, включая такие угрожающие жизни проявления, как волчаночный нефрит [10]. Ряд стран мира, к примеру США, сообщают о текущей нехватке гидроксихлорохина. В итоге, в конце марта 2020 года такой регулятор обращения лекарств, как Европейское медицинское агентство (EMA), рекомендовало ограничить применение хлорохина и гидроксихлорохина при COVID-19 именно из-за указанных выше причин.

Выходы

1. Прирост клинических исследований в мире, посвященных COVID-19, составляет примерно 65% в неделю.
2. Большинство инициированных клинических исследований в мире, посвященных COVID-19, направлено на лечение инфекции и ее осложнений, а не на профилактику инфекции.
3. Чаще проводятся интервенционные клинические испытания II фазы.
4. На начало апреля 2020 года в мире поменялся основной тренд в клиническом исследовании COVID-19 — применение ингибиторов протеаз (лекарства, применяемые при лечении ВИЧ) «отдало» лидерство антималярийным лекарственным средствам.
5. В связи с тем, что большинство клинических исследований только начато, в настоящее время невозможно обсуждать эффективность и безопасность того или иного лекарства в лечении COVID-19.
6. Имеющиеся сейчас в мире и в РФ клинические рекомендации создаются на основе данных, полученных *in vitro*; экспериментальных моделях на животных; единичных клинических исследованиях низкого качества с небольшим количеством пациентов; данных реальной клинической практики (RWD) без их детального анализа (RWE — Real-World Evidence, Доказательства реального мира). Обычно такие исследования в лучшем случае считают генерирующими гипотезы.

Список литературы/References

1. Вербицкая Е.В. Доказательная медицина: основные понятия, принципы поиска и оценки информации: Методическое пособие. Под ред. А.С. Колбина. СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2017. 36 с.
2. Галанкин Т.Л., Вербицкая Е.В. Фармакоэпидемиология: Методическое пособие. Под ред. А.С. Колбина. СПб.: Издательство СПбГМУ, 2015. 40 с.
3. Оценка медицинских технологий, 2013 г. Под общ. ред. Ю.Б. Белоусова. М.: Издательство ОКИ, 2013. 40 с.
4. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Временные методические рекомендации. Версия 4 (27.03.2020). URL: https://static-3.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/877/original/COVID19_recomend_v4.pdf
5. Управление клиническими исследованиями. Под общ. ред. Д.Ю. Белоусова, С.К. Зырянова, А.С. Колбина. 1-е изд. М.: Буки Веди: Издательство ОКИ, 2017. 676 с.
6. Шкурупий В.А., Курунов Ю.Н., Яковченко Н.Н. Лизосомотропизм — проблемы клеточной физиологии и медицины. *Новосибирск: Издательство Новосибирского государственного медицинского университета, 1999. 289 с.*
7. Alhazzani W., Møller M.H., Arabi Y.M., Loeb M., Gong M.N., Fan E., Oczkowski S., Levy M.M., Derde L., Dzierba A., Du B., Aboodi M., Wunsch H., Cecconi M., Koh Y., Chertow D.S., Maitland K., Alshamsi F., Belley-Cote E., Greco M., Laundy M., Morgan J.S., Kesecioglu J., McGeer A., Mermel L., Mammen M.J., Alexander P.E., Arrington A., Centofanti J.E., Citerio G., Baw B., Memish Z.A., Hammond N., Hayden F.G., Evans L., Rhodes A. Surviving sepsis campaign: guidelines on the management of critically ill adults with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Crit. Care Med.*, 2020. doi: 10.1097/CCM.00000000000004363
8. Aronson J.K., Ferner R.E. Drugs and the renin-angiotensin system in COVID-19. *BMJ*, 2020, vol. 369: m1313. doi: 10.1136/bmj.m1313
9. Berthet J. Scientific work of Christian de Duve. *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.*, 2007, vol. 162, no. 10–12, pp. 499–504.
10. Cao B., Wang Y., Wen D., Liu W., Wang J., Fan G., Ruan L., Song B., Cai Y., Wei M., Li X., Xia J., Chen N., Xiang J., Yu T., Bai T., Xie X., Zhang L., Li C., Yuan Y., Chen H., Li H., Huang H., Tu S., Gong F., Liu Y., Wei Y., Dong C., Zhou F., Gu X., Xu J., Liu Z., Zhang Y., Li H., Shang L., Wang K., Li K., Zhou X., Dong X., Qu Z., Lu S., Hu X., Ruan S., Luo S., Wu J., Peng L., Cheng F., Pan L., Zou J., Jia C., Wang J., Liu X., Wang S., Wu X., Ge Q., He J., Zhan H., Qiu F., Guo L., Huang C., Jaki T., Hayden F.G., Horby P.W., Zhang D., Wang C. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe COVID-19. *N. Engl. J. Med.*, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001282
11. CDC. Coronavirus (COVID-19). URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/index.html>
12. CDC. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). URL: <https://www.cdc.gov/sars>
13. Chan J.F., Yao Y., Yeung M.L., Deng W., Bao L., Jia L., Li F., Xiao C., Gao H., Yu P., Cai J.P., Chu H., Zhou J., Chen H., Qin C., Yuen K.Y. Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon- β 1b improves outcome of MERS-CoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset. *J. Infect. Dis.*, 2015, vol. 212, pp. 1904–1913. doi: 10.1093/infdis/jiv392
14. Cochrane Library. Coronavirus (COVID-19). URL: <https://www.cochranelibrary.com/covid-19>
15. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a guide for U.K. GPs. *BMJ*, 2020, vol. 368: m800. doi: 10.1136/bmj.m800
16. De Wilde A.H., Jochmans D., Posthuma C.C., Zevenhoven-Dobbe J.C., van Nieuwkoop S., Besteboer T.M., van den Hoogen B.G., Neyts J., Snijder E.J. Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2014, vol. 58, pp. 4875–4884.
17. Delang L., Abdelnabi R., Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res.*, 2018, vol. 153, pp. 85–94. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.03.003
18. European Medicines Agency. COVID-19: chloroquine and hydroxychloroquine only to be used in clinical trials or emergency use programmes. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-chloroquine-hydroxychloroquine-only-be-used-clinical-trials-emergency-use-programmes>
19. Falzarano D., de Wit E., Rasmussen A.L., Feldmann F., Okumura A., Scott D.P., Brining D., Bushmaker T., Martellaro C., Baseler L., Benecke A.G., Katze M.G., Munster V.J., Feldmann H. Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nat. Med.*, 2013, vol. 19, pp. 1313–1317. doi: 10.1038/nm.3362
20. Fludase — Experimental Antiviral Drug for Influenza. URL: <https://www.clinicaltrialsarena.com/projects/fludase>
21. Garcia Borrega J., Gödel P., Rüger M.A., Onur Ö.A., Shimabukuro-Vornhagen A., Kochanek M., Böll B. In the eye of the storm: immune-mediated toxicities associated with CAR-T cell therapy. *HemaSphere*, 2019, vol. 3, no. 2: e191. doi: 10.1097/HSP.0000000000000191
22. Holshue M.L., DeBolt C., Lindquist S., Lofy K.H., Wiesman J., Bruce H., Spitters C., Ericson K., Wilkerson S., Tural A., Diaz G., Cohn A., Fox L., Patel A., Gerber S.I., Kim L., Tong S., Lu X., Lindstrom S., Pallansch M.A., Weldon W.C., Biggs H.M., Uyeki T.M., Pillai S.K.; Washington State-nCoV Case Investigation Team. First case of 2019 novel Coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, pp. 929–936. doi: 10.1056/NEJMoa2001191
23. Keyaerts E., Vijgen L., Maes P., Neyts J., Van Ranst M. In vitro inhibition of severe acute respiratory syndrome coronavirus by chloroquine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, vol. 323, pp. 264–268. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.08.085
24. Marjuki H., Mishin V.P., Chesnokov A.P., De La Cruz J.A., Fry A.M., Villanueva J., Gubareva L.V. An investigational antiviral drug, DAS181, effectively inhibits replication of zoonotic influenza A virus subtype H7N9 and protects mice from lethality. *J. Infect. Dis.*, 2014, vol. 210, no. 3, pp. 435–440. doi: 10.1093/infdis/jiu105
25. Markham A., Keam S.J. Danoprevir: first global approval. *Drugs*, 2018, vol. 78, no. 12, pp. 1271–1276. doi: 10.1007/s40265-018-0960-0
26. McChesney E.W. Animal toxicity and pharmacokinetics of hydroxychloroquine sulfate. *Am. J. Med.*, 1983, vol. 75, pp. 11–18. DOI: 10.1016/0002-9343(83)91265-2
27. Mingo R.M., Simmons J.A., Shoemaker C.J., Nelson E.A., Schornberg K.L., D’Souza R.S., Casanova J.E., White J.M. Ebola virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus display late cell entry kinetics: evidence that transport to NPC1+ endolysosomes is a rate-defining step. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, pp. 2931–2943. doi: 10.1128/JVI.03398-14

28. Mulangu S., Dodd L.E., Davey R.T. Jr, Tshiani Mbaya O., Proschan M., Mukadi D., Lusakibanza Manzo M., Nzolo D., Tshomba Oloma A., Ibanda A., Ali R., Coulibaly S., Levine A.C., Grais R., Diaz J., Lane H.C., Muyembe-Tamfum J.J.; PALM Writing Group, Sivahera B., Camara M., Kojan R., Walker R., Dighero-Kemp B., Cao H., Mukumbayi P., Mbala-Kingebeni P., Ahuka S., Albert S., Bonnett T., Crozier I., Duvenhage M., Proffitt C., Teitelbaum M., Moench T., Aboulhab J., Barrett K., Cahill K., Cone K., Eckes R., Hensley L., Herpin B., Higgs E., Ledgerwood J., Pierson J., Smolskis M., Sow Y., Tierney J., Sivapalasingam S., Holman W., Gettinger N., Vallée D., Nordwall J.; PALM Consortium Study Team. A randomized, controlled trial of Ebola virus disease therapeutics. *N. Engl. J. Med.*, 2019, vol. 381, pp. 2293–2303. doi: 10.1056/NEJMoa1910993
29. Patel A.B., Verma A. COVID-19 and angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers. What is the evidence? *JAMA*, 2020. doi:10.1001/jama.2020.4812
30. Savarino A., Trani D., Donatelli I., Cauda R., Cassone A. New insights into the antiviral effects of chloroquine. *Lancet Infect. Dis.*, 2006, vol. 6, pp. 67–69. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70361-9
31. Schrezenmeier E., Dorner E. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2020, vol. 16, pp. 155–166. doi: 10.1038/s41584-020-0372-x
32. Sheahan T.P., Sims A.C., Leist S.R., Schäfer A., Won J., Brown A.J., Montgomery S.A., Hogg A., Babusis D., Clarke M.O., Spahn J.E., Bauer L., Sellers S., Porter D., Feng J.Y., Cihlar T., Jordan R., Denison M.R., Baric R.S. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat. Commun.*, 2020, vol. 11, no. 1: 222. doi: 10.1038/s41467-019-13940-6
33. Tchesnokov E., Feng Y., Porter D., Götte M. Mechanism of inhibition of Ebola virus RNA-dependent RNA Polymerase by remdesivir. *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 4: E326. doi: 10.3390/v11040326
34. Vincent M.J., Bergeron E., Benjannet S., Erickson B.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Seidah N.G., Nichol S.T. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virol. J.*, 2005, vol. 2: 69. doi: 10.1186/1743-422X-2-69
35. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
36. Yao T.T., Qian J.D., Zhu W.Y., Wang Y., Wang G.Q. A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus — a possible reference for coronavirus disease-19 treatment option. *J. Med. Virol.*, 2020. doi: 10.1002/jmv.25729
37. Yao X., Ye F., Zhang M., Cui C., Huang B., Niu P., Liu X., Zhao L., Dong E., Song C., Zhan S., Lu R., Li H., Tan W., Liu D. In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.*, 2020: ciaa237. doi: 10.1093/cid/ciaa237
38. Yazdany J., Kim A.H.J. Use of hydroxychloroquine and chloroquine during the COVID-19 pandemic: what every clinician should know. *Ann. Intern. Med.*, 2020. doi: 10.7326/M20-1334
39. Zhai P., Ding Y., Wu X., Long J., Zhong Y., Li Y. The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105955. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105955
40. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, vol. 579, no. 7798, pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

Автор:

Колбин А.С., д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии и доказательной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры фармакологии Медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия.

Author:

Kolbin A.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Pharmacology, Medical Faculty, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.

ЭТИЧЕСКИЙ КОММЕНТАРИЙ К COVID-19

О.И. Кубарь

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера на протяжении многих лет ведет научные исследования по теме «Этико-правовые аспекты инфекционной патологии». Одним из направлений данной работы стало изучение этической составляющей планирования и управления в период эпидемий и пандемий. Данная концепция приобретает исключительно актуальное звучание в ситуации развития пандемии коронавирусной инфекции COVID-19, что и определило острую необходимость экспресс-информирования по данному вопросу и анализа состояния соответствия предпринимаемых решений и действий этико-правовому регламенту РФ и международному стандарту действий в условиях чрезвычайных ситуаций эпидемического характера. Рационально-практическая сторона следования глобальной идеологии этической приверженности в период мировых угроз, вызванных распространением инфекционных заболеваний, призвана способствовать предотвращению нарушений целостности противоэпидемических мер, формированию социального единства и, в конечном итоге, обеспечить стабильность гуманитарных ценностей человечества. Этой проблеме посвящена данная работа.

Ключевые слова: этическая концепция, нормативное регулирование, пандемии, COVID-19.

ETHICAL COMMENTS ON COVID-19

Kubar O.I.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Over decades, the St. Petersburg Pasteur Institute has been conducting research on Ethical and legal aspects of infectious diseases. One of the areas in this study focuses on ethical issue in the planning and management during epidemics and pandemics. This concept becomes extremely relevant in the situation of the COVID-19 coronavirus pandemic, which has determined the urgent need for rapid updates on this issue and analyzing compliance of decisions and actions undertaken to ethical and legal regulations in Russia and abroad. The rational and practical side of following the global ideology of ethical commitment during worldwide threats due to spread of infectious diseases is aimed to facilitate in preventing violated integrity of anti-epidemic measures, formation of social unity and, finally, to ensure stability of human values, which will be discussed in this study.

Key words: ethical concept, legislation, pandemics, COVID-19.

Исключительное значение включения этического компонента в систему планирования противоэпидемических мероприятий и управления процессом их реализации при возникновении угроз и в ходе развития пандемий обусловлено

целым рядом объективных характеристик. Наиболее убедительным и неопровергимым фактором может служить многовековая историческая панорама эпидемий/пандемий инфекционных заболеваний и извлеченные из нее уроки [6].

Адрес для переписки:

Кубарь Ольга Иосифовна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: +8 (812) 233-21-56. Факс: +8 (812) 232-92-17.
E-mail: okubar@list.ru

Contacts:

Olga I. Kubar
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-21-56. Fax: +7 (812) 232-92-17.
E-mail: okubar@list.ru

Библиографическое описание:

Кубарь О.И. Этический комментарий к COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 287–294. doi: 10.15789/2220-7619-ECO-1447

© Кубарь О.И., 2020

Citation:

Kubar O.I. Ethical comments on COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 287–294.
doi: 10.15789/2220-7619-ECO-1447

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-ECO-1447>

Документальный ресурс этического регулирования

Относительно современной ситуации, вызванной COVID-19, символическим представляется то обстоятельство, что именно первая встреча мирового сообщества с тяжелой формой инфекции, обусловленной коронавирусом — SARS-2002, стала своеобразным сигналом к этическому осмыслинию и накоплению опыта этического реагирования на глобальные явления эпидемического характера. Документальным следствием данного процесса служит разработка в 2005 году объединенным центром по биоэтике (JCB) Университета Торонто (Канада) первого руководства по этическому планированию на период пандемий [30]. Объективность выводов и рекомендаций была основана на междисциплинарном подходе к изучению проблем здравоохранения при доминирующем значении оценок в области биоэтики. Следует отметить, что после разработки этических руководств JCB, международная практика подготовки к эпидемиям/пандемиям стала ориентироваться не только на достоверные научные данные и обоснованные принципы общественного здравоохранения, но и предусматривает процесс рассмотрения этических вопросов и ценностных приоритетов общества. В этой связи представляет интерес инициатива Университета Д. Хопкинса (США) по организации в июле 2006 г. в Италии съезда, посвященного вопросам социальной справедливости и гриппа [29]. В качестве следующего значимого события необходимо отметить «Руководство по вопросам этики в период пандемии гриппа», разработанное в феврале 2007 г. специальной подгруппой по этике CDC [26, 28, 31]. В качестве важного и нормативно-значимого результата следует считать тот факт, что все представленные выше исследования явились обоснованием для включения этического компонента при планировании действий ВОЗ в период угрозы пандемии гриппа [24]. Знаменательным событием также стало принятие объединенной сессией Международного и Межправительственного комитетов по биоэтике ЮНЕСКО Декларации по вопросу эпидемии, вызванной вирусом лихорадки Эбола (2014 г.) [23, 32]. Перечисление действующих документов этического реагирования на глобальный эпидемический процесс в контексте данного сообщения, значимо с той точки зрения, что к моменту развития COVID-19, уполномоченные на то международные структуры и международное сообщество в целом, обладало всем арсеналом принципов и алгоритмом действий в сфере социально-поведенческого реагирования [1, 4, 23, 25, 33].

В упомянутых выше стратегических руководствах в качестве приоритетных выделены четыре ключевые этические позиции, десять руководящих (основных) и пять процедурных принципов, которые необходимо учитывать при планировании работы в пандемию инфекционного заболевания с целью принятия этически выверенных решений [25, 30].

Приоритетная цель и логика данного сообщения основана на акценте соблюдения данных этических установок, что, в свою очередь, предусматривает их знание и правильную трактовку в условиях COVID-19. Ключевыми этически значимыми позициями, приверженность которым должна обязательно соблюдаться при составлении плана работ на период пандемии являются следующие: 1) обязательства и ответственность уполномоченных на то органов за организацию помощи населению в период вспышек заразных болезней; 2) возможность ограничительных мер по отношению к личной свободе в интересах общественного здоровья, что предусмотрено такой мерой, как введение карантина; 3) концентрация, управление и справедливое распределение всех имеющихся ресурсов; 4) солидарность и согласованность шагов на международном уровне в плане глобального управления ситуацией по регулированию мероприятий, связанных с перемещениями людей, в частности, туристических поездок. Следует отметить, что все заявленные позиции полноценно представлены в формате правового поля РФ на период действий в чрезвычайных ситуациях, нашли свое отражение в действующих отраслевых законах и включены в актуальную оперативную повестку принятия решений уполномоченными на то органами государственной власти, санэпиднадзора и здравоохранения РФ [8, 9, 10, 15].

В рамках развития указанных выше ключевых позиций разработан перечень и дано описание десяти руководящих принципов принятия этических решений, к которым причислены: право на личную свободу, защита от нанесения вреда, пропорциональность, право на защиту частной жизни, обязательства по оказанию медицинской помощи, взаимодействие, справедливость, доверие, солидарность и управление.

Практика применения этических принципов в условиях пандемии COVID-19

В аспекте приложения к реальной ситуации COVID-19, каждый из этих принципов предусматривает соответствующее понимание и действие. Так, этический принцип права на личную свободу при кризисных ситуациях в здра-

воохранении, к которым, безусловно, относится современная ситуация, может включать ограничения личной свободы с целью защиты всего общества (что предусмотрено законодательством РФ) [3, 10, 15]. При этом ограничения свободы следует производить пропорционально необходимости, уместно, с применением минимальных мер и справедливо. Реализация принципа защиты общества от нанесения вреда не исключает (и часто требует) действий уполномоченных государственных структур, связанных с вторжением в сферу личных свобод, что однозначно прописано в статье 11 «Меры и временные ограничения, применяемые при введении чрезвычайного положения» ФКЗ РФ № 3 «О чрезвычайном положении» от 30.05.2001 г. (в редакции от 03.07.2016 г.) и серия отраслевых законодательных актов, рассмотренных далее [15]. Совокупность всех прописанных в выше-названном Федеральном конституционном законе мер, применяемых в условиях чрезвычайного положения и влекущих за собой изменение (ограничение) установленных Конституцией РФ, федеральными законами и иными нормативными правовыми актами РФ полномочий федеральных органов исполнительной власти, законодательных (представительных) и исполнительных органов власти субъектов РФ, органов местного самоуправления, прав организаций и общественных объединений, прав и свобод человека и гражданина, должны осуществляться в тех пределах, которых требует острота создавшегося положения. Кроме того, проводимые меры должны соответствовать международным обязательствам, вытекающим из международных договоров РФ в области прав человека, и не должны повлечь за собой какую-либо дискриминацию отдельных лиц или групп населения исключительно по признакам пола, расы, национальности, языка, происхождения, имущественного и должностного положения, места жительства, отношения к религии, убеждений, принадлежности к общественным объединениям, а также по другим обстоятельствам.

В условиях COVID-19 отмечены различные социально-поведенческие реакции, выражющиеся в противодействии ограничительным мерам, в том числе нарушение правил карантина (бег из стационаров, инфицированных коронавирусом лиц, несоблюдение мер самоизоляции при контакте и другие нарушения, например, в специальных условиях учреждений службы исполнения наказаний РФ). Подобное можно трактовать, как заведомое создание ситуации опасности для третьих лиц, что, в свою очередь, влечет за собой применение санкций, предусмотренных действующим законодательством РФ (в частности, мер административного воздействия в порядке судебного производства

по ч. 1 ст. 19.5 КоАП РФ). При этом ответственность за нарушение требований режима чрезвычайного положения равномерно распределяется на граждан, должностных лиц и организации. Мера ответственности устанавливается в соответствии со статьей № 32 Федерального конституционного закона о чрезвычайном положении, а также частью 2 статьи 50 Федерального закона от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» и оперативными нормативными документами, принимаемыми в кризисный период [8, 13, 16].

Порядок применения указанных нормативных правил определен фактом объявления ВОЗ пандемии коронавирусной инфекции 11 марта 2020 года. С этого момента вступает в силу принцип ответственности любого государства — члена ВОЗ за уведомление о конкретных инфекционных заболеваниях и соблюдение мер по их локализации в соответствии с международными медико-санитарными правилами ВОЗ [5]. Международным регламентом установлена тесная взаимосвязь ответственности каждого конкретного государства (в лице своих структур) и исполнения универсального принципа уважения автономии и прав человека. Ответственность государства исходит из природы международно-правовой системы, которая опирается на государство как на средство формирования и применения своих правил и руководствуется двойной доктриной государственного суверенитета и равенства государств [31].

С точки зрения этической концепции подобная ситуация имеет заданный механизм управления на начальном и на конечном этапах. Так, принятие решений, предусматривающих вторжение в сферу личных свобод и их ограничение, должно включать взвешенность императивных мер по достижению согласия на их проведение, обоснование и предоставление обществу причин подобных мер, а также создание механизма мониторинга принятых решений и шагов в данной сфере. Примером такого подхода может служить ретроспективная оценка потенциально достижимой пользы для здравоохранения от входного и выходного скрининга авиапассажиров в ходе пандемии гриппа A(H1N1) в 2009 г., проведенная спустя 2 года после пандемии и явившиеся безусловным аргументом эпидемической целесообразности и, одновременно, поводом для совершенствования гуманитарных подходов [27]. В целом необходимо учитывать, что мероприятия, связанные с мониторингом, в той же мере, как и включение механизма оперативных корректировок, требуют специальных разработок с обязательным учетом факторов социальной психологии и этического наполнения, что еще не заявлено

в перечне действующих документов по пандемии COVID-19.

Говоря о соблюдении пропорциональности мер по ограничению личной свободы и, тем самым, защиты общества от нанесения вреда, следует четко придерживаться основного правила — не переходить границы того, что действительно оправдано актуальным уровнем риска или критической необходимостью для всего общества. Право индивидуума на сохранность частной информации может быть не принято во внимание в кризисных условиях пандемии, если соблюдение данного права сопряжено с необходимостью защиты общества от серьезного вреда [3].

Обязательства по оказанию медицинской помощи и сочувствие страданиям являются неотъемлемой частью всех профессиональных кодексов по этике в медицине. Работники здравоохранения должны адекватно оценить требования к своей профессиональной роли в сравнении с другими обязательствами, существующими по отношению к собственному здоровью, своей семье и другим обстоятельствам, выходящим за рамки профессионального долга. Кроме того, работники здравоохранения сталкиваются с существенным вызовом, связанным с распределением наличных ресурсов, возможностями имеющейся практики, профессиональным долгом и условиями деятельности. Уникальная приверженность медицинских работников своей профессии во всем мире в период пандемии COVID-19, по праву может служить примером гражданского подвига и, одновременно, посылом и надеждой к формированию объективной платформы развития медицинской науки и практики в будущем.

При этом чрезвычайно важно, что соблюдение принципа взаимодействия требует от общества поддержки тех, кто несет несоразмерное бремя по защите общественных интересов и предпринимает все необходимые шаги по минимизации этого бремени. Меры по защите общественных интересов как бы налагают непропорциональное бремя ответственности на работников здравоохранения. Справедливость в контексте соблюдения этических норм в здравоохранении представляет собой закрепленное за каждым пациентом право на получение необходимой ему медицинской помощи. При этом отличие соблюдения данного права в обычных условиях медицинской практики и в период пандемии заключается в том, что в ситуации пандемии применим и должен действовать четкий критерий (стандарт) выбора именно того вида первой медицинской помощи, которую необходимо и следует оказать пациенту в обязательном порядке. В зависимости от серьезности кризиса в состоянии здоровья, может быть

сокращен не только объем элективных оперативных вмешательств, но и лимитировано оказание неотложной или необходимой медицинской помощи [10, 14].

В этих условиях доверие становится неотъемлемым компонентом взаимоотношений врача и пациента, сотрудников и их организаций, гражданского общества и уполномоченных на то органов здравоохранения, а также основой взаимодействия последних внутри самой системы здравоохранения. Организаторы здравоохранения, ответственные за принятие решений, стоят перед необходимостью завоевания доверия к своим действиям/решениям одновременно с внедрением различных контрольных мер в период развития кризисных ситуаций в здравоохранении. Особый этический вызов в период пандемии, безусловно, связан с фактором формирования доверия населения и достижения согласованности и сотрудничества между медицинскими работниками и гражданским обществом. Очевидно, что доверие строится на многокомпонентном и долгосрочном опыте оценки населением качества медицинских услуг и социальной защиты, что диктует непременное требование стабильного и гарантированного совершенствования системы здравоохранения в перспективе вне зависимости от кризисных ситуаций. Эпидемии/пандемии наглядно отражают несовершенство существующих систем общественного здравоохранения, что продемонстрировала и текущая ситуация COVID-19 в мировом масштабе.

Помимо гарантий государства в отношении качества медицинской продукции и услуг, непременным условием формирования доверия является качество информационного сопровождения всех противоэпидемических мероприятий. Сам факт необходимости информирования населения об угрозах, связанных с эпидемией/пандемией, и мерах защиты обязан занимать ответственное место в оперативных документах уполномоченных служб санэпиднадзора и здравоохранения. Однако ситуация по информированию COVID-19 в СМИ однозначно выяснила проблему отсутствия знаний и/или несоблюдения этических принципов информирования, в частности дефицит журналистской этики. Подборка информационных блоков, особенно на раннем этапе информирования о развитии эпидемии, была направлена на демонстрацию неоправданной эффективности сюжета, без соблюдения принципов объективности, полноты, баланса пользы и риска и доступности понимания материала различными контингентами. Информационные блоки не избежали полярных позиций: факторов запугивания или формирования излишней безопасности, что определялось персональной (как

правило, непрофессиональной) позицией говорящего. Эти факторы имеют принципиальное значение и им следует уделить особое сосредоточенное внимание, поскольку в условиях законодательно определенного принципа информированного согласия в системе общественного здравоохранения нашей страны [20], именно от качества данной/полученной отдельным индивидуумом и/или обществом информации зависит понимание, принятие и последующее действие, что в конечном итоге и определяет успех противоэпидемических и медицинских мероприятий при управлении кризисными ситуациями в здравоохранении (в частности, формирует принятие и соблюдение карантинных и других ограничительных мер).

Касательно другого приоритетного принципа, которым является солидарность, необходимо отметить академическую и историческую целостность данного этического канона. По словам лауреата Нобелевской премии 1928 г. французского ученого Шарля Николя: «...знакомство с заразными болезнями вызывает у людей представление о связи и солидарности между ними; мы объединены общей угрожающей нам опасностью и этого одного соображения, материалистического, эгоистического, достаточно, чтобы люди прекратили свои собственные раздоры и братски объединились против общего врага...» [7]. Эта истина была подтверждена на опыте многолетней борьбы с инфекциями [23]. Однако, в современном мире, развитие пандемии требует формирования нового взгляда на процесс глобальной солидарности и солидарности наций. В глобальном масштабе пандемия бросает вызов идеям национального суверенитета, секретности и обособленности территорий. На региональном и национальном уровне, пандемия требует солидарных и согласованных действий внутри и между различными учреждениями, призывает к пересмотру традиционной ценности собственных или территориальных интересов. Эти идеи прописаны во всех действующих документах структур ООН: ЮНЕСКО и ВОЗ, однако практика действий в период COVID-19 зачастую демонстрирует обратное, что в будущем потребует тщательного анализа и оценки.

Отдельным и сугубо важным моментом в области этической концепции управления пандемией является четкая и адресная направленность всех требований к тем лицам, на которых возложены функции управления. Неотъемлемыми условиями, предъявляемыми к статусу управления, являются этическое поведение, правдивость, формирующая доверие, и способность к правильным решениям. Под этим следует понимать, что решение, например, касающееся ресурсов, должно быть оп-

тимальным в плане здоровья конкретного пациента и всей системы здравоохранения в критических условиях пандемии.

Соответствие законодательства РФ этическим принципам, обосновывающим решения и действия в условиях пандемии

Подробное рассмотрение существа этических принципов планирования в период глобальных эпидемий/пандемии позволяет проследить целостность и достаточность законодательного и ведомственного обеспечения возможности соблюдения этих принципов в РФ. Объединенный взгляд на способность системы здравоохранения РФ следовать условиям обеспечения права на личную свободу, защиту от нанесения вреда, права на защиту частной жизни в условиях кризисных ситуаций, а также исполнение других гуманитарных норм, определенных пандемией, показывает наличие адекватного нормативного поля. Основной закон страны, каковым является Конституция РФ, провозглашает государственную защиту достоинства личности и недопустимость его умаления. При этом человек, его права и свободы являются, согласно ст. 2 действующей Конституции РФ, высшей ценностью [3]. Основами законодательства института врачебной тайны, а также института личной и семейной тайны, предусмотренного ст. 23 Конституции РФ и ст. 19 Федерального закона № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», закрепляется право на защиту частной жизни [20]. Гарантия защиты персональных данных обеспечена Федеральным законом РФ «Об информации, информационных технологиях и о защите информации» от 27.07.2006 г. и Федеральным законом РФ «О персональных данных» [12, 18]. Правовые нормы, регулирующие специфику институтов информированного согласия и врачебной тайны в специальных ситуациях оказания медицинской помощи, нашли отражение в таких нормативных актах, как Федеральный закон РФ № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» (1999 г.), Федеральный закон № 157-ФЗ «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней» (1998 г.) и Федеральный закон № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (2011 г.) [13, 17, 20]. Возможность оперативного управления в период пандемии обеспечена конституционно закрепленным статусом критических ситуаций, когда интересы общества ставятся выше интересов отдельных людей. Эти ситуа-

ции законодательно прописаны в п. 1, ст. 56 Конституции РФ, где предусмотрено, что «...в условиях чрезвычайного положения для обеспечения безопасности граждан и защиты конституционного строя в соответствии с федеральным конституционным законом могут устанавливаться отдельные ограничения прав и свобод с указанием пределов и срока их действия». В ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (ст. 20, п. 9, 10; ст. 27) уточнены условия оказания медицинской помощи без согласия граждан и их обязанности: «...Медицинское вмешательство без согласия гражданина, одного из родителей или иного законного представителя допускается: ...в отношении лиц, страдающих заболеваниями, представляющими опасность для окружающих...». Федеральный закон РФ «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» прописывает все санитарно-ограничительные позиции в специальной статье (ст. 31) «Ограничительные мероприятия (карантины»). В данной статье четко указаны факторы, определяющие введение ограничительных мер, круг должностных лиц и органов власти РФ, имеющих право внести предложение о введении ограничительных мер, а также порядок введения этих мер. Полномочия и ответственность органов государственной власти по обеспечению санитарной охраны территории РФ путем введения и отмены на территории РФ карантина и осуществления санитарно-карантинного контроля на государственной границе РФ, а также международного сотрудничества и заключения договоров в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, прописаны в другой статье данного закона (ст. 5) [13]. В плане следования этическим подходам при проведении санитарно-противоэпидемических мероприятий также заслуживает рассмотрения нормативно закрепленное право граждан РФ на получение достоверной информации о факторах, оказывающих вредное влияние на здоровье, включая информацию о санитарно-эпидемиологическом благополучии. Так, в период пандемий, проведение мероприятий по предупреждению заноса и ограничению распространения случаев болезни при осуществлении международного туризма должно строиться на основании требований к выполнению ст. 14 Федерального закона «Об основах туристической деятельности в Российской Федерации» и ст. 10 Федерального закона «Об защите прав потребителей» в части права на получение полной и достоверной информации о туристическом продукте, то есть в случае эпидемической ситуации — об опасности повышенного риска по инфекционным заболеваниям [11, 21]. Исполнение обязательств

по оказанию медицинской помощи населению не только закреплено Конституцией РФ как неизменное право граждан, но и предусматривает финансовую ответственность государства в период кризисных эпидемических ситуаций. Федеральный закон «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней» гласит, что «...финансовое обеспечение противоэпидемических мероприятий, осуществляемых в целях предупреждения, ограничения распространения и ликвидации инфекционных болезней, а также проведение профилактических прививок, включенных в национальный календарь является расходным обязательством РФ» (глава III, ст. 6). Нормы и порядок деятельности на период чрезвычайных ситуаций, каковой является пандемия коронавирусной инфекции, находится в формате исполнения положений, прописанных в главе VI «Гарантии прав граждан и ответственность граждан и должностных лиц в условиях чрезвычайного положения» [17].

Отрадно отметить, что в законодательстве РФ нашло отражение этическое понимание принципа взаимодействия путем поддержки тех, на кого возложено максимальное бремя ответственности по защите общественных интересов. Так в ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» этим вопросом посвящена глава 9 «Медицинские работники и фармацевтические работники, медицинские организации» [20]. Данное положение основано на конституционно закрепленном праве каждого человека «...на труд в условиях, отвечающих требованиям безопасности...» (п. 3, ст. 37 Конституции РФ) [3]. Эти условия определили характер современных оперативных актов и постановлений Правительства РФ при COVID-19 в части, касающейся защиты и поощрения медицинских работников [22].

В плане сочетанного исполнения принципов солидарности, справедливости и управления, специального внимания заслуживает профессиональное наполнение данных этических норм. По результатам анализа действующих стандартов и стратегии производства и применения новых средств и методов диагностики, лечения и профилактики, а также других значимых характеристик планирования и управления, обязательным является включение параметра сопоставления риска/пользы от потенциальных решений и действий [14, 19]. Приоритет целостного подхода, включающего равноценную значимость медицинской и этической сторон оказания экстренной помощи тяжелым больным из групп риска в период COVID-19, был убедительно продемонстрирован академиком РАН А.Г. Чучалиным, председателем Российского комитета по биоэтике при комиссии РФ по делам ЮНЕСКО, в актуаль-

ном интервью «Пневмонии–2020» телеканалу «1MEDtv» от 13 марта 2020.

Помимо гарантий государства в отношении качества медицинской продукции и услуг, непременным условием формирования доверия является качество информационного сопровождения всех противоэпидемических мероприятий. Факт необходимости информирования населения об угрозах, связанных с пандемией, и мерах защиты находит место во всех оперативных документах РФ. Однако, как было отмечено выше, в отдельных случаях отсутствует проработка и контроль этических принципов распространения информации в СМИ и в Интернете, что определяет перспективы по совершенствованию данного компонента подготовки и управления кризисными ситуациями в здравоохранении.

С точки зрения адекватного ресурсного обеспечения одним из наиболее критичных моментов, также продемонстрированных в условиях современной эпидемической ситуации и однозначно требующих последующего углубленного анализа и поиска решений, является

социальная и гуманитарная зависимость перспективных научно-технических разработок, что предполагает укрепление усилий научного сообщества по созданию отечественного арсенала средств и методов защиты в рамках приоритетных государственных проектов.

Заключение

Резюмируя материалы, представленные в данном сообщении, можно констатировать, что цель достижения этической целостности решений и действий на всех уровнях управления в чрезвычайной ситуации эпидемии/пандемии инфекционного заболевания, зиждется на следовании принципам социальной ответственности, солидарности, открытости, обоснованности и подотчетности гражданскому обществу. Только приверженность этим нравственным основам и их включение в комплекс санитарно-эпидемических, медицинских, экономических, правовых, административных и социальных технологий, способны обеспечить успех и предотвратить необоснованные риски.

Список литературы/References

- Илесанми М.А. Пандемии и проблемы ограничения прав человека // Юрист, 2018. № 8. С. 59–65. [Ilesanmi M.A. Pandemics and problems of restricting human rights. *Yurist = Lawyer*, 2018, no. 8, pp. 59–65. (In Russ.)]
- Клинико-экономические исследования. Общие положения: Отраслевой стандарт (ОСТ 91500.14.0001-2002), утв. Приказом Минздрава РФ от 27.05.2002 № 163. [Clinical and economic research. General provisions: Industry standard (OST 91500.14.0001-2002), approved. Order of the Ministry of health of the Russian Federation from 27.05.2002 No. 163]
- Конституция (Основной закон) Российской Федерации. М., 2001. 39 с. [Constitution (Basic law) of the Russian Federation. Moscow, 2001. 39 p.]
- Кубарь О.И., Асатрян А.Ж. Этическая составляющая планирования и управления в период эпидемий и пандемий. В кн.: Этика инфекционной патологии. Под общей ред. О.И. Кубарь. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2014. С. 61–72. [Kubar O.I., Asatryan A.Zh. Ethical component of planning and management in the period of epidemics and pandemics. In the book: Ethics of infectious pathology. Ed. O.I. Kubar. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2014, pp. 61–72. (In Russ.)]
- Международные медико-санитарные правила WHO/Epid/44, 1950 (2005 г.) (одобрены 58-й сессией Всемирной ассамблеи здравоохранения от 23 мая 2005 г.), страница 7. Глава III. Комитет по обзору. Статья 50. Круг ведения и состав. [International health regulations WHO/Epid/44, 1950 (2005) (approved by the 58th session of the world health Assembly on May 23, 2005), page 7. Chapter III. The review Committee. Article 50. Terms of reference and composition]. URL: <http://base.garant.ru/2565137/7/#ixzz5251b0xGk>
- Микиртичан Г.Л. Исторический аспект этико-правовых отношений в инфекционной патологии. В кн.: Этика инфекционной патологии. Под общей ред. О.И. Кубарь. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2014. С. 8–40. [Mikirtichian G.L. Historical aspect of ethical and legal relations in infectious pathology. In: Ethics of infectious pathology. Ed. O.I. Kubar. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2014, pp. 8–40. (In Russ.)]
- Николь Ш. Эволюция заразных болезней. М.–Л.: Государственное изд-во биологической и медицинской литературы, 1937. 139 с. [Nicolle Ch. Evolution of infectious diseases. Moscow–Leningrad: State publishing house of biological and medical literature, 1937. 139 p. (In Russ.)]
- О введении дополнительных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мер, направленных на недопущение возникновения и распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Постановление Федеральной службы исполнения наказаний (ФСИН) России. [On the introduction of additional sanitary and anti-epidemic (preventive) measures aimed at preventing the emergence and spread of a new coronavirus infection (COVID-19): Resolution of the Federal penitentiary service (FSIN) of Russia]
- О дополнительных мерах по снижению рисков завоза и распространения новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV): Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 13.03.2020 № 6. [On additional measures to reduce the risks of importation and spread of a new coronavirus infection (2019-nCoV): Resolution of the chief of the state sanitary department of the Russian Federation of 13.03.2020 No. 6]
- О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера: Федеральный закон от 21.12.1994 г. № 68-ФЗ (ред. от 03.07.2019) [On protection of the population and territories from emergencies of natural and technogenic character: Federal law of 21.12.1994 No. 68 (ed. from 03.07.2019)]

11. О защите прав потребителей: Закон РФ от 07.02.1992 № 2300-1 (ред. от 18.07.2019) [On the protection of consumer rights: law of the Russian Federation from 07.02.1992 No. 2300-1 (ed. from 18.07.2019)]
12. О персональных данных: Федеральный закон от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 31.12.2017) [On personal data: Federal law of 27.07.2006 No. 152-FZ (ed. from 31.12.2017)]
13. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения: Федеральный закон от 30.03.1999 г. № 52-ФЗ (ред. от 26.07.2019) [On the sanitary and epidemiological welfare of the population: Federal law No. 52-FZ of 30.03.1999 (ed. from 26.07.2019)]
14. О техническом регулировании: Федеральный закон от 27.12.2002.
15. № 184-ФЗ (ред. от 28.11.2018) [On technical regulation: Federal law of 27.12.2002 No. 184-FZ (ed. from 28.11.2018)]
16. О чрезвычайном положении: Федеральный конституционный закон от 30.05.2001 № 3-ФКЗ (ред. от 03.07.2016) [On the state of emergency: Federal constitutional law of 30.05.2001 No. 3-FKZ (ed. from 03.07.2016)]
17. Об изоляции, медицинском обследовании (или) медицинском наблюдении, госпитализации: Постановление Управления федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу № 78-03-09/72-2020 [On isolation, medical examinations (or) medical supervision, hospitalization: Resolution of the Federal service for supervision of consumer protection and human welfare Saint Petersburg No. 78-03-09/72-2020]
18. Об иммунопрофилактике инфекционных болезней: Федеральный закон от 17.09.1998 № 157-ФЗ (ред. от 28.11.2018) [On immunoprophylaxis of infectious diseases: Federal law of 17.09.1998 N 157-FZ (ed. from 28.11.2018)]
19. Об информации, информационных технологиях и о защите информации: Федеральный закон от 27.07.2006 № 149-ФЗ (ред. от 02.12.2019) [On information, information technologies and information protection: Federal law of 27.07.2006 No. 149-FZ (ed. from 02.12.2019)]
20. Об обращении лекарственных средств: Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ. (ред. от 27.12.2019) [On the circulation of medicines: Federal law of 12.04.2010 No. 61-FZ (ed. from 27.12.2019)]
21. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: Федеральный закон от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ (ред. от 27.12.2019) [On the basis of public health protection in the Russian Federation: Federal law No. 323-FZ of 21.11.2011 (ed. from 27.12.2019)]
22. Об основах туристской деятельности в Российской Федерации: Федеральный закон от 24.11.1996 № 132-ФЗ (ред. от 02.12.2019) [On the bases of tourist activity in the Russian Federation: Federal law of 24.11.1996 No 132-FZ (ed. from 02.12.2019)]
23. Распоряжение Правительства РФ от 16 марта 2020 г. № 635-р. [Order of the Government of the Russian Federation No. 635-R of March 16, 2020.]
24. Этика инфекционной патологии. Под общей ред. О.И. Кубарь. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2014. 116 с. [Ethics of infectious pathology. Ed. O.I. Kubar. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2014. 116 p. (In Russ.)]
25. Addressing ethical issues in pandemic influenza planning. World Health Organization. URL: http://www.who.int/ethics/influenza_project/en
26. Den Exter A.P. International health law and ethics: basic documents. Maklu Pub., 2009. 487p.
27. Ethical guidelines in pandemic influenza, prepared by ethics subcommittee of the advisory committee to the director. CDC February 15, 2007. URL: <http://www.cdc.gov/od/science/phc/panFlu-Ethic-Guidelines.pdf>
28. Khan K., Eckhardt R., Brownstein J.S., Naqvi R., Hu W., Kosowsky D., Scales D., Arino J., MacDonald M., Wang J., Sears J., Cetron M.S. Entry and exit screening of airline travelers during the A(H1N1) 2009 pandemic: a retrospective evaluation. Bull. WHO, 2013, vol. 91, no. 1–6, pp. 368–376.
29. Kinlaw K., Barrett D.H., Levine R.J. Ethical guidelines in pandemic influenza: recommendations of the Ethics subcommittee of the advisory committee of the director, centers for disease control and prevention disaster. Med. Public Health Prep., 2009, no. 3, suppl. 2, pp. 185–192.
30. Social Justice and Influenza. Bellagio/Italy, July 2006. URL: <http://www.uninfluenza.org/node/82>
31. Stand on Guard for Thee. Ethical considerations in preparedness planning for pandemic influenza. A report of the University of Toronto Joint Centre for Bioethics. November 2005. URL: http://www.jointcentreforbioethics.ca/people/documents/upshur_stand_guard.pdf
32. Stockpiling antivirals for pandemic influenza: the key ethical principles, prepared by ethics subcommittee of the advisory committee to the director. CDC November 28, 2007.
33. UNESCO 21 Join Session IBC and IGBC, Paris, France, 8-12 September 2014. URL: <http://www.unesco.org>
34. United Nations, International Law Commission, Report on the work of its fifty-third session (23 April – 1 June and 2 July – 10 August 2001), General Assembly, Official Records, Fifty-fifth Session, and Supplement No. 10 (a/56/10). URL: <http://www.un.org/law/ilc>

Автор:

Кубарь О.И., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; член Российской комиссии по биоэтике (РКБ) при Комиссии РФ по делам ЮНЕСКО МИД РФ, Москва, Россия; экс-член Международного комитета по биоэтике (МКБ) ЮНЕСКО.

Author:

Kubar O.I., PhD, MD (Medicine), Professor; Leading Researcher, Department of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Member of the Russian Committee on Bioethics, Commission of the Russian Federation for UNESCO, Ministry of Foreign Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russia; ex-member of the UNESCO International Committee on Bioethics.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИМИ МУТАНТАМИ ВИРУСА ГРИППА

**С.Г. Маркушин, Н.К. Ахматова, В.Н. Столпникова, И.И. Акопова, А.А. Ртищев,
Е.О. Калиниченко**

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Резюме. Путем прямого введения ts-мутаций из генов, кодирующих белки полимеразного комплекса ряда холдоадаптированных штаммов — доноров аттенуации вируса гриппа в геном вирулентного штамма A/WSN/33 (H1N1), были получены сайт-специфические мутанты — кандидаты в живые гриппозные вакцины. В данном сообщении представлены результаты сравнительного исследования отдельных звеньев иммунной системы мышей, иммунизированных интраназально мутантами и классическим холдоадаптированным реассортантом, полученным путем скрещивания холдоадаптированного штамма — донора A/Краснодар/101/35/59 (H2N2) со штаммом A/WSN/33 (H1N1), имеющим сходные поверхностные антигены (гемагглютинин и нейраминидазу) с мутантами. Изучение иммунофенотипа мононуклеарных лейкоцитов иммунизированных мышей свидетельствовало об умеренном супрессирующем влиянии сайт-специфических мутантов и ХА реассортанта на отдельные субпопуляции иммунотропных клеток. Все исследуемые вирусы индуцировали у иммунизированных мышей активацию ряда субпопуляций лимфоцитов, включая МНС II-позитивные клетки, CD45⁺/CD19⁺ В-лимфоциты и натуральные киллеры (CD16/32⁺/CD3⁻). Сроки и степень активации отдельных субпопуляций значительно отличались. У мышей, иммунизированных мутантами M26 и U2, наблюдалось наиболее активное повышение количества CD16/32⁺/CD3⁻ экспрессирующих клеток на вторые сутки после второй иммунизации по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что может указывать на важную роль натуральных киллеров в активации иммунного ответа. В отношении субпопуляций CD4⁺/CD25⁺/Fox P3 регуляторных клеток, CD4⁺ Т-хелперов и CD8⁺ цитотоксических лимфоцитов существенных изменений на протяжении всего срока наблюдений не отмечалось, за исключением резкого снижения количества активированных CD4⁺/CD25⁺ клеток (в 4 раза) на седьмые сутки после второй иммунизации мышей мутантом M26. Мутанты U2 и M26 вызывали более умеренное повышение TLR2- и TLR4-позитивных клеток. Исследуемые вирусы оказывали неоднозначное влияние на количество TLR9-экспрессирующих клеток у иммунизированных животных. Все исследованные вирусы повышали фагоцитарную активность макрофагов, но не нейтрофилов. Несмотря на умеренную активацию исследованных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета, сайт-специфические мутанты активнее воздействовали на гуморальные реакции, индуцируя нарастание ти-

Адрес для переписки:

Маркушин Станислав Георгиевич
115088, Россия, Москва, 1-я Дубровская ул., 15,
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 (495) 674-02-47.
E-mail: s.g.markushin@rambler.ru

Contacts:

Stanislav G. Markushin
115088, Russian Federation, Moscow, 1st Dubrovskaya str., 15,
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera.
Phone: +7 (495) 674-02-47.
E-mail: s.g.markushin@rambler.ru

Библиографическое описание:

Маркушин С.Г., Ахматова Н.К., Столпникова В.Н., Акопова И.И.,
Ртищев А.А., Калиниченко Е.О. Исследование отдельных звеньев
иммунной системы мышей, иммунизированных сайт-специфическими
мутантами вируса гриппа // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2.
С. 295–304. doi: 10.15789/2220-7619-EIA-1175

Citation:

Markushin S.G., Akhmatova N.K., Stolpnikova V.N., Akopova I.I.,
Rtishchev A.A., Kalinichenko E.O. Examining immune arms in mice
immunized with site-specific influenza virus mutants // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2,
pp. 295–304. doi: 10.15789/2220-7619-EIA-1175

тров антител, причем иммуногенность мутантов была выше, чем иммуногенность холодаадаптированного реассортанта. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования сайт-специфических мутантов в качестве живых гриппозных вакцин.

Ключевые слова: вирус гриппа, сайт-специфические мутанты, аттенуация, иммуногенность, субпопуляции лимфоцитов, Toll-подобные рецепторы, фагоцитоз.

EXAMINING IMMUNE ARMS IN MICE IMMUNIZED WITH SITE-SPECIFIC INFLUENZA VIRUS MUTANTS

Markushin S.G., Akhmatova N.K., Stolpnikova V.N., Akopova I.I., Rtishchev A.A., Kalinichenko E.O.

Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Abstract. Site-specific mutants as candidates for live influenza vaccines were resulted from directly introducing into the genome of the pathogenic influenza virus A/WSN/33 (H1N1) strain ts mutations derived from the genes encoding the polymerase complex proteins from some cold-adapted strains serving as attenuation donor. Here we present the data of a comparative study examining immune system arms in mice immunized intranasally with influenza virus mutants and classical cold-adapted reassortant obtained by crossing cold-adapted strain Donor A/Krasnodar/101/35/59 (H2N2) with strain A/WSN/33 (H1N1) bearing surface antigens (hemagglutinin and neuraminidase) similar to mutants. Immunophenotyping mononuclear leukocytes from immunized mice indicated at moderate suppressive effect after using site-specific mutant and the HA reassortant viruses on some immune cell subsets. All viruses in immunized mice resulted in activation of certain lymphocyte subsets including MHC II-positive cells, CD45⁺/CD19⁺ B lymphocytes and natural killer cells (CD16/32⁺/CD3⁻). Timescale and magnitude of activation markedly differed for each cell subsets. Mice immunized with mutants M26 and U2 peaked with count of CD16/32⁺/CD3⁻ expressing cells on day 2 after the second immunization compared with control ($p < 0.05$) that may suggest about an important role for NK cells in activating immune response. In contrast, no significant changes were observed during the study in percentage of CD4⁺/CD25⁺/Fox P3 regulatory T cells, CD4⁺ T helpers and CD8⁺ cytotoxic cells, except for a sharply decreased count of activated CD4⁺/CD25⁺ cells (4-fold) on day 7 after immunization with mutant virus M26. Moreover, mutants U2 and M26 more moderately increased percentage of TLR2- and TLR4-positive cells. The viruses studied ambiguously affected count of TLR9-expressing cells in immunized animals. All viruses increased phagocytic activity in monocytes, but not neutrophils. Despite the moderate activation of innate and adaptive immunity arms, site-specific mutants more profoundly affected humoral reactions inducing increased antibody titers, so that immunogenicity of mutant viruses was higher than that of the cold-adapted reassortant. Thus, the findings hold a promise of using site-specific mutants as live influenza vaccines.

Key words: influenza virus, site-specific mutants, attenuation, immunogenicity, subpopulations of leukocytes, Toll-like receptors, phagocytosis

Введение

Введение в практику получения гриппозных живых вакцин генно-инженерных подходов может значительно оптимизировать отдельные этапы этого процесса. В частности, в последнее время большой интерес среди исследователей вызывает подход, предполагающий прямое включение ts-мутаций, взятых из генома холодаадаптированных (ХА) штаммов — доноров аттенуации в геном актуального эпидемического штамма вируса гриппа [4, 5, 8, 9]. Полученные данные свидетельствуют о том, что аттенуированные варианты вируса гриппа, полученные с помощью сайт-специфического мутагенеза, индуцируют при иммунизации более высокий гуморальный ответ и обладают более высокой эффективностью в опытах при гомологичном и гетерологичном контролльном заражении [6, 12]. Однако молекулярно-клеточные основы высокой эффективности сайт-специфических мутантов вируса гриппа оста-

ются неизученными. В данной работе на модели сайт-специфических мутантов штамма А/WSN/33, имеющих различное количество мутаций в генах, кодирующих белки полимеразного комплекса и их различное распределение в этих генах, мы попытались исследовать влияние интраназальной иммунизации данными мутантами на отдельные звенья иммунного ответа мышей, взяв в качестве объекта сравнения ХА реассортант, полученный путем скрещивания ХА штамма А/Краснодар/101/35/59 (H2N2) и вирулентного штамма А/WSN/33 (H1N1) и имеющий общие поверхностные антигены с сайт-специфическими мутантами.

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали сайт-специфические мутанты штамма А/WSN/33 вируса гриппа [1, 6]. Мутант M26 имел 3 ts-мутации в PB1-гене, полученные из генома ХА штамма А/Энн Арбор/6/60 (К 391 Е,

Е 581 G, E 457 D), мутацию V 290 L в PB2-гене, полученную из генома XA штамма A/Краснодар/101/35/59, и мутацию F 658 A в PA-гене. Мутант U2 имел 3 мутации в PB2-гене, полученные из генома XA штаммов A/Энн Арбор/6/60, A/Краснодар/101/35/59 и A/Ленинград/134/17/57 (V 290 L, V 478 L, N 265 S соответственно). Мутант LAK2 имел 2 мутации в PB2 гене, полученные из генома XA штаммов A/Ленинград/134/17/57 и A/Краснодар/101/35/59 (V 478 L, V 290 L соответственно). В работе также был использован XA реассортант, имеющий 6 «внутренних» генов от XA штамма A/Краснодар/101/35/59 и 2 гена, кодирующие поверхностные белки HA и NA от штамма A/WSN/33. Все использованные в работе вирусы поддерживали путем пассажей в 10–11-дневных куриных эмбрионах.

Сравнительное исследование иммуногенности сайт-специфических мутантов и XA реассортанта. В работе использовали беспородных мышей (самки, вес 10–12 г) из питомника РАН «Андреевка». Группы мышей были интраназально иммунизированы двукратно дозой 10^5 ЭИД₅₀. Инфекционный материал вводился мышам в объеме 50 мкл под легким эфирным наркозом. Мышам контрольной группы двукратно вводили физраствор. Через 10 дней после второй иммунизации у мышей брали кровь и определяли титр антител, ингибирующих гемагглютинацию.

Оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов. Через 7 суток после первой и на 2-е и 7-е сутки после второй иммунизации у животных осуществляли тотальное взятие крови под эфирным наркозом. В каждой группе было использовано по 14 животных. Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител (МКА) (eBioscience, США) против клеточных антигенов. Кровь инкубировали в присутствии FITC- и PE-меченных антител согласно инструкции производителя. Эритроциты разрушали с помощью лизирующего раствора «Optilyse» (eBioscience, США). Затем клетки два раза отмывали холодным ФСБ. Результаты учитывали на проточном цитометре «Cytomix FC-500» (Beckman Coulter, США). Исследовали содержание клеток с экспрессией клеточных антигенов: CD45⁺/CD3⁺, CD3⁺/CD8⁺, CD3⁺/CD4⁺, CD4⁺/CD25⁺, CD4⁺/CD25⁺/Foxp3, CD16/32⁺/CD3⁻, CD16/32⁺/CD3⁺, CD45⁺/CD19⁺, CD19⁺/CD5⁺, белков МНС II класса. Также оценивали содержание клеток, экспрессирующих TLRs (TLR2, TLR4, TLR9). Гейт популяций клеток устанавливали на основе комбинации прямого

и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 5000 клеток в гейте.

Определение фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов. Фагоцитарную активность определяли по поглотительной способности убитых нагреванием микробных клеток *S. aureus* моноцитами и нейтрофилами периферической крови иммунизированных мышей ($n = 10$). Убитые нагреванием бактерии окрашивали FITC. К периферической крови мышей прибавляли FITC-меченные бактерии (10^9 микробных клеток/мкл). Затем проводилась отмыка непоглощенных бактерий.

Количество моноцитов и нейтрофилов, захвативших FITC-меченные бактерии, определяли с помощью проточной цитометрии («Cytomix FC-500» фирмы Beckman Coulter, США, с СХР программным обеспечением). Гейт клеточной популяции определяли путем оценки фронтального и бокового светорассеивания и размера клеток. В каждом гейте оценивали 10 000 клеток. Результат представляли как процент нейтрофилов или моноцитов, фагоцитировавших убитые нагреванием FITC-меченные бактериальные клетки *S. aureus*.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 10. Достоверность различий между сравниваемыми величинами определяли в рамках непараметрической базовой статистики с использованием U-критерия Манна–Уитни. Различия рассматривались как значительные при $p < 0,05$.

Результаты

Иммунофенотипические характеристики мононуклеарных лейкоцитов мышей, иммунизированных интраназально сайт-специфическими мутантами штамма A/WSN/33 вируса гриппа и XA-реассортантом. Как видно из таблицы 1, интраназальное введение мышам XA реассортанта A/Краснодар/101/35/59 x A./WSN/33 сопровождалось снижением количества МНС II-экспрессирующих клеток на 7-е сутки после первой иммунизации (–22%). Однако на первые и на 7-е сутки после второй иммунизации наблюдалось небольшое повышение МНС II-экспрессирующих клеток (в 1,3 и 1,2 раза). Наряду с этим отмечалась невысокая активация В-лимфоцитов, содержащих на своей поверхности рецептор CD19, функционирующий как корецептор с CD21 и CD81. Повышение количества этих клеток наблюдалось на 2-е сутки (в 1,4 раза) и на 7-е сутки после второй

Таблица 1. Субпопуляционная структура лимфоцитов у иммунизированных мышей, %

Table 1. Subpopulation structure of lymphocytes of immunized mice, %

Сроки определения The time of determination	CD45⁺/CD3⁺	CD3⁺/CD8a⁺	CD3⁺/CD4⁺	CD4⁺/CD25⁺	CD4⁺/CD25⁺/ Foxp3
Группа 1 (мутант M26) (M±SD) Group 1 (mutant M26) (M±SD)					
7 сут I имм. 7 day I imm.	68,76±2,27	12,7±1,26	53,5±1,63	2,5±0,3*	2,36±0,4
2 сут II имм. 2 day II imm.	63,7±1,16*	20±1,41*	40,4±2	2,96±0,3	2,6±0,2
7 сут II имм. 7 day II imm.	63,1±2,61	15,55±0,42*	48,55±1,5	1,42±0,22*	4,97±0,25
Группа 2 (мутант U2) (M±SD) Group 2 (mutant U2) (M±SD)					
7 сут I имм. 7 day I imm.	65,6±1,25	16,43±0,87	49,46±1,98	4,43±0,35	3,76±0,55
2 сут II имм. 2 day II imm.	65,46±2,05	19,56±1,26*	50,26±2,05	5,73±0,35*	4,6±0,3
7 сут II имм. 7 day II imm.	73,5±2,64*	13,75±1,1*	51±1,35	3,9±0,33*	3,5±0,29*
Группа 3 (мутант LAK2) (M±SD) Group 3 (mutant LAK2) (M±SD)					
7 сут I имм. 7 day I imm.	64,3±0,9*	15,43±0,97	42,4±2,07*	3,33±0,35	2,66±0,35
2 сут II имм. 2 day II imm.	64,56±2,1	14,2±1,1	46,53±1,91	3,03±0,25	2,73±0,25
7 сут II имм. 7 day II imm.	67,5±2,58	15,72±0,62	42,62±1,98	4,05±0,2*	3,87±0,29
Группа 4 (XA Реассортант) (M±SD) Group 4 (CA Reasortant) (M±SD)					
7 сут I имм. 7 day I imm.	72,36±1,69	17,43±0,97	51,46±1,27	3,43±0,3	3,2±0,2
2 сут II имм. 2 day II imm.	66,7±1,56	16,43±1,09	40,5±9,92	3,96±0,45	3,33±0,35
7 сут II имм. 7 day II imm.	66,6±3,1	14,67±0,86	45,65±4,12	4,87±0,46	4,7±0,39
Группа 5 (контроль) (M±SD) Group 5 (control) (M±SD)					
7 сут I имм. 7 day I imm.	69,23±2,45	14,6±0,9	49,5±1,9	4,93±0,6	4,06±0,25
2 сут II имм. 2 day II imm.	69,96±2,41	17,36±1,07	48,3±2	3,9±0,3	3,26±0,25
7 сут II имм. 7 day II imm.	69,75±3,1	18,3±0,84	54,35±1,63	5,6±0,25	5,44±0,25

Примечание. * $p \leq 0,05$ — достоверность различий относительно контроля (неиммунизированные мыши) в соответствующие сроки наблюдения (тест Манна–Уитни).

Note. * $p \leq 0,05$ — trustworthiness of differences relatively control (unimmunized mice) in time of observation (Mann–Witney test).

иммунизации (в 1,6 раза). У мышей, иммунизированных ХА реассортантом, повышенная активация отмечена среди натуральных киллеров, экспрессирующих белок CD16, на 2-й и 7-й день после второй иммунизации (в 1,64 и 2,1 раза соответственно). При этом не наблюдалось заметной активации субпопуляций CD4/CD25 и CD4/CD25/Foxp3 регуляторных клеток на протяжении всего периода наблюдения. Иммунизация мышей ХА реассортантом сопровождалась небольшим снижением численности Т-хелперов на поздних сроках иммунизации (на 2-й день после второй иммунизации (−17%) и на 7-й день после второй иммунизации (−17%). Наряду с этим не выявлено существенных изменений в численности CD8-цитотоксических лимфоцитов на протяжении всего периода наблюдений (табл. 1).

Из таблицы 1 видно, что интраназальное введение мышам мутанта LAK2 также сопровождалось снижением количества МНС II-экспрессирующих клеток на 7-е сутки после первой иммунизации (−22%) с последующим небольшим повышением на 2-е и 7-е сутки после второй иммунизации (в 1,36 и 1,4 раза соответственно). В отличие от ХА реассортанта мутант LAK2 индуцировал умеренную активацию, в среднем в 1,4 раза, В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD19 на своей поверхности на протяжении всего периода наблюдений. При иммунизации мутантом LAK2 наблюдалась замедленная активация натуральных киллеров на 7-е сутки после второй иммунизации. Также на 7-е сутки после второй иммунизации отмечено повышение количества клеток с экспрессией маркера CD16 в 2 раза. У мышей, иммунизированных LAK2, не наблюдалось заметной активации субпопуляций CD8-цитотоксических лимфоцитов, регуляторных клеток CD4/CD25/Foxp3, и Th-2 с маркером ранней активации CD4/CD25 на протяжении всего периода наблюдений. В отличие от ХА реассортанта и мутанта LAK2 у мышей, иммунизированных мутантом U2 не наблюдалось снижения субпопуляции МНС II-экспрессирующих клеток после первой иммунизации (табл. 1). При этом было отмечено повышение численности клеток на 2-й и 7-й дни после второй иммунизации (в 1,7 раза и 1,4 раза соответственно). Субпопуляция CD19-позитивных В-лимфоцитов повышалась на 2-е и 7-е сутки после второй иммунизации (в 1,3 раза и 1,4 раза соответственно). Следует особо отметить резкое повышение популяции натуральных киллеров на 2-е (в 2,7 раза) и на 7-е сутки (в 1,7 раза) после второй иммунизации. Со стороны субпопуляций регулятор-

ных клеток, а также субпопуляций Т-хелперов и CD8-лимфоцитов не было замечено значительных колебаний на протяжении всего срока наблюдений.

При иммунизации мышей мутантом M26 наблюдалось снижение численности МНС II-экспрессирующих клеток на 7-е сутки после первой иммунизации (−29%) с последующим кратковременным резким повышением на 2-е сутки после второй иммунизации (в 2,17 раза). Однако уже на 7-е сутки после второй иммунизации количество клеток, входящих в данную субпопуляцию, сравнялось с контролем. Наряду с этим наблюдалось заметное увеличение количества CD19-позитивных В-клеток на 7-й день после второй иммунизации (в 1,4 раза). У мышей, иммунизированных мутантом M26, наблюдался резкий подъем количества натуральных киллеров на 2-е сутки (в 2,7 раза) после второй иммунизации. Интересно отметить, что анализ субпопуляции регуляторных клеток CD4/CD25/Foxp3 и активированных хелперов CD4/CD25 показал различное поведение данных клеток. Субпопуляция CD4/CD25/Foxp3 не претерпевала изменений на протяжении всего периода наблюдений. С другой стороны, субпопуляция CD4/CD25 резко снижалась на 7-е сутки после второй иммунизации (снижение в 4 раза). У мышей, иммунизированных мутантом M26, наблюдалось незначительное снижение субпопуляции Т-хелперов на 2-е сутки (−17%) и на 7-е сутки после второй иммунизации (−12%). Субпопуляция CD8 цитотоксических Т-лимфоцитов не изменялась по численности за весь период наблюдений. Отмечено небольшое снижение субпопуляции CD45/CD3 на 2-й и 7-й дни после второй иммунизации (10% и 10% соответственно).

Влияние интраназальной иммунизации мышей сай́т-специфическими мутантами штамма A/WSN/33 на содержание TLR2, TLR4 и TLR9-экспрессирующих клеток (гранулоцитов). Toll-подобные рецепторы являются наиболее важными представителями семейства сигнальных рецепторов и играют важную роль в активации механизмов врожденного иммунитета. Основные структурные компоненты вирионов вируса гриппа распознаются Toll-рецепторами TLR3, TLR7, TLR8, TLR9. Однако в данной работе нам важно было исследовать влияние интраназальной иммунизации сай́т-специфическими мутантами вируса гриппа на субпопуляции TLR2- и TLR4-позитивных клеток, поскольку имелись сообщения о супрессии данных клеток в процессе гриппозных инфекций [3, 7]. Вместе с тем выраженная

Таблица 2. Влияние иммунизации различными типами аттенуированных вариантов вируса гриппа на содержание TLRs-экспрессирующих клеток у мышей

Table 2. The effect of immunization with various types of attenuated influenza virus variants on the content of TLRs-expressing cells in mice

Сроки определения The time of determination	TLR2, %		TLR4, %		TLR9, %	
	Гранулоциты Granulocytes	Моноциты Monocytes	Гранулоциты Granulocytes	Моноциты Monocytes	Гранулоциты Granulocytes	Моноциты Monocytes
	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
Группа 1* Group 1*						
7 сут I ИММ. 7 day I imm.	62,47±1,86 **♦	56,38±1,4 #^♦	19,7±2,06 *	14,3±1,8 *	26,8±2,29 ^*	10,6±1,59 ^♦
2 сут II ИММ. 2 day II imm.	28,4±2,23 *^**♦	48,95±2,5 #^**♦	16,9±0,8 #^	11,7±1,1 #^**	18,6±1,43 #^**	19,5±2,09 **♦
7 сут II ИММ. 7 day II imm.	37,6±2,05 **♦	29,4±1,66 #^**♦	25±1,86 ♦	11±1,59 #^**	35,1±1,96 #^**♦	11,56±1,38 #^**♦
Группа 2# Group 2#						
7 сут I ИММ. 7 day I imm.	72,12±2,8 *^**♦	67,08±3,56 *^**♦	23,4±2,37 *	18,6±1,77 *	24,3±1,59 ^*	15,4±1,53 **♦
2 сут II ИММ. 2 day II imm.	50,3±3,16 *^**♦	69,7±3,9 *^**♦	32,36±2,2 *^**♦	30,4±2 *^**♦	26,43±2,12 *^**♦	13,4±1,85 **♦
7 сут II ИММ. 7 day II imm.	36,2±1,73 *^**♦	27,56±2,77 ^**♦	28,6±2,56 ^♦	23,4±2,43 **♦	53,84±2,54 *^**♦	21±1,76 *^**♦
Группа 3^ Group 3^						
7 сут I ИММ. 7 day I imm.	60,18±2,5 **♦	42,8±2,08 **♦	19±1,9 *	16,04±1,7 *	47,92±2,46 **♦	25,2±1,59 **♦
2 сут II ИММ. 2 day II imm.	82,9±2,42 **♦	83,9±2,74 **♦	47,1±3,29 **♦	49,14±2,43 **♦	46,24±3,46 **♦	39,3±1,95 **♦
7 сут II ИММ. 7 day II imm.	47,6±2,27 **♦	24,86±1,75 ♦	21,7±1,55 ♦	20,6±1,4 **♦	61,32±5,9 **♦	14,36±1,82 **♦
Группа 4* Group 4*						
7 сут I ИММ. 7 day I imm.	86±2,66 *^**♦	62,38±3,61 ^**♦	83,6±2,55 **♦	43,7±2,95 *^**♦	46,63±3,63 **♦	24±2,72 *^**♦
2 сут II ИММ. 2 day II imm.	27,9±3,3 #^♦	35,6±1,67 *^**♦	18,4±1,45 #^	17±1,56 **^	35,48±1,57 **^	28,3±1,34 *^**♦
7 сут II ИММ. 7 day II imm.	23,36±1,61 **^	19,38±1,48 **♦	25,4±1,96 ♦	17,5±1,58 *	52,9±2,47 **♦	20,34±1,57 *^**♦
Группа 5* (контроль) Group 5* (control)						
7 сут I ИММ. 7 day I imm.	25,2±1,57 *^**♦	19,18±1,63 *^**♦	19,2±1,57 *	15,2±0,66 *	23,14±1,85 ^*	7,02±1 #^**♦
2 сут II ИММ. 2 day II imm.	20,3±1,56 *^**♦	18,1±1,55 *^**♦	14,5±1,59 #^	13,8±1,94 #^	19,2±1,82 #^**♦	5,45±0,65 *^**♦
7 сут II ИММ. 7 day II imm.	19,4±1,62 *^**♦	17,7±1,54 *^**♦	13,7±1,9 *^**♦	12,5±1,98 #^	19,3±1,46 *^**♦	6,7±0,53 *^**♦

Примечание. **^♦ p ≤ 0,01 — достоверность различий между группами (тест Манна–Уитни) в соответствующие сроки наблюдения.

Note. **^♦ p ≤ 0,01 — trustworthiness of difference between groups (Mann–Witney test) in respective time of observation.

супрессия этих клеток могла повлечь за собой повышение риска появления вторичных бактериальных инфекций.

Из таблицы 2 видно, что интраназальная иммунизация мышей мутантом M26 оказывает неоднозначное влияние на TLR-экспрессионные клетки. На 7-е сутки после первой иммунизации наблюдается повышение численности только TLR2-позитивных клеток (в 2,4 раза). Однако на 7-е сутки после второй иммунизации мы видим заметное повышение численности TLR2-, TLR4- и TLR9-позитивных клеток (в 1,93; в 1,83 и 1,81 раза соответственно). Несколько другая ситуация наблюдается у мышей, иммунизированных мутантом U2. Отмечено повышение численности TLR2 и TLR4-позитивных клеток на 7-е сутки после первой иммунизации, причем пик активности просматривается на 2-е сутки после второй иммунизации (в 2,47 и 2,28 раза соответственно). Подъем численности TLR9-позитивных клеток начинается с большим опозданием и достигает своего пика на 7-е сутки после второй иммунизации (в 2,76 раза). Интраназальное введение мышам мутанта LAK2 сопровождалось более значительным повышением численности клеток, экспрессирующих исследуемые Toll-подобные рецепторы, однако пик максимального подъема численности TLR2- и TLR4-позитивных клеток был отмечен на 2-е сутки после второй иммунизации, в то время как пик подъема количества TLR9-позитивных клеток наблюдался на 7-е сутки после второй иммунизации. У мышей, иммунизированных XA-реассортантом мы наблюдали наивысшую активацию TLR2- и TLR4-позитивных клеток на 7-е сутки после первой иммунизации, в то время как TLR9-позитивные клетки достигали максимальной численности на 7-е сутки после второй иммунизации. Уровень активации TLR2, TLR4, TLR9 на моноцитах мало отличался от такового на гранулоцитах (табл. 2).

Влияние интраназальной иммунизации мышей сайт-специфическими мутантами на активацию фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов. Моноциты и нейтрофилы могут осуществлять противовирусный эффект с помощью поглощения, обезвреживания и элиминации вирусов и инфицированных ими клеток, что ведет к их активации, системной и локальной продукции цитокинов. Фагоцитарную активность определяли по поглотительной активности убитых нагреванием микробных клеток *S. aureus* моноцитами и нейтрофилами крови иммунизированных мышей. Как видно из рисунка, фагоцитарная

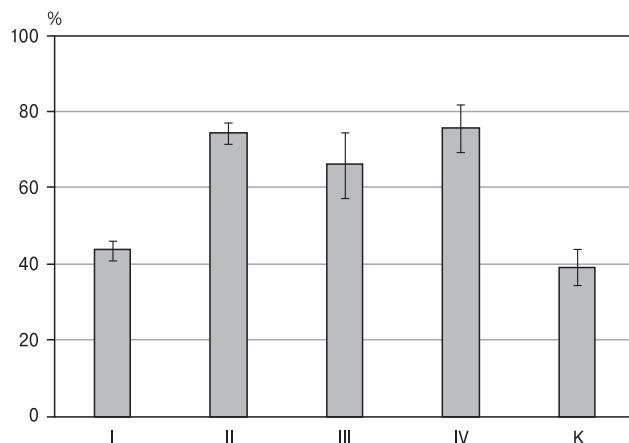


Рисунок. Фагоцитарная активность моноцитов у мышей, иммунизированных различными типами аттенуированных вариантов вируса гриппа (представлено количество (%) моноцитов, поглотивших микробные клетки *S. aureus*)

Figure. Phagocytic activity of monocytes in mice immunized with various types of attenuated variants of influenza virus (presents the number (%)) of monocytes that have absorbed the microbial cells of *S. aureus*)

Примечание. I — Мутант M26, II — Мутант U2, III — Мутант LAK2, IV — XA реассортант, К — контроль (неиммунизированные мыши).

Note. I — mutant M26, II — mutant U2, III — mutant LAK2, IV — CA reassortant, K — Control (nonimmunized mice).

активность моноцитов у мышей, интраназально иммунизированных сайт-специфическими мутантами, повышалась в различной степени по сравнению с контролем. Наиболее заметная активация фагоцитоза наблюдалась у мышей, иммунизированных мутантом U2 и XA реассортантом (в 1,9 и 1,93 раза). Более умеренная активация фагоцитоза наблюдалась у мышей, иммунизированных мутантом LAK2 (в 1,67 раза). У мышей, иммунизированных мутантом M26, наблюдался самый низкий индекс активации фагоцитоза (в 1,11 раза). Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов не выявило существенных различий в исследованных группах (рис.).

Изучение иммуногенности сайт-специфических мутантов штамма A/WSN/33. Представляло большой интерес исследовать способность отдельных сайт-специфических мутантов штамма A/WSN/33, имеющих различное количество мутаций в геноме, индуцировать гуморальный иммунный ответ у мышей на интраназальную иммунизацию. Как видно из таблицы 3, мыши, иммунизированные мутантами U2 и M26, характеризовались наивысшим титром гуморальных антител. Мутант LAK2

индуцировал более умеренный титр гуморальных антител. У мышей, иммунизированных XA-реассортантом, наблюдался минимальный титр гуморальных антител (табл. 3).

Обсуждение

Полученные нами ранее данные свидетельствовали о том, что как при интраназальном введении мышам эпидемического штамма вируса гриппа A/Краснодар/101/59 (H2N2), вызывающего вирусную пневмонию у мышей, так и при интраназальном введении штамма-донара аттенуации A/Краснодар/101/35/59 (H2N2) наблюдается снижение численности субпопуляций CD3, NK/CD3, CD5 (B1-лимфоцитов) и CD4-позитивных клеток [2]. Существует предположение, что иммуносупрессионное действие вакцинного вируса может быть одной из главных причин низкой эффективности XA живой гриппозной вакцины у лиц пожилого возраста.

В нашей работе при интраназальной иммунизации мышей сайт-специфическими мутантами штамма A/WSN/33 мы также наблюдали супрессионное действие вирусов на численность отдельных субпопуляций иммунокомpetентных клеток, однако оно было выражено слабее. Супрессионное действие мутантов M26 и LAK2 на численность субпопуляции MHC II-

позитивных клеток было скоротечным и сменялось заметным повышением количества клеток. Супрессионное воздействие мутанта U2 на субпопуляцию MHC II-позитивных клеток вообще отсутствовало. В отличие от XA реассортанта мутант LAK 2 индуцировал умеренную активацию CD19-позитивных В-лимфоцитов на протяжении всего периода наблюдения. Мутанты U2 и M26 характеризовались повышением популяции данного типа клеток после второй иммунизации.

Мутанты M26 и U2 превосходили XA реассортант по активации натуральных киллеров. Полученные нами факты позволяют предположить, что данный вид иммунокомпетентных клеток играет центральную роль в иммунном ответе, индуцированном аттенуированными вариантами вируса гриппа. В пользу этого предположения говорит и высокая защитная эффективность сайт-специфических мутантов при гетерологичном контролльном заражении [6]. Toll-подобные рецепторы (TLRs) являются важнейшим звеном в активации врожденного иммунитета. Определение степени участия в иммунном процессе индивидуальных Toll-подобных рецепторов при иммунизации инактивированными или живыми гриппозными вакцинами в перспективе позволит прогнозировать развитие врожденных иммунных реакций и их влияние на формирование

Таблица 3. Сравнительное исследование иммуногенности сайт-специфических мутантов штамма A/WSN/33 и XA реассортанта, полученного при скрещивании штамма A/WSN/33 и XA штамма A/Краснодар/101/35/59

Table 3. Comparative study of the immunogenicity of site-specific mutants of A/WSN/33 strain and CA reassortant obtained by crossing A/WSN/33 strain and CA A/Krasnodar/101/35/59

Сыворотка мышей, полученная при иммунизации исследуемыми вирусами Serum of mice obtained during immunization by investigated viruses	Титр сывороточных антител, ингибирующих гемагглютинацию (\log_2) The titer of serum hemagglutination inhibiting antibodies	
	1 иммунизация 1 immunization	2 иммунизация 2 immunization
Мутант M26/Mutant M26 PB1** A/AA (K391E, E581G, E457D)*** PB2 A/Kr₃₅* (V290L) PA A/WSN/33 (F 685 A)	4,0±0,5	7,0±0,5
Мутант U2/Mutant U2 PB2 A/Len₁₇ (M478L), A/Kr₃₅ (V290L), A/AA (N265S)	3,0±0,4	7,0±0,5
Мутант LAK2/Mutant LAK2 A/Len₁₇ (V478L), A/Kr₃₅ (V290L)	4,0±0,5	6,0±1,0
XA реассортант/CA reassortant A/WSN/33 × A/Kr₃₅	2,0±0,5	5,0±0,4
Неиммунизированные мыши (Контроль) Unimmunized (Control)	ND	3,0±0,4

Примечания. *XA штамм: A/AA — А/Энн Арбор/6/69, A/Kr35 — А/Краснодар/101/35/59 A/Len17 — А/Ленинград/134/17/57; **полимеразный ген; ***локализация мутации.

Notes. *CA strains: A/AA — A/Ann Arbor/6/69, A/Kr35 — A/Krasnodar /101/35/59 A/Len17 — A/Leningrad /134/17/57; **polymerase gene; ***mutation localization.

адаптивного иммунитета, и, как следствие, поможет оценить эффективность гриппозных вакцин. При иммунизации мышей сайт-специфическими мутантами мы наблюдали активацию TLR9. Известно, что активация TLR9 в дендритных клетках индуцирует синтез интерферона I типа и провоспалительных цитокинов, а также продукцию костимулирующих молекул CD80/CD86 [10, 11]. Активация TLR9 на гранулоцитах наблюдалась у мышей, иммунизированных сайт-специфическими мутантами, на поздних стадиях иммунизации в умеренной степени.

Данные литературы свидетельствуют о том, что при гриппозных инфекциях наблюдается супрессия TLR2 и TLR4 [3, 7]. Следует отметить, что снижение активности этих Toll-подобных рецепторов ведет к подавлению активности макрофагов и элиминации бактерий, что повышает опасность возникновения вторичных инфекций. Однако нами была отмечена активация TLR2 и TLR4 у мышей, иммунизированных сайт-специфическими мутантами. Не было найдено значительных различий в динамике и уровне экспрессии TLR2 и TLR4 у мышей, иммунизированных различными мутантами. Этот факт отражает менее специфическую природу врожденного иммунитета, которая может оказаться преимуществом, когда мы рассматриваем активацию Toll-подобных рецепторов как средство профилактики гриппозных заболеваний. Активация Toll-подобных рецепторов на иммуноцитах иммунизированных мышей не выявила серьезных различий

по сравнению с активацией данных рецепторов на гранулоцитах. У мышей, интраназально иммунизированных сайт-специфическими мутантами вируса гриппа, наблюдалась заметная активация фагоцитоза моноцитов, причем наивысший индекс активации фагоцитоза наблюдался у мышей, иммунизированных мутантом U2 и XA реассортантом.

Ранее было показано, что сайт-специфические мутанты г NY1682-S1 и г NY1682-TS2 вируса гриппа, имеющие ts-мутации в генах, кодирующих белки полимеразного комплекса, обладали большей иммуногенностью, чем коммерческий XA реассортант Flumist-H1N1pdm [12]. Полученные нами данные на модели наших сайт-специфических мутантов позволяют подтвердить этот вывод о более высокой иммуногенности сайт-специфических мутантов по сравнению с XA-реассортантами, имеющими сходные поверхностные антигены. Следует особо отметить, что несмотря на умеренное влияние иммунизации сайт-специфическими мутантами вируса гриппа на отдельные звенья врожденного иммунитета мышей, мы наблюдали сравнительно высокие показатели гуморального ответа. Этот факт свидетельствует о перспективности использования сайт-специфических мутантов вируса гриппа в качестве живых гриппозных вакцин.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Минтаеву Р.Р. за серию критических замечаний.

Список литературы/References

1. Маркушин С.Г., Кост В.Ю., Акопова И.И., Коптяева И.Б., Лисовская К.В., Переверзев А.Д., Цфасман Т.М. Исследование возможности использования сайт-специфического мутагенеза в конструировании живых гриппозных вакцин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. № 6 (79). С. 100–103. [Markushin S.G., Kost V.Yu., Akopova I.I., Koptyaeva I.B., Lisovskaya K.V., Pereverzev A.D., Tsfasman T.M. the investigation of the possibility of site-specific mutagenesis using in construction of live influenza vaccines. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2014, no. 6 (79), pp. 100–103. (In Russ.)]
2. Маркушин С.Г., Переверзев А.Д., Ахматова Н.К., Кривцов Г.Г. Изучение иммунного ответа мышей, иммунизированных интраназально живой гриппозной холодоадаптированной вакциной в комбинации с производными хитозана в качестве адьювантов // Российский иммунологический журнал. 2011. Т. 5 (14), № 3–4. С. 233–243. [Markushin S.G., Pereverzev A.D., Akhmatova N.K., Krivtsov G.G. Study of the immune responses of mice, immunized intranasally with live cold-adapted flu vaccine in combination with chitosan derivatives as adjuvants. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2011, vol. 5 (14), no. 3–4, pp. 233–243. (In Russ.)]
3. Arankalle V.A., Lole K.S., Arya R.P., Tripathy A.S., Ramdasi A.Y., Chadha M.S. Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 2009 influenza virus interaction in Indian patients. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 10: e13099. doi: 10.1371/journal.pone.0013099
4. Cox A., Deyhurst S. A single mutation at PB1 residue 319 dramatically increases the safety of PR8 live attenuated influenza vaccine in a murine model without compromising vaccine efficacy. *J. Virol.*, 2015, vol. 90, no. 5, pp. 2702–2705. doi: 10.1128/JVI.02723-15
5. Jin H., Zhou H., Lu B., Kemble G. Imparting temperature sensitivity and attenuation in ferrets to A/Puerto/8/34 influenza virus by transferring the genetic signature for temperature sensitivity from cold-adapted A/Ann Arbor/6/60. *J. Virol.*, 2004, vol. 2, pp. 995–998. doi: 10.1128/JVI.78.2.995–998.2004
6. Kost V.Y., Koptyaeva I.B., Akopova I.I., Tsfasman T.M., Rtishchev A.A., Lisovskaya K.V., Markushin S.G. Investigation of efficiency of site-specific mutants of the influenza virus in homological and heterologous control infection. *EC Microbiology*, 2017, vol. 12, no. 5, pp. 232–242.

7. Liu Y., Chen H., Sun Y., Chen F. Antiviral role of Toll-like receptors and cytokines against the new 2009 H1N1 virus infection. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, vol. 39, pp. 1163–1172. doi: 10.1007/s11033-011-0846-7
8. Solorzano A., Ye J., Perez D.R. Alternative live-attenuated influenza vaccines based on modification in the polymerase genes protect against epidemic and pandemic flu. *J. Virol.*, 2010, vol. 84, no. 9, pp. 4587–4596. doi: 10.1128/JVI.00101-10
9. Song H., Nieto G., Perez D. A new generation of modified live-attenuated avian influenza viruses using a two-strategy combination as potential vaccine candidates. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 17, pp. 9238–9248. doi: 10.1128/JVI.00893-07
10. Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.*, 2009, vol. 363, pp. 2036–2044. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00737.x
11. Tuvim V.I., Gilbert B.E., Dickey B.F., Evans S.E. Synergistic TLR2/6 and TLR9 activation protects mice against lethal influenza pneumonia. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 1: e30596. doi: 10.1371/journal.pone.0030596
12. Zhou B., Li Y., Speer S.D., Subba A., Lin X., Wentworth D.E. Engineering temperature sensitive live attenuated influenza vaccines from emerging viruses. *Vaccine*, 2012, vol. 30, no. 24, pp. 3691–3702. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.03.025

Авторы:

Маркушин С.Г., д.м.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией генетики РНК-содержащих вирусов, ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Ахматова Н.К., д.м.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией механизмов регуляции иммунитета, Москва, Россия;
Столпникова В.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета, Москва, Россия;
Акопова И.И., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов, Москва, Россия;
Ртищев А.А., младший научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов, Москва, Россия;
Калиниченко Е.О., младший научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета, Москва, Россия.

Authors:

Markushin S.G., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Head of Laboratory of Genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Akhmatova N.K., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Head of Laboratory of Mechanisms of Immunity Regulation, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Stolpnikova V.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Mechanisms of Immunity Regulation, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Akopova I.I., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Rtishchev A.A., Junior Researcher, Laboratory of Genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Kalinichenko E.O., Junior Researcher, Laboratory of Mechanisms of Immunity Regulation, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.

МИМИКРИЯ В БЕЛКАХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ РЯДА БЕЛКОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА

И.Н. Жилинская

ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведен сравнительный анализ по поиску последовательностей аминокислот в белках вирусов, вызывающих респираторные инфекции (или синдром респираторных инфекций), гомологичных последовательностям аминокислот ряда белков иммунной системы человека. Для сравнительного компьютерного анализа были использованы следующие вирусы: коронавирус (SARS-CoV), адено-вирус подгруппы С серотипа 1 (штамм adenoid 71), вирус кори (штамм ICHINOSE-BA), краснухи (штамм Therien) и респираторно-синцитиальный вирус (штамм B1). Поиск гомологичных последовательностей в структуре вирусных белков и белков иммунной системы человека осуществляли путем компьютерного сравнения в них фрагментов длиною в 12 аминокислот, принимая родственными те из них, которые проявляли идентичность по ≥ 8 позициям. Полученные данные показали, что вирусные белки содержат гомологичные фрагменты ряда белков иммунной системы хозяина, участвующих в регуляции как воспалительного, так и иммунного ответов. Так, практически для всех исследуемых вирусов характерно наличие гомологичных последовательностей к таким белкам иммунной системы хозяина, как белки системы комплемента, интегрины, апоптоз-ингибирующие белки, интерлейкины, Toll-подобные рецепторы. Эти клеточные белки принимают самое активное участие в регуляции воспалительного процесса и формировании иммунного ответа в организме хозяина. При этом набор белков иммунной системы хозяина, к которым обнаружены гомологичные фрагменты в вирусных белках, индивидуален для каждого исследованного вируса. Интересно отметить, что наибольшее количество гомологичных фрагментов (до 20-ти) сосредоточено, в основном, в вирусных белках, обладающих полимеразной и протеазной активностью, что дает основание предположить, что эти белки, помимо своей основной роли — участие в синтезе вирусных нуклеиновых кислот, могут принимать участие в регуляции иммунной системы хозяина. В оболочечных, внутренних и неструктурных вирусных белках гомологичные фрагменты выявлены в значительно меньших количествах (от 1 до 4-х). Кроме того, в ряде вирусных белков выявлено по два фрагмента, гомологичных разным областям одного и того же клеточного белка. Таким образом, полученные данные дополняют наши представления о том, что проявления нарушений иммунной системы при вирусных инфекциях может быть результатом сложных процессов, связанных с модуляцией врожденной и адаптивной иммунной системы хозяина, и открывают новые подходы к изучению взаимодействия вирусов с иммунной системой хозяина и выявлению новых функций вирусных белков.

Ключевые слова: мимикрия, вирусные белки, белки иммунной системы.

Адрес для переписки:

Жилинская Ирина Николаевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 15/17,
НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева.
Тел.: 8 (812) 499-15-71.
E-mail: irina@influenza.spb.ru

Contacts:

Irina N. Zhilinskaya
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 15/17,
Smorodintsev Research Institute of Influenza.
Phone: +7 (812) 499-15-71.
E-mail: irina@influenza.spb.ru

Библиографическое описание:

Жилинская И.Н. Мимикрия в белках респираторных вирусов ряда белков иммунной системы человека // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 305–314. doi: 10.15789/2220-7619-MBR-1179

Citation:

Zhilinskaya I.N. Mimicry between respiratory virus proteins and some human immune proteins // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 305–314. doi: 10.15789/2220-7619-MBR-1179

MIMICRY BETWEEN RESPIRATORY VIRUS PROTEINS AND SOME HUMAN IMMUNE PROTEINS

Zhilinskaya I.N.

Smorodintsev Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. A comparative analysis on search for amino acid sequences in viral proteins causing respiratory infections (or respiratory infections syndrome) homologous to amino acid sequences from some human immune proteins was performed. The following viruses were used for comparative computer analysis: coronavirus (SARS-CoV), serotype C subgroup adenovirus C (adenoid 71 strain), measles virus (ICHINOSE-BA strain), rubella (Therien strain) and respiratory syncytial (B1 strain) virus. The search for homologous sequences in viral and human immune proteins was carried out by computer comparison of 12 amino acid fragments, which were assigned as homologous at identity in ≥ 8 positions. The data obtained showed that viral proteins contained homologous motifs in several host immune proteins involved in regulating both the inflammatory response and immune response. Mechanistically, all viruses studied were characterized by sequences homologous to host immune proteins such as complement system proteins, integrins, apoptosis inhibitory proteins, interleukins, and toll-like receptors. Such cellular proteins are actively involved in regulating host inflammatory process and immune response formation. Upon that, a set of host immune proteins, to which homologous fragments were found in viral proteins, was individual for each virus. Interestingly, the largest amount of homologous fragments (up to 20) was mainly concentrated in viral proteins with polymerase and protease activity suggesting that these proteins apart to their major role were involved in production of viral nucleic acids and might participate in regulating host immune system. Envelope, internal and non-structural viral proteins, homologous fragments were detected in much smaller quantities (from 1 to 4). In addition, two fragments homologous to various motifs of the same cellular protein were detected in some viral proteins. Thus, the data obtained further support our understanding that signs of immune system disorders in viral infections can result from multi-layered processes associated with modulation of host innate and adaptive immune system, and open up new approaches to study interaction of viruses with host immune system and identify new functions of viral proteins.

Key words: mimicry, viral proteins, immune proteins.

Введение

Инфицирование вирусом клеток хозяина приводит к активации его иммунной системы (как врожденной, так и адаптивной) — главной защитной системы, направленной на элиминацию патогена. Установлено, что основные компоненты вирусов (одно- и двухцепочечные нуклеиновые кислоты и вирусные белки, обозначаемые как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны), освобождаемые при репродукции вирусов, распознаются паттерн-распознающими рецепторами (PRRs), такими, как Toll-подобные рецепторы (TLRs), receptor RIG1 (гена 1, индуцируемого ретиноевой кислотой) (RLRs) и receptor семейства цитоплазматических белков, участвующих в активации каспаз (NALP). Активация PRRs сопровождается развитием таких событий, как фагоцитоз, активация системы комплемента, системы коагуляции крови, усиление апоптоза, некроза, аутофагии, активация убиквитин-протеосомной системы, хемотаксис в очаг поражения нейтрофилов, моноцитов, развитие локальных сосудистых реакций, секреция противовоспалительных и провоспалительных цитокинов. Предполагают, что в активации всех этих процессов задействовано более 300 клеточных белков, не считая участия miPHK [9]. В процессе своей эволюции вирусы выработали стратегию воздействия на эту антивирусную защиту, которая позволяет им вмешиваться в процессы иммунной системы хозяина и обеспечивать

успешную их репродукцию [1, 2, 3, 5, 6, 7, 13, 14]. Однако механизмы регуляции иммунного ответа хозяина вирусами до конца невыяснены. Целью настоящего исследования было выявление в ряде белков вирусов, вызывающих респираторные инфекции (или синдром респираторных инфекций), последовательностей аминокислот, гомологичных аминокислотным последовательностям ряда белков иммунной системы человека, что позволит расширить наше представление об участии вирусных белков в регуляции иммунной системы хозяина.

Материалы и методы

Вирусы. Для сравнительного компьютерного анализа были использованы следующие вирусы: коронавирус (SARS-CoV), адено-вирус подгруппы С серотипа 1 (штамм adenoid 71), вирус кори (штамм ICHINOSE-BA), краснухи (штамм Therien) и респираторно-синцитиальный вирус (штамм B1).

Первичная структура белков иммунной системы человека и белков исследуемых вирусов. Источником первичных структур белков анализированных вирусов (как структурных, так и неструктурных) и более 50-ти белков иммунной системы человека служили общедоступные в Интернете базы полногеномных данных соответственно www.ncbi.nlm.nih.gov и www.ncbi.nlm.nih.gov. Поиск гомологичных последовательностей в структуре вирусных белков и белков иммунной системы осуществляли путем компью-

терного сравнения в них фрагментов длиною в 12 аминокислот, принимая родственными те из них, которые проявляли идентичность по ≥ 8 позициям.

В статье используется международный код аминокислот: А — аланин, С — цистеин, D — аспарагиновая кислота, Е — глутаминовая кислота, F — фенилаланин, G — глицин, Н — гистидин, I — изолейцин, К — лизин, L — лейцин, М — метионин, N — аспарагин, Р — пролин, Q — глутамин, R — аргинин, S — серин, T — треонин, V — валин, W — триптофан, Y — тирозин.

Результаты

В таблице 1 приведены данные сравнительного компьютерного анализа белков вирусов кори и краснухи с клеточными белками иммунной системы человека. Из таблицы 1 видно, что в полимеразе вируса кори сосредоточено основное количество фрагментов аминокислот, гомологичных белкам иммунной системы человека — 12 фрагментов, причем, выявлено 2 фрагмента, гомологичные разным областям молекулы клеточного цитоплазматического белка, участвующего в активации каспазы-1 (NALP1). В остальных белках этого вируса также имеются фрагменты, гомологичные белкам иммунной системы человека, но в значительно меньших количествах — по 3 фрагмента в белках Р, F и NP; 2 фрагмента в НА и по одному фрагменту в М и NS белках. Интересно подчеркнуть, что в вирусных белках Р и NS выявлен один и тот же фрагмент, гомологичный клеточному белку FADD. Важно также отметить, что мимикрия к семействам таких клеточных белков иммунной системы, как NALP, TLR и IL выявлена практически во всех белках вирусах кори.

В белках вируса краснухи также выявлены фрагменты, гомологичные клеточным белкам иммунной системы человека (табл. 1). В отличие от вируса кори, наибольшее количество гомологичных клеточным белкам фрагментов сосредоточено в протеазе Р150 — 10 фрагментов, из которых 2 фрагмента гомологичны с IgG3 и 2 фрагмента — с ILR-17. Обращает на себя внимание и высокая степень гомологии фрагмента белка Р150, гомологичного с фрагментом клеточного белка FasL: из 12 аминокислот — 9 аминокислот идентичны и 2 аминокислоты изофункциональны. В белках вируса краснухи Р90, E1 и С выявлено по 2–3 фрагмента, гомологичных клеточным белкам семейства NALP (NALP1 и NALP14), разным фрагментам молекулы интегрина- α и другим клеточным белкам иммунной системы человека.

У аденоовириуса серотипа С мимикрирующие фрагменты обнаружены только в белках гексоне

(4 фрагмента), фибрилл (2 фрагмента) и пентоне (1 фрагмент) (табл. 2). Следует отметить фрагмент 146–164 в белке гексона, мимикрирующий фрагмент белка IL-27: из 19 аминокислот этого фрагмента 14 аминокислот идентичны и 4 аминокислоты изофункциональны, что указывает на очень высокую степень гомологии этих фрагментов.

Поиск гомологичных фрагментов в белках вируса RS показал следующее (табл. 3): наибольшее количество фрагментов, мимикрирующих белки иммунной системы, сосредоточено в L белке — 7 фрагментов, в белке F — 5 фрагментов, в NP белке — 2 фрагмента и по одному фрагменту в белках G и M. Важно отметить, что в белках вируса RS содержатся фрагменты, гомологичные ряду белков семейства NALP (2, 3, 4, 5, 7), причем мимикрия молекул NALP2, NALP5 и NALP7 выявляется в нескольких белках вируса RS, и эти гомологичные фрагменты не идентичны в вирусных белках.

Данные по поиску фрагментов, гомологичных клеточным белкам иммунной системы человека, в белках коронавируса SARS представлены в таблице 3. Из таблицы видно, что практически все фрагменты, гомологичные клеточным белкам иммунной системы, сосредоточены в репликазе (R) — 26 фрагментов, из которых по 2 фрагмента гомологичны IL-9 и IL-27. В остальных вирусных белках — E1 выявлено 7 гомологичных фрагментов, а в белках M и NS (3b, 8a, 8b, 9b) — по одному. Необходимо подчеркнуть, что мимикрия белков семейства интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-22, IL-27) является отличительной чертой SARS. Помимо мимикрии IL, в белках SARS достаточно много фрагментов, гомологичных белкам NALP (2, 4, 5, 7, 8, 9, 12, 14) и TLR (1, 2, 3, 6, 10).

Обсуждение

Проведенный сравнительный компьютерный анализ белков вирусов и белков иммунной системы человека показал, что вирусные белки содержат фрагменты, гомологичные белкам иммунной системы хозяина с различной функциональной направленностью. Почти для всех вирусов характерно наличие гомологичных фрагментов к белкам системы комплемента, интегринам, апоптоз-ингибирующим белкам, интерлейкинам, Toll-подобным рецепторам. Известно, что все эти клеточные белки активно участвуют в репродукции и патогенезе вирусов [4, 10, 17, 18, 19, 20]. При этом набор белков иммунной системы хозяина, к которым обнаружены гомологичные фрагменты в вирусных белках, индивидуален для каждого исследованного вируса. Характерно, что наибольшее коли-

Таблица 1. Пары гомологичных фрагментов некоторых белков иммунной системы и вирусов кори и краснухи

Table 1. Pairs of homologous fragments of some proteins of the immune system and measles and rubella viruses

Белки иммунной системы человека Proteins of the human immune system	Белки вируса кори Measles virus proteins	Белки вируса краснухи Rubella virus proteins
	Полимераза L Polymerase L	Полимераза Р90 Polymerase P90
ICAM-1	R G G P V L K T Y S R S (605-616)* : : R G G S V L V T C S T S (40-51)**	
J-цепь Ig Ig J-chain	M T E T A M T I D A R Y (240-251) : : M V E T A L T P D A C Y (146-157)	
IFNα	S T S T N L A H R L R D (1281-1292) : S L S T N L Q E R L R R (176-187)	
IL-9	E I L K L N K C F Y N S (1800-1811) : E V L K N N K C P Y F S (97-108)	
IL-34	Q R A N V S L E E L R V (1265-1276) : Q R A Q V S E R E L R Y (81-92)	
NALP1	D V L D Q N G F S D E G T Y (314-325) : D V L D Q M G A S I L G V E (592-603) P D V L E S M R G H L I (1160-1171) : P D Y V E E N R G H L I (301-312)	V G R D G T D V A L A L (246-257) : : : V G R V G E D V S L V L (526-537)
NALP3	F Q C L R D T N S R L G (125-136) : : F Q C I E D R N A R L G (148-159)	
NALP4	R Y L A Y S L N V L K V (885-896) : R Y L D L S A N V L K D (810-821)	
NALP14		V W N M A A G A G K T T (48-59) : : V L Q G A A G V G K T T (180-191)
TLR9	G M L L G L G V L E T L (1336-1347) : G A L L G L G N L T H L (193-204)	
TLR10	Y S K V S D K V F Q C L (117-128) : : : Y N K L S D S V F R C L (430-441)	
Интегрин-$\alpha 6$ Integrin- $\alpha 6$	R K G G L T S R V I T R L S (1091-1102) : : R K S G L S S R V Q F R N Q (529-540)	
C3		R L H E A G I R A Y T V (220-231) R A H E A K I R Y Y T Y (481-492)
	Гемагглютинин (HA) Hemagglutinin (HA)	Оболочечный белок E1 Envelope protein E1
IL-32		S C E G L G A W V P A A (58-69) : : S A Q G L G A W V S A C (25-36)
TNFα	T A E I H K S L S T N L (67-78) : : T A E A S S S L S T S L (544-555)	
Интегрин-$\alpha 2$ Integrin- $\alpha 2$	Y T A E I H K S L S T N (66-77) : : Y D A E I H L T R S T N (934-945)	R I W N G T Q R A C T F (73-84) : : R I W N G T F A S S T F (1078-1089)
	Белок слияния (F) Fusion protein (F)	Оболочечный белок E2 Envelope protein E2
CD20	L G G L I G I P A L I C (504-515) : : L G G L L M I P A G I Y (66-77)	
ICAM-3	F M A V L L T L Q T P T (11-22) F V A V L L T L G V V T (490-501)	
TLR6	L I G Q K L G L K L L R (197-208) L I L Q K N G L K D L F (382-393)	

Примечания. «|» — идентичные аминокислоты; «;» — изофункциональные аминокислоты. * — последовательность аминокислот фрагмента белка кори и краснухи; ** — последовательность аминокислот фрагмента белка иммунной системы.

Notes: «::» — identical amino acids; «:» — isofunctional amino acids. * — amino acid sequence of the measles and rubella protein fragment; ** — amino acid sequence of a fragment of the protein of the immune system.

Таблица 2. Пары гомологичных фрагментов некоторых белков иммунной системы и адено-вируса серотипа С

Table 2. Pairs of homologous fragments of some proteins of the immune system and serotype C adenovirus

Примечания. «|» — идентичные аминокислоты; «» — изофункциональные аминокислоты; * — последовательность аминокислот фрагмента белка аденоциркуса; ** — последовательность аминокислот фрагмента белка гемостаза.

Notes. «|» — identical amino acids; «» — isofunctional amino acids; * — amino acid sequence of the measles and rubella protein fragment; ** — amino acid sequence of a fragment of the protein of the immune system.

Таблица 3. Пары гомологичных фрагментов некоторых белков иммунной системы и вирусов RS (респираторно-синцитиального) и SARS (коронавирус)

Table 3. Pairs of homologous fragments of some proteins of the immune system and RS (respiratory syncytial) viruses and SARS (coronavirus) viruses

Белки иммунной системы человека Proteins of the immune system	Белки вируса RS RS virus proteins	Белки вируса SARS SARS virus proteins
	Полимераза L/Polymerase L	Репликаза R/Replicase R
CD8/β		S G I T L G V L V P H V (100-111)* : : S P I T L G L L V A G V (169-180)**
CD81	K S G S N I N S N L I L (1467-1478)* : P S G S N I I S N L F K (176-187)**	
NALP4	K T T L L K K L M C S M (186-195) : : K T T L L M K L M M A W (161-170)	N L K Q L P F F Y Y S D (6340-6351) : : N L K Q L V F F D F S T (963-974)
NALP2	L E N L S I T E L S K Y (1194-1205) : : : L E Q L S Q D E L S K F (15-26)	C C N L S H R F Y R L A (5014-5025) : C V N L S H R Y T R L L (150-161)
NALP5	L S L E N L S I T E L S (1192-1203) : : L S L L Q L S Q T G L S (1165-1176)	A G A K L R S L N L G E (696-707) : : A N R N L R S L N L G G (835-846)
ILR4		V M P L S A P T L V P Q (5533-5546) : V P Q I L S E P T T V P Q (533-546)
IL-5		L A L L S D H Q D L K W A (4159-4171) : : L A L L S T H R T L L I A (34-46)
IL-9		A M V Y T S D L L T N S V (583-555) : A M V L T S A L L L C S V (4-16) L T F L T S L L I L V Q (3562-3573) : : L T F L K S L L E I F Q (122-133)

Белки иммунной системы человека Proteins of the immune system	Белки вируса RS RS virus proteins	Белки вируса SARS SARS virus proteins
IL-13		G S G A L R E L T R E L (166-177) : : P S T A L R E L I E E L (39-50)
IL-27		E E E E D D A E C E E E (930-942) : : E E E E E E E E E E E E (164-176) V M P L S A P T L V P Q (5533-5544) : V W P L G F P T L S P Q (231-242)
Пентаксин Pentraxin		I I T G L H P T Q A P T (5916-5927) : : : I D N G L H P T E D P T (34-45)
Хемокин CCL5 Chemokine CCL5		L A W P L I V T A L R A (4099-4110) : L A V I L I A T A L C A (8-19)
NALP7	L S L E N L S I T E L S (1192-1203) : : L S L E N C R L T E A S (823-834)	
NALP9		I A G A K L R S L N L G (695-706) : : I A C K T L R S L N L D (910-921)
NALP12		C C N L S H R F Y R L A (5014-5025) : C V N L S H R Y T R L L (150-161)
TLR1		L L A L Q Q L E V K F N (1657-1668) : L E A L Q E L N V A F N (467-478)
TLR3		T L M I E R F V S L A I (5222-5233) : T L T N E T F V S L A H (395-406)
TLR6		L L A L Q Q L E V K F N (1657-1668) : L E A L Q E L N V A F N (472-483)
TLR9	L T W K D I S L S R L N (270-281) : L V L K D S S L S W L N (289-300)	
TLR10		S E V V L K K L K K S L (3950-3961) : E E E V L K S L K F S L (631-642)
NF-κB		S S S K T S E E H F V E (1468-1479) : : : S S S K E S Q E E F L E (264-275)
Интегрин-α2 Integrin-α2		S K I V Q L S E I N M D (4083-4094) : : S A I A A L S D I N M D (556-567)
Интегрин-β2 Integrin-β2		C V L A A E C T I F K D (2890-2901) : C V L S Q E C T K F K V (19-30)
NOD2	Q L R N H A L C N N K L (940-951) : Q L Q K L A L F N N K L (844-855)	
C5		T I A G A K L R S L N L (694-705) : T T A Y A L L T S L N L (1250-1261)
VLA-3 α		G L D S L D S Y P A L E (2271-2282) : : G L R S L D A Y P I L N (555-566)
Рецептор VLA-4 VLAR-4		I V Q M L S D T L K G L (6068-6079) : I V Q F L S K T D K R L (876-887)
FADD		N L G E R V R Q S L L K (4546-4557) : : N L T E R V R E S L R I (136-147)
	Гликопротеин G/Glycoprotein G	Оболочечный белок E1/Envelope protein E1
CD8	T T T N P T K K P T L T (227-238) : : : : T T A Q P T K K S T L K (140-151)	
Ингегрин-β2 Integrin-β2		L P D P L K P T K R S F (788-799) : L P D T L K V T Y D S F (374-385)
C6		R V V V L S F E L L N A (495-504) R R S V L Y F I L L N A (3-14)

Окончание таблицы 3. Пары гомологичных фрагментов некоторых белков иммунной системы и вирусов RS (респираторно-синцитиального) и SARS (коронавирус)

Table 3. Pairs of homologous fragments of some proteins of the immune system and RS (respiratory syncytial) viruses and SARS (coronavirus) viruses (*continued*)

Примечания. «|» — идентичные аминокислоты; «:» — изофункциональные аминокислоты. * — последовательность аминокислот фрагмента белка кори и краснухи; ** — последовательность аминокислот фрагмента белка гемостаза.

Notes. «|» — identical amino acids; «» — isofunctional amino acids. * — amino acid sequence of the measles and rubella protein fragment; ** — amino acid sequence of a fragment of the protein of the immune system.

чество гомологичных фрагментов сосредоточено в вирусных белках, обладающих полимеразной активностью — L-полимераза (вирус кори) и Р-90 (вирус краснухи) (табл. 1), полимераза и репликаза вирусов RS и SARS (табл. 3). В оболочечных, внутренних и неструктурных вирусных белках гомологичные фрагменты выявлены в значительно меньших количествах (от 1 до 4-х). Обращает на себя внимание значительная мимикрия в белках исследуемых вирусов таких белков, как NALP, TLR, IL, при этом выявлено по несколько гомологичных фрагментов к этим белкам в одном и том же вирусной белке. Важно также отметить, что гомологичные фрагменты с очень высокой степенью гомологии к IL-27, выявленные у аденоовириуса и SARS, идентичны. Перечисленные выше клеточные белки принимают самое активное участие в регуляции воспалительного процесса и формировании иммунного ответа в организме хозяина.

Можно предположить, что мимикрия вирусами белков иммунной системы может играть важную роль в ее дезрегуляции, вызывая широкий спектр нарушений: от иммуносупрессии до цитокинового шторма. Выщепление мимикрических фрагментов из вирусных белков может происходить за счет расщепления их клеточными протеазами либо вирусными протеазами. У многих вирусов протеазы запрограммированы в их геноме, кроме того, протеазной активностью могут обладать и структурные вирусные белки. Подтверждением этого предположения могут служить данные об обнаружении протеазной активности белка Р150 у вируса краснухи [12], обнаружение фрагмента, мимикрирующего ингибитор Z-зависимой протеазы в белке гексона аденоовириуса. При этом фрагмент, гомологичный ингибитору Z-зависимой протеазы, состоял из 16 аминокислот с очень

высокой степенью гомологии (учитывая изофункциональные аминокислоты) и включал в себя фрагмент из последовательности 6 идентичных аминокислот [3].

Другой потенциальный механизм дезрегуляции вирусными гомологичными фрагментами иммунной системы хозяина может проявляться в индукции иммунного ответа к гомологичным фрагментам вирусных белков, в частности образованием к ним антител, способных также распознавать и блокировать соответственно те белки хозяина, которые их содержат. Подтверждением возможности такого варианта патогенеза аутоиммунитета служат результаты вакцинации против пандемии гриппа 2009–2010 гг. Прививка вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline) обернулась резким возрастанием 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 вируса гриппа и образованием к нему антител, перекрестно реагировавших с рецептором гипокретина (орексина) 2. Как выяснилось, рецептор гипокретина 2 содержит в своей внеклеточной петле мотив, присутствующий и в составе нуклеопротеина [8, 11, 15, 16].

Таким образом, полученные данные дополняют наши представления о том, что проявление нарушений иммунной системы при вирусных инфекциях может быть результатом сложных процессов, связанных с модуляцией врожденной и адаптивной иммунной систем хозяина, и открывают новые подходы к изучению взаимодействия вирусов с иммунной системой хозяина и выявлению новых функций вирусных белков.

Список литературы/References

1. Canedo-Marroquín G., Acevedo-Acevedo O., Rey-Jurado E., Saavedra J.M., Lay M.K., Bueno S.M., Riedel C.A., Kalergis A.M. Modulation of host immunity by human respiratory syncytial virus virulence factors: a synergic inhibition of both innate and adaptive immunity. *Front Cell Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7, pp. 367–380. doi: 10.3389/fcimb.2017.00367
2. Dzananovic E., McKenna S.A., Patel T.R. Viral proteins targeting host protein kinase R to evade an innate immune response: a mini review. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 2018, vol. 34, no. 1, pp. 33–59. doi: 10.1080/02648725.2018.1467151
3. Fonseca G.J., Thillainadesan G., Yousef A.F., Ablack J.N., Mossman K.L., Torchia J., Mymyrk J.S., Adenovirus evasion of interferon-mediated innate immunity by direct antagonism of a cellular histone posttranslational modification. *Cell Host Microbe*, 2012, vol. 11, no. 6, pp. 597–606. doi: 10.1016/j.chom.2012.05.005
4. Goritzka M., Pereira C., Makris S., Durant L.R., Johansson C. T cell responses are elicited against respiratory syncytial virus in the absence of signaling through TLRs, RLRs and IL-1R/IL-18R. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, pp. 18533–18550. doi: 10.1038/srep18533
5. Griffin D.E., Plemper R.K. The immune response in measles: virus control, clearance and protective immunity. *Viruses*, 2016, vol. 8, no. 10, pp. 282–289. doi: 10.3390/v8100282
6. Hendrickx R., Stichling N., Koelen J., Kuryk L., Lipiec A., Greber U.F. Innate immunity to adenovirus. *Hum. Gene Ther.*, 2014, vol. 25, no. 4, pp. 265–284. doi: 10.1089/hum.2014.0
7. Hulda R.J., Dijkman R. Coronaviruses and the human airway: a universal system for virus-host interaction studies. *Front Microbiol.*, 2013, vol. 4, pp. 276–285. doi: 10.1186/s12985-016-0479-5
8. Lecendreux M., Libri V., Jaussent I., Mottez E., Lopez R., Lavault S., Regnault A., Arnulf I., Dauvilliers Y. Impact of cytokine in type 1 narcolepsy: Role of pandemic H1N1 vaccination. *J. Autoimmun.*, 2015, vol. 60, pp. 20–31. doi: 10.1016/j.jaut.2015.03.003

9. Lei J., Hilgenfeld R. RNA-virus proteases counteracting host innate immunity. *FEBS Lett.*, 2017, vol. 591, no. 20, pp. 3190–3210. doi: 10.1002/1873-3468.12827
10. Li Y.H., Wei X., Ji S., Gui S.Y., Zhang S.M. In vivo effects of the NLRP1/NLRP3 inflammasome pathway on latent respiratory virus infection. *Int. J. Mol. Med.*, 2018, vol. 41, no. 6, pp. 3620–3628. doi: 10.3892/ijmm.2018.3521
11. Luo G., Ambati A., Lin L., Bonvalet M., Partinen M., Ji X., Maecker H.T., Mignot E.J. Autoimmunity to hypocretin and molecular mimicry to flu in type 1 narcolepsy. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2018, vol. 115, no. 52, pp. E12323–E12332. doi: 10.1073/pnas.1818150116
12. Matthews J.D., Tzeng W.P., Frey T.K. Determinants in the maturation of rubella virus p200 replicase polyprotein precursor. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 12, pp. 6457–6469. doi: 10.1128/JVI.06132-11
13. Newton A.H., Cardani A., Braciale T.J. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. *Semin. Immunopathol.*, 2016, vol. 8, no. 4, pp. 471–482. doi: 10.1007/s00281-016-0558-0
14. Rockx B., Donaldson E., Frieman M., Sheahan T., Corti D., Lanzavecchia A., Baric R.S. Escape from human monoclonal antibody neutralization affects in vitro and in vivo fitness of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Infect. Dis.*, 2010, vol. 201, no. 6, pp. 946–955. doi: 10.1086/651022
15. Saariaho A.H., Vuorela A., Freitag T.L., Pizza F., Plazzi G., Partinen M., Vaarala O., Meri S. Autoantibodies against ganglioside GM3 are associated with narcolepsy-cataplexy developing after Pandemrix vaccination against 2009 pandemic H1N1 type influenza virus. *J. Autoimmun.*, 2015, vol. 63, pp. 68–75. doi: 10.1016/j.jaut.2015.07.006
16. Sarkhanen T.O., Alakuijala A.P.E., Dauvilliers A., Partinen M.M. Incidence of narcolepsy after H1N1 influenza and vaccinations: Systematic review and meta-analysis. *Sleep Med. Rev.*, 2018, vol. 38, pp. 177–186. doi: 10.1016/j.smrv.2017.06.006
17. Totura A.L., Whitmore A., Agnihothram S., Schäfer A., Katze M.G., Heise M.T., Baric R.S. Toll-like receptor 3 signaling via TRIF contributes to a protective innate immune response to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *mBio*, 2015, vol. 26, no. 3: e00638–15. doi: 10.1128/mBio.00638-15
18. Voelker D.R., Numata M. Phospholipid regulation of innate immunity and respiratory viral infection. *J. Biol. Chem.*, 2019, vol. 294, no. 12, pp. 4282–4289. doi: 10.1074/jbc.AW118.003229
19. Walter J.M., Wunderink R.G. Severe respiratory viral infections: new evidence and changing paradigms. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2017, vol. 31, no. 3, pp. 455–474. doi: 10.1016/j.idc.2017.0
20. Zhang L., Qin Y., Chen M. Viral strategies for triggering and manipulating mitophagy. *Autophagy*, 2018, vol. 14, no. 10, pp. 1665–1673. doi: 10.1080/15548627.2018.1466014

Автор:

Жилинская И.Н., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории системной вирусологии ФГБУ НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Author:

Zhilinskaya I.N., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of System Virology, Smorodintsev Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 18.04.2019

Отправлена на доработку 10.06.2019

Принята к печати 14.03.2020

Received 18.04.2019

Revision received 10.06.2019

Accepted 14.03.2020

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ АПОПТОЗА И ВЫЖИВАНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ДЕТЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ТЕЧЕНИЯ ВГЧ-6-ИНФЕКЦИИ

Н.А. Сахарнов¹, О.В. Уткин¹, Е.Н. Филатова¹, Д.И. Князев¹, Е.А. Кулова², Н.Б. Преснякова¹

¹ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

²ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Резюме. Несмотря на исключительную распространенность вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6), молекулярные механизмы патогенеза ВГЧ-6 инфекции остаются во многом неизученными. В настоящее время не выявлено специфичных молекулярных факторов неблагоприятного течения ВГЧ-6 инфекции, которые позволили бы облегчить выбор адекватной терапии и предупредить развитие осложнений. Целью настоящей работы является анализ экспрессии генов сигнальных путей апоптоза и выживания в лейкоцитах крови детей 7–17 лет при различных формах течения ВГЧ-6-инфекции. Анализ проводился с помощью разработанных нами ДНК-микрочипов, позволяющих оценивать изменения уровней экспрессии как отдельных мРНК, так и суммарных уровней экспрессии генов ($-\Sigma$). В острой фазе ВГЧ-6 инфекции баланс уровней экспрессии исследуемых мРНК и генов смешался в сторону проапоптотических факторов, что может оказывать существенное влияние на чувствительность лейкоцитов к апоптозу. В фазе реконвалесценции большинство альтерированных уровней экспрессии мРНК и генов нормализовалось. Нами выявлен ряд мРНК и генов, уровни экспрессии которых значительно изменились в острой фазе заболевания. По данным литературы такие факторы играют важную функциональную роль в регуляции исследуемых сигнальных путей. С целью поиска ВГЧ-6-ассоциированных факторов, влияющих на формирование клинической картины течения тяжелой герпесвирусной микст-инфекции, был проведен анализ выявленных нами значимых изменений уровней экспрессии мРНК и генов у пациентов с тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией и ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией средней тяжести по сравнению со здоровыми донорами. Обнаружены 5 мРНК (FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326, CASP8AP2-NM_001137667, CASP8-NM_033356, BTK-NM_001287345) и 3 гена (FAS- Σ , Puma/BBC3- Σ , ITCH- Σ), уровни экспрессии которых значительно повышались при ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией и оставались неизменными при ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией. Данные мРНК могут служить кандидатными прогностическими факторами риска развития тяжелых форм герпесвирусной инфекции с участием ВГЧ-6. Настоящая работа значительно расширяет существующие представления о молекулярных механизмах

Адрес для переписки:

Сахарнов Николай Александрович
603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. акад. И.Н. Блохиной.
Тел.: 8 (831) 469-79-46 (служебн.); 8 950 624-87-12 (моб.).
Факс: 8 (831) 469-79-20.
E-mail: saharnov@nniim.ru; saharnov_n@mail.ru

Contacts:

Nikolai A. Sakharnov
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Malaya
Yamskaya str., 71, Blokhina Scientific Research Institute
of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (831) 469-79-46 (office); +7 950 624-87-12 (mobile).
Fax: +7 (831) 469-79-20.
E-mail: saharnov@nniim.ru; saharnov_n@mail.ru

Библиографическое описание:

Сахарнов Н.А., Уткин О.В., Филатова Е.Н., Князев Д.И., Кулова Е.А., Преснякова Н.Б. Анализ экспрессии генов сигнальных путей апоптоза и выживания в лейкоцитах крови детей при различных формах течения ВГЧ-6-инфекции // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 315–328. doi: 10.15789/2220-7619-EAO-1335

Citation:

Sakharnov N.A., Utkin O.V., Filatova E.N., Knyazev D.I., Kulova E.A., Presnyakova N.B. Expression analysis of apoptotic and survival genes in blood leukocytes of children with various forms of HHV-6 infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 315–328. doi: 10.15789/2220-7619-EAO-1335

патогенеза ВГЧ-6 инфекции с участием сигнальных путей апоптоза и выживания. Выявленные нами значимые изменения уровней экспрессии мРНК и генов с наибольшей вероятностью вносят вклад в патогенез ВГЧ-6 инфекции и тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции.

Ключевые слова: ВГЧ-6 инфекция, тяжелая ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция, лейкоциты, экспрессия мРНК, сигнальные пути, апоптоз, ДНК-микрочипы.

EXPRESSION ANALYSIS OF APOPTOTIC AND SURVIVAL GENES IN BLOOD LEUKOCYTES OF CHILDREN WITH VARIOUS FORMS OF HHV-6 INFECTION

Sakharnov N.A.^a, Utkin O.V.^a, Filatova E.N.^a, Knyazev D.I.^a, Kulova E.A.^b, Presnyakova N.B.^a

^a Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^b Privozhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Despite that human herpes virus type 6 (HHV-6) is extremely spread worldwide, molecular mechanisms of behind HHV-6 infection pathogenesis remain largely unexplored. No molecular markers were found linked to unfavorable course of HHV-6 infection which could allow to ease up selecting proper therapy and preventing development of complications. The aim of the study was to analyze expression of apoptosis and survival-related genes in blood leukocytes from 7–17-year-old children upon various forms of HHV-6 infection. The analysis was carried out by using DNA microarrays developed by us allowing to assess changes in expression level both of individual mRNAs and total gene set ($-\Sigma$). It was shown that during the acute phase of HHV-6 infection mRNA level was shifted toward pro-apoptotic factors. In the convalescence phase, most altered mRNA levels returned to normal. We have identified a set of mRNAs and genes whose expression level was significantly changed in acute disease phase. According to available data, these factors play an important role in regulation of studied signaling pathways. In order to search for HHV-6-associated factors, which markedly affect disease pattern of severe herpesvirus mixed infection, we analyzed significant changes of mRNA and genes expression levels in patients with severe HHV-6+EBV+CMV mixed infection and EBV+CMV mixed infection of moderate severity compared with healthy donors. The levels of 5 mRNAs (FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326, CASP8AP2-NM_001137667, CASP8-NM_033356, BTK-NM_001287345) and 3 genes (FAS- Σ , Puma/BBC3- Σ , ITCH- Σ) were significantly increased in severe mixed infection comorbid with HHV-6 (EBV+CMV+HHV-6) but without HHV-6 (EBV+CMV) compared with healthy donors. Most of detected factors belong to Fas-mediated apoptosis pathway, and may be considered as candidate prognostic development factors of severe herpes virus infection involving HHV-6. This study profoundly extends existing understanding on molecular pathogenesis of HHV-6 infection involving apoptosis and pro-survival signaling pathways. Marked changes of mRNA and gene levels most likely contributed to the pathogenesis of HHV-6 as well as severe HHV-6+EBV+CMV mixed infection.

Key words: HHV-6 infection, severe HHV-6+EBV+CMV mixed infection, leukocytes, mRNA expression, signaling pathways, apoptosis.

Введение

Вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) отличается исключительно широким распространением, его носителями является до 95% мирового населения. Инфицирование происходит преимущественно в раннем возрасте и сохраняется пожизненно [6, 7, 9]. ВГЧ-6 является этиологическим агентом внезапной экзантемы (розеолы) у детей [7, 25, 29], а также участвует в развитии инфекционного мононуклеоза [2, 3]. Реактивация ВГЧ-6 инфекции часто возникает у иммунокомпрометированных больных и может приводить к серьезным осложнениям, в том числе гепатиту, энцефалиту и пневмонии вплоть до летального исхода [6, 10]. При микст-инфекции ВГЧ-6 с другими герпесвирусами (ВЭБ — вирусом Эпштейна—Барр и ЦМВ — цитомегаловирусом) усиливается степень выраженности и длительность клинических симптомов заболевания, повышается риск развития осложнений [12].

В настоящее время не выявлено специфических молекулярных факторов неблагоприятного течения ВГЧ-6 инфекции, которые позволили бы облегчить выбор адекватной терапии и предупредить возникновение осложнений. Это связано с недостаточной изученностью молекулярных механизмов патогенеза данного заболевания. По данным литературы ВГЧ-6 инфицирует широкий спектр клеток иммунной системы, проявляя выраженный тропизм к CD4⁺ Т-лимфоцитам, моноцитам и ограниченно реплицируясь в CD8⁺ Т-клетках, В-лимфоцитах, NK-клетках и макрофагах [2, 5]. Хорошо известно, что другие лимфотропные герпесвирусы (ВЭБ, ЦМВ) эффективно модулируют иммунные реакции путем изменения экспрессии генов, регулирующих активацию, пролиферацию и апоптоз в клетках иммунной системы [4, 11, 14, 15, 16, 17, 24]. Выраженное изменение экспрессии генов (в том числе на уровне мРНК), участвующих в регуляции сигнальных путей апоптоза и выживания в иммунных клет-

ках, может отражать молекулярные механизмы иммунопатогенеза ВГЧ-6 инфекции. Для комплексного анализа экспрессии большого количества мРНК традиционные методы исследования (ОТ-ПЦР и его различные варианты) являются трудоемкими и финансово затратными. Одним из возможных инструментов для решения таких задач являются ДНК-микрочипы, которые позволяют провести одновременную детекцию и полуколичественный анализ нескольких тысяч мРНК [1].

Целью настоящей работы является анализ экспрессии генов сигнальных путей апоптоза и выживания в лейкоцитах крови детей, инфицированных ВГЧ-6, при различных формах течения инфекции.

Материалы и методы

Материалом исследования явились образцы периферической крови, полученные от детей и подростков 7–17 лет в острой фазе ВГЧ-6 инфекции средней тяжести ($N = 21$), в острой фазе ВЭБ+ЦМВ-микст-инфекции средней тяжести ($N = 9$) и в острой фазе тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции ($N = 9$). Далее производили повторное взятие образцов крови у тех же пациентов в фазе реконвалесценции при отсутствии клинических и лабораторных признаков заболевания в среднем через 2–2,5 месяца от начала манифестации заболевания. В качестве группы сравнения использовались образцы периферической крови практически здоровых доноров сопоставимого пола и возраста ($N = 23$) (табл. 1).

В работе использовались остаточные количества образцов, полученных для проведения стандартных диагностических исследований в клинической практике. Информированное согласие родителей или опекунов на проведение исследовательской работы в соответствии с Хельсинской декларацией было получено лечащими врачами клиники.

Характеристика пациентов. Набор группы пациентов проводился на базе ГБУЗ НО ДГКБ № 27 «Айболит» г. Нижнего Новгорода. Клинические симптомы герпесвирусной инфекции оценивались на основании физикального исследования и лабораторных данных. Ведущими клиническими симптомами пациентов были острый тонзиллит, тонзиллофарингит, лимфаденопатия, гепатосplenомегалия, лихорадка, фебрильный судорожный приступ, реже — инфекционная экзантема. Из лабораторных анализов пациентам проводился общий (определение доли атипичных мононуклеарных клеток) и биохимический (определение уровней ферментов печени — АсАТ и АлАТ) анализ крови (табл. 1). Выявление этиологических аген-

Таблица 1. Клинические и лабораторные параметры пациентов исследуемых групп
Table 1. Clinical and laboratory parameters of studied groups patients

Диагноз, количество образцов Diagnosis, number of samples	Средний возраст, лет Average age, years old	Тяжесть заболевания Severity of disease	Наличие антител против ВГЧ-6, ВЭБ, ЦМВ Presence of antibody against HHV-6, EBV, CMV	% атипичных мононуклеарных клеток % atypical mononuclear cells	Кратность повышения уровня АсАТ и АлАТ по сравнению с нормой Increase AcAT, ALT levels compared with normal values		Размеры поднижнечелюстных, окологрушечных и заднешейных лимфатическихузлов, см Dimensions of sub-mandibular, parotid and posterior cervical lymphatic nodes, cm
					NORMAL	AST and ALT 1–3 times normal values	
Острая ВГЧ-6 инфекция Acute HHV-6 infection $N = 21$	10,5	средняя moderate	IgG (ВГЧ-6)+ IgG (HHV-6)+	ВГЧ-6+ HHV-6+	8–15	AcAT, ALAT в 1–3 раза AST and ALT 1–3 times normal values	1,5–2,5
Острая ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция Acute EBV+CMV mixed infection $N = 9$	12,5	средняя moderate	IgM (ВЭБ)+ IgM (LMB)+ IgM (EBV)+ IgM (CMV)+	ВЭБ+ЦМВ+ EBV+CMV+	9–10	AcAT, ALAT в 2–3 раза AST and ALT 2–3 times normal values	1,5–2,5
Острая ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция Acute HHV-6+EBV+CMV mixed infection $N = 9$	13,5	тяжелая severe	IgM (ВЭБ)+ IgM (LMB)+ IgG (ВГЧ-6)+ IgM (EBV)+ IgM (CMV)+ IgG (HHV-6)+	ВГЧ-6+ ВЭБ+ ЦМВ+ HHV-6+ EBV+ CMV+	13–25	AcAT в 2–6 раз, AlAT 1–5 раз AST 2–6 normal values, ALT 1–5 normal values	2,0–6,5
Здоровые доноры Healthy donors $N = 23$	12	—	—	—	—	—	—

тов инфекции (ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) проводили на основании методов ИФА и ПЦР в реальном времени. С помощью наборов «Вектор-Бест» (Россия) определяли наличие антител классов IgM и IgG к антигенам ВГЧ-6, ВЭБ и ЦМВ в сыворотке крови пациентов. С помощью наборов «АмплиСенс® EBV-CMV-HHV6-скрин-FL» методом ПЦР в реальном времени выявляли наличие ДНК ЦМВ, ВЭБ и ВГЧ-6 в образцах периферической крови пациентов. ВГЧ-6 инфекция диагностировалась при наличии в крови ДНК ВГЧ-6 и антител IgG к антигенам ВГЧ-6, а микст-инфекция при наличии в крови ДНК и антител IgM/IgG к антигенам ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 в разных сочетаниях. Тяжесть заболевания определялась по комплексным клиническим и лабораторным критериям. Большинство пациентов поступали в стационар в состоянии средней степени тяжести. Тяжелые случаи течения заболевания были выявлены при микст-инфекции ВЭБ+ЦМВ+ВГЧ-6. На основании полученных данных были сформированы группы исследования. Критериями включения пациентов в группы явились: возраст от 7 до 17 лет, установленные диагнозы «ВГЧ-6-инфекция средней тяжести», «ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция средней тяжести», «тяжелая ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция». Критериями невключения явились: возраст младше 7 и старше 17 лет; наличие сопутствующей хронической патологии, влияющей на течение ВГЧ-6-инфекции (туберкулез, ВИЧ-инфекция, сахарный диабет, иммунодефицит). Характеристика клинических и лабораторных параметров пациентов исследуемых групп отражена в таблице 1. Все дети получали симптоматическое лечение герпесвирусной инфекции. В качестве этиотропной терапии ВГЧ-6 инфекции пациентам назначались противовирусные средства (ацикловир, рекомбинантный человеческий интерферон альфа-2 бета с таурином (рчIFN α 2 β), ганцикловир с 12 лет) по показаниям.

В качестве группы сравнения были взяты образцы крови 23 клинически здоровых детей. Набор группы здоровых детей осуществлялся на базе поликлинического отделения ГБУЗ НО ДГКБ № 27 «Айболит» г. Нижнего Новгорода. В исследование включались пациенты, приходившие на плановый прием врача-педиатра и/или диспансеризацию. Критериями включения в группу здоровых детей были: возраст от 7 до 17 лет, отсутствие признаков хронической соматической патологии на момент осмотра, отсутствие установленных проявлений герпесвирусной инфекции (инфекционный мононуклеоз, внезапная экзантема, герпетический стоматит) в течение года до осмотра. Критериями невключения в группу здоровых детей были возраст младше 7 и старше 17 лет,

наличие эпизодов герпесвирусной инфекции в течение 3 месяцев до осмотра, наличие хронической соматической патологии.

Дизайн ДНК-микрочипа. С помощью разработанного нами ранее алгоритма «Splice variants microarray design pipeline» [27] были выбраны последовательности ДНК-зондов, специфичных для мРНК 201 гена сигнальных путей апоптоза и выживания.

Дизайн ДНК-микрочипа моделировали на основе кодирующих (NM_Protein-coding) и некодирующих (NR_Non-protein-coding) последовательностей мРНК, аннотированных в базе данных Ref Seq NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>). Разработанный микрочип содержал 316 ДНК-зондов для оценки уровней экспрессии сплайсированных изоформ мРНК разных генов (далее — уровни экспрессии мРНК), и 138 ДНК-зондов для оценки суммарных уровней экспрессии мРНК, являющихся продуктами одного гена (далее — уровни экспрессии гена, отмечены знаком Σ). Синтез ДНК-зондов проводили на слайдах 12K microarray *in situ* с помощью аппарата «B3 Synthesizer» (CustomArray Inc., США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Пробоподготовка и гибридизация РНК. Образцы крови обрабатывали раствором «Гемолитик» (ЦНИИЭ, Россия) для удаления эритроцитов. Из полученной фракции лейкоцитов выделяли тотальную РНК с помощью набора «Магно-сорб» (ЦНИИЭ, Россия) с последующей очисткой и концентрацией с помощью фенолхлороформа. Тотальную мРНК (1,5–2 мкг) подвергали обратной транскрипции с помощью набора «Mint cDNA synthesis kit» (Евроген, Россия). Полученную кДНК амплифицировали в ходе ПЦР с помощью набора Encyclo («Евроген», Россия) по программе (95°C 25 с — 60°C 25 с — 72°C 6 мин). Амплифициированную кДНК (2 мкг) подвергали транскрипции с помощью набора «T7 RNA-polimerase» (Thermo Scientific, EU). Половина количества уридинтрифосфатов (UTP) в реакционной смеси была заменена на биотинилированные уридинтрифосфаты (ДНК-синтез, Россия), в результате получали пул биотин-меченой РНК, обратно комплементарной мРНК исследуемого образца. Фрагментированную биотин-меченую РНК (2 мкг) гибридизовали на микрочипы при 40°C в течение 18–20 ч. Процессинг микрочипов (блокирование, мечение, отмывка и внесение субстрата) выполняли с помощью набора «ElectraSense Detection Kit» (CustomArray Inc., США) в соответствии с протоколами производителя. Считывание сигналов гибридизации проводили амперометрическим методом с помощью прибора «ElectraSense Reader» и программы «ElectraSense application software» (CustomArray Inc., США).

Проточная цитофлуориметрия. В образцах исследуемых групп и в группе здоровых доноров был проведен анализ содержания субпопуляций лейкоцитов ($CD45^+$), Т-клеток ($CD3^+$), Т-киллеров ($CD3^+ CD8^+$), Т-хеллеров ($CD3^+ CD4^+$), дубль-позитивных Т-клеток ($CD3^+ CD4^+ CD8^+$), В-клеток ($CD19^+$) и NK-клеток ($CD16^+ CD56^+$) (табл. 4). Подсчет количества клеток различных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови проводили методом 6-цветной проточной цитофлуориметрии. Использовали проточный цитофлуориметр «BD FACS Canto II» (Becton, Dickinson and Company, США). Для настройки напряжения на фотоумножителях и коэффициентов компенсации применяли калибровочные частицы «BD FACS™ 6-Color Setup Beads» (BD Biosciences, США). Расчет абсолютного и относительного содержания субпопуляций лимфоцитов периферической крови проводили с применением 6-цветной панели реагентов «BD Multitest™» (BD Biosciences, США) и программного обеспечения «BD FACS Canto clinical software» (BD Biosciences, США).

Алгоритм анализа данных. Расчет изменений относительных уровней экспрессии мРНК проводили по следующему алгоритму: полученные сигналы гибридизации в виде .ecd-файлов экспорттировали в .csv-файлы с помощью программы «ElectraSense Analysis 3.4.2» (CustomArray Inc., США). Далее все расчеты проводили в свободно распространяемой среде программирования R версии 3.6.1 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc.). Данные нормализовали с помощью алгоритма квантильной нормализации [28].

Полученные значения рассматривали в качестве относительных уровней экспрессии изучаемых мРНК (далее — уровней экспрессии мРНК). Для расчета изменений уровней экспрессии мРНК ($FC/fold-change$) использовали средние значения уровней экспрессии мРНК и генов в группах ВГЧ-бостр., ВГЧ-брек., ВЭБ+ЦМВостр., ВЭБ+ЦМВрек., ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВостр., ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВрек. и НОРМ. Показатель FC по отношению к норме рассчитывали по формуле: $FC X (\%) = (X_{\text{сред.}} \times 100 / HOPM_{\text{сред.}}) - 100$, где X — название исследуемой группы.

Далее оценивалась статистическая значимость изменений уровней экспрессии мРНК. Для этого средние значения уровней экспрессии мРНК в группах исследования и у здоровых доноров сравнивали с помощью Т-теста с поправкой на ожидаемую долю ложных отклонений (FDR/False discovery rate test) с расчетом показателя статистической значимости q . При $q < 0,05$ различия между средними значениями считали статистически значимыми.

Нами были сформулированы два основных критерия отбора значимых изменений уровней

экспрессии мРНК при ВГЧ-6 инфекции — значения $q < 0,05$ и $|FC| > 20\%$. При $|FC| < 20\%$ изменения считались не значимыми и далее не рассматривались.

Анализ различий количества клеток субпопуляций лимфоцитов в исследуемых группах по сравнению со здоровыми донорами проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни–Вилкоксона при пороговом значении уровня значимости $p < 0,05$. Расчет корреляций уровней экспрессии мРНК с абсолютным содержанием субпопуляций лимфоцитов проводили с помощью критерия Спирмена при пороговом значении уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты

Изменения уровней экспрессии мРНК при ВГЧ-6 инфекции

Нами проведен анализ уровней экспрессии мРНК и генов апоптоза и выживания в лейкоцитах крови детей в группе пациентов с острой ВГЧ-6 инфекцией средней тяжести и в фазе реконвалесценции по сравнению со здоровыми донорами. Анализируемые мРНК и гены были сгруппированы по функциональной роли в сигнальных каскадах. В результате анализа нами выявлен ряд значимых изменений уровней экспрессии мРНК и генов, описанных далее.

Из проапоптотических факторов внешнего пути апоптоза в острой фазе заболевания выявлялось повышение уровней экспрессии мРНК и генов, кодирующих лиганды рецепторов смерти (TRAIL/TNFSF10- Σ , HVEM-L/TNFSF14- Σ), рецепторы смерти (FAS- Σ , DR3/TNFRSF25- Σ , DR4/TNFRSF10A-NM_003844 и DR5/TNFRSF10B- Σ), медиаторы апоптоза (FADD-NM_003824 и FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326, FLASH/CASP8AP2-NM_001137667), инициаторные каспазы (CASP8-NM_033356, CASP2- Σ) и Fas-активируемую киназу FASTK- Σ . В фазе реконвалесценции уровни экспрессии всех перечисленных мРНК нормализовались (табл. 2).

Среди проапоптотических факторов митохондриального пути апоптоза в острой фазе заболевания выявлялось повышение уровней экспрессии генов PUMA/BBC3- Σ и BAX- Σ . Из других проапоптотических факторов наблюдалось резкое повышение уровня экспрессии гена OMI/HTRA2- Σ , а также уровней экспрессии мРНК и генов элементов апоптосомы (CYCS-NM_018947, APAF-1- Σ , CASP-9- Σ). Из антиапоптотических факторов в острой фазе заболевания детектировалось значительное повышение уровней экспрессии генов BCL2- Σ и BclXL/BCL2L1- Σ , ITCH- Σ , а также уровня экспрессии мРНК ITCH-NM_001257138. В фазе реконва-

Таблица 2. Изменения уровней экспрессии мРНК (FC) в острой фазе ВГЧ-6 инфекции и в фазе реконвалесценции по сравнению со здоровыми донорами

Table 2. Changes of mRNA expression levels (FC) in acute phase of HHV-6 infection and in recovery phase compared to healthy donors

Название гена и номер мРНК в GenBank Gene name and mRNA number in GenBank	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal	Название гена номер мРНК в GenBank Gene name and mRNA number in GenBank	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal
Лиганды рецепторов смерти Death receptors ligands					
TRAIL/TNFRRelated Apoptosis Inducing Ligand/TNFSF10-Σ	39,05, q = 0,01	-4,65, q = 0,69	FAS-Associated Death Domain Protein/FADD-NM_003824	32,39, q = 0,01	5,83, q = 0,57
HVEM-L/Herpesvirus Entry Mediator Ligand/TNFSF14-Σ	45,89, q = 0,01	1,80, q = 0,89	FAS-Associated Factor 1/FAF1-NM_007051	31,22, q = 0,01	-4,42, q = 0,65
Рецепторы смерти Death receptors			Death Associated Protein Kinase 2/DAPK2-NM_014326	43,38, q = 0,02	-1,29, q = 0,93
Fas Cell Surface Death Receptor/FAS-Σ	31,13, q = 0,03	-5,31, q = 0,62	FLASH/Caspase 8 Associated Protein 2/CASP8AP2-NM_001137667	32,61, q = 0,04	-17,20, q = 0,15
DR3/Death receptor 3/TNFRSF25-Σ	57,10, q < 0,01	4,46, q = 0,75	Fas-activated Serine/Threonine Kinase/FASTK-Σ	180,82, q < 0,01	31,43, q = 0,21
DR4/Death receptor 4/TNFRSF10A-NM_003844	20,90, q = 0,03	-1,88, q = 0,82	Инициаторные каспазы Initiator caspases		
DR5/Death receptor 5/TNFRSF10B-Σ	42,95, q = 0,03	-9,36, q = 0,48	Caspase 8/CASP8-NM_033356	48,81, q = 0,04	-7,73, q = 0,63
-	-	-	Caspase 2/CASP2-Σ	51,29, q = 0,01	-2,98, q = 0,81
Проапоптотические митохондриальные факторы Pro-apoptotic mitochondrial factors			Антиапоптотические митохондриальные факторы Anti-apoptotic mitochondrial factors		
PUMA/Bcl-2-Binding Component 3/BBC3-Σ	59,84, q = 0,01	4,50, q = 0,78	Apoptosis Regulator Bcl-2/BCL2-Σ	75,18, q = 0,02	29,27, q = 0,23
BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator/BAK-Σ	23,08, q = 0,04	-6,8, q = 0,48	BclXL/BCL2 Like 1/BCL2L1-Σ	71,26, q < 0,01	7,81, q = 0,69
Элементы апоптосомы Apoptosome elements			Itchy E3 Ubiquitin Protein Ligase/ITCH-Σ	29,65, q = 0,04	-11,60, q = 0,29
Cytochrome C/CYCS-NM_018947	21,63, q = 0,04	4,73, q = 0,64	Itchy E3 Ubiquitin Protein Ligase/ITCH-NM_001257138	42,20, q = 0,04	-15,20, q = 0,27
Apoptotic Protease-Activating Factor-1/APAF-1-Σ	86,19, q < 0,01	-24,4, q = 0,18	Активаторы каспаз Caspase activators		
Caspase 9/CASP-9-Σ	71,46, q = 0,01	21,98, q = 0,31	HtrA Serine Peptidase 2/OMI/HTRA2-Σ	127,96, q < 0,01	49,03, q = 0,07
Эффекторные каспазы Effector caspases			Ингибиторы каспаз Caspase inhibitors		
Caspase 7/CASP7-NM_001267057	22,68, q = 0,04	-7,24, q = 0,44	Baculoviral IAP Repeat Containing 2/BIRC2-Σ	39,07, q = 0,04	-12,90, q = 0,32
Эффекторы апоптоза Apoptotic effectors			NLR Family Apoptosis Inhibitory Protein/NAIP-Σ	135,38, q = 0,01	48,49, q = 0,14
Endonuclease G/ENDOG-NM_004435	24,99, q = 0,02	1,95, q = 0,83	Baculoviral IAP Repeat Containing 2/BIRC3-Σ	-34,94, q = 0,01	-23,60, q = 0,02

Название гена и номер мРНК в GenBank Gene name and mRNA number in GenBank	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal	Название гена номер мРНК в GenBank Gene name and mRNA number in GenBank	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal
Элементы NF-κB-сигнального пути NF-κB signaling elements					
Bruton Tyrosine Kinase/BTK-NM_001287345	43,34, q = 0,04	-11,5, q = 0,47	TGF-Beta Activated Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 1/TAB1-Σ	34,72, q = 0,02	-10,5, q = 0,31
TNFR-associated Protein 1/TRAP-1-Σ	63,98, q < 0,01	-1,1, q = 0,93	MAPK/ERK Kinase Kinase Kinase 4/MAP4K4-NM_001242560	21,11, q = 0,04	1,21, q = 0,9
TNFR-associated Protein 5/TRAFF-5-Σ	48,61, q = 0,01	5,101, q = 0,7	MAP Kinase Kinase 4/MAP2K4-Σ	69,20, q < 0,01	7,71, q = 0,61
NFKB Inhibitor Beta/NFKBIB-Σ	39,55, q = 0,01	3,287, q = 0,78	Mitogen-Activated Protein Kinase 14/MAPK14-Σ	118,02, q < 0,01	2,33, q = 0,9
Nuclear Factor Kappa B Subunit 1/NFKB1-Σ	30,27, q = 0,07	2,708, q = 0,84	Mitogen-Activated Protein Kinase 14/MAPK14-NM_001315	33,68, q = 0,02	0,73, q = 0,95
Nuclear Factor Kappa B Subunit 2/NFKB2-Σ	0,996, q = 0,91	-13,8, q = 0,11	C-Jun N-Terminal Kinase 1/JNK1/MAPK8-Σ	38,19, q = 0,04	-4,26, q = 0,77
-	-	-	C-Jun N-Terminal Kinase 2/JNK2/MAPK9-Σ	41,76, q = 0,02	20,43, q = 0,22
-	-	-	Jun Proto-Oncogene/JUN-NM_002228	7,08, q = 0,56	-14,3, q = 0,17

Примечания. Положительные значения FC — повышение уровня экспрессии мРНК по сравнению с донорами. Отрицательные значения FC — снижение уровня экспрессии мРНК по сравнению с донорами. Σ — суммарный уровень экспрессии гена. Серым отмечены статистически значимые различия при $q < 0,05$.

Notes. Positive FC values indicate an increase in the level of mRNA expression compared to donors. Negative FC values indicate a decrease in the level of mRNA expression compared to donors. Σ — is the total level of gene expression. Gray indicates statistically significant differences at $q < 0,05$.

лесценции уровня экспрессии всех перечисленных мРНК и генов нормализовались (табл. 2).

Из эффекторных каспаз в острой фазе заболевания наблюдалось повышение уровня экспрессии мРНК CASP7-NM_001267057, который нормализовался в фазе реконвалесценции. Среди ингибиторов каспаз в острой фазе инфекции выявлялось повышение уровней экспрессии генов BIRC2-Σ (cIAP-1) и NAIP-Σ (BIRC-1). В то же время уровень экспрессии гена BIRC3-Σ (cIAP-2) снижался и оставался пониженным в фазе реконвалесценции, уровни экспрессии других перечисленных мРНК нормализовались. Из эффекторов апоптоза в острой фазе инфекции отмечалось повышение уровня экспрессии мРНК ENDOG-NM_004435, который нормализовался в фазе реконвалесценции (табл. 2).

Среди активаторов NF-κB-сигналинга в острой фазе заболевания выявлялось повышение уровня экспрессии мРНК BTK-NM_001287345 и уровней экспрессии геномедиаторов TRAP-1-Σ и TRAF-5-Σ. С другой стороны наблюдалось повышение уровня экспрессии гена NFKBIB-Σ — ингибитора NF-κB. В фазе реконвалесценции уровни перечислен-

ных мРНК нормализовались. Уровни экспрессии генов эффекторного звена NF-κB1-Σ и NF-κB2-Σ оставались неизменными как в острой фазе заболевания, так и в фазе реконвалесценции (табл. 2).

Из активаторов и медиаторов JNK-сигналинга в острой фазе заболевания повышались уровни экспрессии генов TAB1-Σ, MAP2K4-Σ, MAPK14-Σ, JNK1/MAPK8-Σ и JNK2/MAPK9-Σ, а также уровни экспрессии мРНК MAP4K4-NM_001242560, MAPK14-NM_001315 (табл. 2). В фазе реконвалесценции экспрессия перечисленных факторов нормализовалась. Необходимо отметить, что уровень экспрессии мРНК JUN-NM_002228 (эффектор JNK-сигналинга) не изменялся как в острой фазе заболевания, так и в фазе реконвалесценции (табл. 2).

Изменения уровней экспрессии мРНК у пациентов с тяжелой (ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ) микст-инфекцией

Был проведен анализ уровней экспрессии мРНК ключевых участников сигнальных каскадов апоптоза и выживания у пациентов с тяжелой микст-инфекцией с участием ВГЧ-6 (ВГЧ-6+

Таблица 3. Изменения уровней экспрессии мРНК (FC) в острой фазе ВГЧ-6 инфекции, тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции и в фазе реконвалесценции по сравнению со здоровыми донорами

Table 3. Changes of mRNA expression levels (FC) in acute phase of HHV-6 + EBV + CMV mixed infection, severe HHV-6 + EBV + CMV mixed infection, EBV + CMV mixed infection, EBV + CMV mixt infection and in recovery phase compared to healthy donors

Название гена и номер мРНК в GenBank Gene name and mRNA number in GenBank	ВГЧ-6 инфекция средней тяжести HHV-6 infection moderate severity		ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция тяжелая HHV-6+EBV+CMV mixt infection severe		ВЭБ+ЦМВ микст-инфекция средней тяжести EBV+CMV mixt infection moderate severity
	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal	FC (%) в острой фазе, значение q FC% in acute phase, qVal	FC (%) в фазе реконвалесценции, значение q FC% in recovery phase, qVal	
Fas Cell Surface Death Receptor/ FAS-Σ	31,13 q = 0,03	-5,31 q = 0,62	67,78 q = 0,04	3,40 q = 0,77	-6,55 q = 0,67
FAS-Associated Factor 1/FAF1- NM_007051	31,22 q = 0,02	-4,42 q = 0,66	55,14 q = 0,04	5,60 q = 0,61	-1,84 q = 0,90
Death Associated Protein Kinase 2/DAPK2-NM_014326	43,38 q = 0,02	-1,29 q = 0,93	91,56 q = 0,04	34,90 q = 0,057	-9,87 q = 0,59
Caspase 8 Associated Protein 2/ CASP8AP2-NM_001137667	32,61 q = 0,04	-17,22 q = 0,15	76,95 q = 0,04	45,88 q = 0,015	23,62 q = 0,30
Caspase 8/CASP8-NM_033356	48,81 q = 0,05	-7,73 q = 0,63	182,81 q = 0,03	5,99 q = 0,76	-28,99 q = 0,13
Bcl-2-Binding Component 3/ Puma/BBC3-Σ	59,84 q = 0,01	4,50 q = 0,78	115,87 q = 0,04	43,26 q = 0,04	-21,41 q = 0,21
Itchy E3 Ubiquitin Protein Ligase/ ITCH-Σ	29,65 q = 0,04	-11,63 q = 0,29	75,74 q = 0,04	22,73 q = 0,12	12,90 q = 0,519
Bruton Tyrosine Kinase/BTK- NM_001287345	43,34 q = 0,04	-11,51 q = 0,47	129,95 q = 0,04	37,45 q = 0,09	-18,56 q = 0,377

Примечания. Положительные значения FC — повышение уровня экспрессии мРНК по сравнению с донорами. Отрицательные значения FC — снижение уровня экспрессии мРНК по сравнению с донорами.

Σ

— суммарный уровень экспрессии гена.

Серым отмечены статистически значимые различия при $q < 0,05$.

Notes. Positive FC values indicate an increase in the level of mRNA expression compared to donors. Negative FC values indicate a decrease in the level of mRNA expression compared to donors. Σ — is the total level of gene expression. Gray indicates statistically significant differences at $q < 0,05$.

ВЭБ+ЦМВ), и микст-инфекцией средней тяжести без участия ВГЧ-6 (ВЭБ+ЦМВ) по сравнению со здоровыми донорами. В результате выявлено 5 мРНК (FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326, CASP8AP2-NM_001137667, CASP8-NM_033356, BTK-NM_001287345) и 3 гена (FAS-Σ, PUMA/BBC3-Σ, ITCH-Σ,) уровни экспрессии которых были значительно повышены в острой фазе тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции по сравнению со здоровыми донорами. При этом у пациентов в острой фазе ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции изменения уровней экспрессии данных мРНК и генов не были статистически значимыми. В фазе реконвалесценции после тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции уровень экспрессии мРНК CASP8AP2-NM_001137667 и уровень экспрессии гена PUMA/BBC3-Σ оставались повышенными по сравнению со здоровыми донорами (табл. 3).

Содержание субпопуляций лимфоцитов в образцах исследуемых групп

В острой фазе ВГЧ-6 инфекции по сравнению со здоровыми донорами было выявлено повышение содержания CD45⁺ лейкоцитов (в 1,3 раза), CD3⁺ Т-клеток (в 1,3 раза) и CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов (в 1,5 раза). В фазе реконвалесценции количество клеток нормализовалось (табл. 4). В острой фазе ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции отмечалось снижение количества В-клеток (CD19⁺) (в 1,8 раза), которое оставалось сниженным в фазе реконвалесценции (в 1,9 раза) (табл. 4). В ходе тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции не было выявлено статистически значимых изменений количества клеток по сравнению с нормой (табл. 4).

Взаимосвязь между уровнями экспрессии мРНК и содержанием субпопуляций лимфоцитов в острой фазе ВГЧ-6 инфекции

Проведен корреляционный анализ уровней экспрессии 5 мРНК и 3 генов — кандидатных факторов риска развития тяжелых форм заболевания — с представленностью субпопуляций лимфоцитов в острой фазе ВГЧ-6 инфекции и в острой фазе тяжелой микст-инфекции. В острой фазе ВГЧ-6 инфекции уровень экспрессии мРНК FLASH/CASP8AP2-NM_001137667 коррелировал с содержанием CD3⁺ Т-клеток (0,456, $p = 0,038$) и CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов (0,543, $p = 0,011$), а уровень экспрессии мРНК FAF1-NM_007051 коррелировал с содержанием CD45⁺ лейкоцитов (0,558, $p = 0,009$) и CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов (0,468, $p = 0,032$). В острой фазе тяжелой микст-инфекции (а также и в других группах исследования) корреляций между уровнями экспрессии данных мРНК и содержанием перечисленных субпопуляций лимфоцитов не выявлялось.

Обсуждение

Особенности экспрессии генов апоптоза и выживания при ВГЧ-6 инфекции на уровне транскрипции практически не изучены. По немногим литературным данным исследования чувствительности различных типов ВГЧ-6-инфицированных клеток к апоптозу проводились на клеточном и белковом уровне. Было показано, что ВГЧ-6 инициирует апоптоз различных субпопуляций Т-клеток *in vitro* и *in vivo* [18, 21, 30]. В отдельных случаях добавление антител против рецептора смерти Fas усиливала данный эффект [21]. По данным Gupta и соавт. ВГЧ-6-индуцированный апоптоз Т-клеток ассоциировался с активацией каспаз 3, 8 и 9, что свидетельствовало об активности внешнего и внутреннего (митохондриального) сигнальных путей апоптоза [18].

Наши данные подтверждают активацию многих факторов внешнего пути апоптоза, в том числе участвующих в Fas-опосредованном сигнальном пути в лейкоцитах крови в острой фазе ВГЧ-6 инфекции. Показано, что в острой фазе ВГЧ-6 инфекции по сравнению со здоровыми донорами баланс уровней экспрессии мРНК и генов смешается в сторону проапоптотических факторов. Был выявлен ряд мРНК и генов, изменения уровней экспрессии которых были значимыми согласно ранее установленным нами критериям. В фазе реконвалесценции большинство альтерированных уровней мРНК нормализовалось. Нами впервые показано, что в лейкоцитах периферической крови выявляется значительное повышение уровней экспрессии мРНК и генов-участников внешнего пути апоптоза: лигандов (TRAIL/TNFSF10-Σ), рецепторов (FAS-Σ, DR3/TNFRSF25-Σ, DR4/TNFRSF10A-NM_003844, DR5/TNFRSF10B-Σ), медиаторов (FADD-NM_003824, FAF1-NM_007051, FLASH/CASP8AP2-NM_001137667), киназы (FASTK-Σ) и инициаторной каспазы-8 (CASP8-NM_033356). Полученные данные указывают на активацию внешнего пути апоптоза, которая может одновременно индуцироваться несколькими рецепторами смерти и проапоптотическими медиаторами. FAF-1 и FLASH являются менее изученными проапоптотическими медиаторами по сравнению с FADD. Показано, что оба из них входят в состав комплекса DISC и ассоциированы с активацией Fas-опосредованного апоптоза [13, 20, 23, 26]. Отметим, что для острой фазы ВГЧ-6 инфекции было также характерно существенное повышение уровня экспрессии гена тирозин-киназы FASTK-Σ, которая, по данным литературы, является важным индуктором апоптоза лимфоцитов. Показано, что FASTK активируется

Таблица 4. Количество клеток субпопуляций лимфоцитов в группах исследования
Table 4. The number of cells in leukocyte subpopulations in study groups

	Лейкоциты CD45+ кл/мкл, значение р Leukocytes CD45+ cell/µl, pVal	T-клетки CD3+ кл/мкл, значение р T-cells CD3+ cell/µl, pVal	T-киллеры CD3+CD8+ кл/мкл, значение р T-killers CD3+CD8+ cell/µl, pVal	T-хелперы CD3+CD4+ кл/мкл, значение р T-helpers CD3+CD4+ cell/µl, pVal	ДЛ-Т-клетки CD3+CD4+CD8+ кл/мкл, значение р Double positive T-cells CD3+CD4+CD8+ cell/µl, pVal	NK-клетки CD16+CD56+ кл/мкл, значение р NK-cells CD16+CD56+ cell/µl, pVal	B-клетки CD19+ кл/мкл, значение р B cells CD19+ cell/µl, pVal
ВГЧ-6 в острый фазе HHV-6 in acute phase	3280,0 (3145,3; 3389,5) p = 0,006	2347,5 (1988,6; 2502,9) p = 0,010	793,7 (715,3; 942,2) p = 0,107	1317,4 (1043,1; 1462,4) p = 0,010	16,6 (10,7; 20,86) p = 0,962	436,9 (344,6; 549,7) p = 0,288	420,0 (284,6; 456,7) p = 0,962
ВГЧ-6 в фазе реконв. HHV-6 in recovery phase	3212,8 (2669,3; 3426,1) p = 0,055	2336,6 (1732,3; 2508,4) p = 0,077	701,1 (545,2; 956,1) p = 0,666	1215,9 (946,1; 1327,7) p = 0,083	17,5 (9,0; 39,3) p = 0,701	403,2 (324,4; 544,5) p = 0,310	426,7 (378,6; 542,2) p = 0,310
ВЭБ+ЦМВ в острый фазе EBV+CMV in acute phase	2601,3 (2359,2; 2859,4) p = 0,821	1690,3 (1519,4; 2182,7) p = 0,88	871,9 (616,5; 1075,5) p = 0,415	830,2 (774,3; 866,3) p = 0,312	10,3 (8,2; 20,4) p = 0,541	473,6 (444,7; 585,0) p = 0,134	193,9 (106,6; 233,7) p = 0,041
ВЭБ+ЦМВ в фазе реконв. EBV+CMV in recovery phase	2313,9 (2308,6; 2319,3) p = 0,427	1705,5 (1676,7; 1734,2) p = 0,88	656,6 (541,1; 772,1) p = 0,99	986,0 (924,0; 1048,0) p = 0,54	23,2 (16,2; 30,1) p = 0,88	401,1 (395,2; 407,2) p = 0,6	182,3 (161,0; 203,7) p = 0,027
ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ в острый фазе HHV-6+EBV+CMV in acute phase	2249,7 (2014,0; 2842,4) p = 0,88	1475,6 (1354,1; 1977,3) p = 0,821	544,3 (474,8; 838,2) p = 0,88	853,6 (746,8; 1040,2) p = 0,821	10,0 (8,7; 12,1) p = 0,113	335,8 (301,1; 509,1) p = 0,704	250,0 (242,2; 331,8) p = 0,395
ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ в фазе реконв. HHV-6+EBV+CMV in recovery phase	3049,8 (2578,4; 3330,8) p = 0,352	1696,4 (1547,4; 2174,0) p = 0,821	812,0 (667,9; 988,6) p = 0,352	808,2 (759,2; 1098,0) p = 0,762	13,5 (12,7; 14,1) p = 0,275	628,5 (440,6; 704,9) p = 0,182	437,4 (369,6; 492,7) p = 0,541
Здоровые доноры Healthy donors	2504,2 (2161,2; 2745,1)	1759 (1493,7; 1958,2)	718,2 (525,3; 809,1)	902,1 (824,6; 1039,1)	15,5 (13,9; 19,7)	354,1 (240,0; 461,5)	341,3 (259,6; 493,2)

Примечания. Значения количества клеток представлены в виде медианы, 25 и 75 процентилей, р – уровень статистической значимости различий значений пациентов и здоровых доноров. Серым отмечены значения р < 0,05.
Notes. Numbers of cells are presented as medians, 25 and 75 percentiles, p is the level of statistical significance of differences in values of patients and healthy donors. Gray indicates p < 0,05.

в ходе Fas-опосредованного апоптоза и фосфорилирует ядерный регулятор TIA-1, который изменяет баланс сплайсинга в сторону образования полноразмерной мРНК, кодирующей проапоптотическую форму Fas [22].

Нами показано, что в острой фазе ВГЧ-6 инфекции баланс уровней экспрессии мРНК и генов также смешался в сторону проапоптотических митохондриальных факторов (BAH-Σ, PUMA/BBC3-Σ) и элементов апоптосомы (CYCS-NM_018947, APAF-1-Σ, CASP-9-Σ), что указывает на активацию некоторых звеньев митохондриального пути апоптоза. Однако, наряду с этим, повышались и уровни экспрессии генов антиапоптотических митохондриальных факторов (BCL2-Σ, BCLXL/BCL2L1-Σ, ITCH-Σ), вносящих свой вклад в сложную картину межмолекулярных взаимоотношений в структуре апоптоз-ассоциированного сигналинга. В период реконвалесценции альтерированные уровни экспрессии мРНК большинства факторов нормализовались. Известно, что фактор BCL-XL является специфическим антагонистом проапоптотического фактора PUMA/BBC3-Σ [31]. Возможно, выявленное нами синхронное повышение уровней экспрессии генов BCLXL-Σ и PUMA/BBC3-Σ взаимно нейтрализует их апоптоз-ассоцииированную активность. Также известно, что убиквитин-лигаза ITCH опосредует протеасомную деградацию проапоптотического митохондриального фактора BID [8] и, таким образом, блокирует активацию митохондриального пути апоптоза.

Согласно полученным нами данным, в острой фазе ВГЧ-6 инфекции значительно повышались уровни экспрессии мРНК и генов каспазы CASP7-NM_001267057, активатора каспаз ОМИ/HTRA2-Σ и эндонуклеазы G ENDOG-NM_004435, что свидетельствует об активации факторов, участвующих в реализации эффекторной фазы апоптоза. В пользу этого также говорит снижение уровня экспрессии гена cIAP-2/BIRC3-Σ, являющегося ингибитором эффекторных каспаз. С другой стороны в острой фазе ВГЧ-6 инфекции детектировалось повышение уровней экспрессии двух генов cIAP-1/BIRC2-Σ и BIRC-1/NAIP-Σ, взаимодействующих с эффекторными каспазами, и проявляющих антиапоптотические свойства.

Таким образом, нами показано, что в лейкоцитах периферической крови в острой фазе ВГЧ-6 инфекции баланс уровней экспрессии мРНК смешается в сторону проапоптотических факторов, связанных с реализацией как внешнего, так и митохондриального путей апоптоза, а также активацией его эффекторных элементов. Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым ВГЧ-6 может инициировать апоптоз различных субпо-

пуляций лимфоцитов в условиях *in vitro* и *in vivo* [18, 19, 30]; в отношении суммарной фракции лейкоцитов периферической крови данные получены нами впервые. С другой стороны мы обнаружили повышение экспрессии ряда мРНК с антиапоптотическими функциями, что может являться отражением антагонистических взаимодействий между проапоптотическим влиянием ВГЧ-6, направленным на апоптоз лимфоцитов, как факторов адаптивного иммунитета, так и иммунными факторами, направленными на выживание клеток в ходе антивирусного иммунного ответа.

Нами показано, что в острой фазе ВГЧ-6 инфекции в лейкоцитах периферической крови на фоне повышения уровней экспрессии мРНК и генов активаторов и медиаторов NF-κB- и JNK-опосредованных сигнальных путей, уровни экспрессии мРНК и генов эффекторного звена (NF-κB1, NF-κB2, cJun) оставались неизменными по сравнению со здоровыми донорами, что может свидетельствовать об отсутствии выраженного иммунного ответа на инфекцию, а также косвенно объяснять менее острые клинические проявления ВГЧ-6 инфекции по сравнению с ВЭБ и ЦМВ инфекциями.

С целью поиска ВГЧ-6-ассоциированных факторов, влияющих на утяжеление клинической картины микст-инфекции, проведен анализ выявленных нами изменений уровней экспрессии мРНК и генов у пациентов с тяжелой микст-инфекцией с участием ВГЧ-6 (ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ), и микст-инфекцией средней тяжести без участия ВГЧ-6 (ВЭБ+ЦМВ) по сравнению со здоровыми донорами. В результате обнаружено 5 мРНК (FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326, CASP8AP2-NM_001137667, CASP8-NM_033356, BTK-NM_001287345), и 3 гена (FAS-Σ, Puma/BBC3-Σ, ITCH-Σ) уровни экспрессии которых были значительно повышены в острой фазе ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции и не изменились в группе ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции (табл. 3), что указывает на ВГЧ-6-ассоциированный характер изменений данных факторов. По функциональной роли в сигнальных путях к антиапоптотическим относятся 2 фактора — BTK-NM_001287345 активатор В-клеточного иммунного ответа, и ITCH-Σ — ингибитор митохондриального апоптоза. Большинство выявленных нами факторов относятся к проапоптотическим участникам сигнального пути Fas-опосредованного апоптоза (FAS-Σ, CASP8-NM_033356, CASP8AP2-NM_001137667, FAF1-NM_007051, DAPK2-NM_014326). Кроме того, PUMA/BBC3-Σ принадлежит к функциональной группе проапоптотических факторов митохондриального апоптоза. Необходимо отметить, что в фазе реконвалесценции после тяжелой

ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции уровни экспрессии мРНК CASP8AP2-NM_001137667 и гена PUMA/BBC3-Σ оставались повышенными по сравнению со здоровыми донорами, в отличие от ВГЧ-6 инфекции в фазе реконвалесценции, где данные уровни нормализовались (табл. 3), что отражает пролонгированное воздействие данных факторов в условиях тяжелой микст-инфекции и, возможно, связано с длительностью ее клинических проявлений.

Таким образом, специфическое влияние ВГЧ-6 на утяжеление клинической картины ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции может быть связано с изменением уровней экспрессии мРНК ряда проапоптотических факторов и активацией внешнего Fas-опосредованного пути апоптоза клеток. Выявленные нами мРНК могут служить кандидатными прогностическими факторами риска развития тяжелых форм герпесвирусной инфекции с участием ВГЧ-6.

Нами было показано, что в острой фазе ВГЧ-6 инфекции уровень экспрессии мРНК FLASH/CASP8AP2-NM_001137667 коррелировал с содержанием CD3⁺ Т-клеток и CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов, а уровень экспрессии мРНК FAF1-NM_007051 коррелировал с содержанием CD45⁺ лейкоцитов и CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов. Выявленные нами взаимосвязи соответствовали изменениям содержания субпопуляций (CD3⁺) Т-клеток, (CD3⁺CD4⁺) Т-хелперов и (CD45⁺) лейкоцитов в острой фазе ВГЧ-6 инфекции по сравнению со здоровыми донорами. Мы предполагаем, что клетки данных субпопуляций вносят основной вклад в экспрессию мРНК FLASH/CASP8AP2-NM_001137667 и FAF1-NM_007051. Данные мРНК могут играть существенную роль в функционировании и регуляции содержания перечисленных субпопуляций лимфоцитов в ходе противовирусного иммунного ответа. В острой фазе тяжелой микст-инфекции (а также в других группах исследования) корреляций между уровнями экспрессии данных мРНК и содержанием перечисленных субпопуляций не выявлялось, что соответствовало факту отсутствия различий в содержании субпопуляций лимфоцитов в острой фазе тяжелой микст-инфекции по сравнению со здоровыми донорами. Для оценки непосредственного влияния обнаруженных нами изменений уровней мРНК на содержание и функциональные свойства клеток перечисленных субпопуляций в ходе ВГЧ-6 инфекции необходимы дальнейшие исследования.

Список литературы/References

1. Князев Д.И., Старикова В.Д., Уткин О.В., Солнцев Л.А., Сахарнов Н.А., Ефимов Е.И. Особенности спlicing-ориентированных ДНК-микрочипов и их применение в биомедицинских исследованиях (обзор) // Современные технологии в медицине. 2015. Т. 7, № 4. С. 162–173. [Knyazev D.I., Starikova V.D., Utkin O.V., Solntsev L.A., Sakharnov N.A., Efimov E.I. Features of splicing-oriented DNA microarrays and their application in biomedical research (review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine*, 2015, vol. 7, no. 4. pp. 162–173. doi: 10.17691/stm2015.7.4.23 (In Russ.)]

Заключение

С помощью ДНК-микрочипов проведен полу-количественный анализ уровней экспрессии мРНК и генов апоптоза и выживания в лейкоцитах крови детей с ВГЧ-6 инфекцией в острой фазе заболевания и в фазе реконвалесценции по сравнению со здоровыми донорами. Показано, что в острой фазе инфекции баланс уровней экспрессии мРНК и генов смешался в сторону проапоптотических факторов, что может оказывать существенное влияние на чувствительность лейкоцитов к апоптозу. В фазе реконвалесценции большинство уровней экспрессии мРНК и генов нормализовалось. Нами выявлен ряд мРНК и генов, экспрессия которых значительно изменялась в острой фазе заболевания. Данные факторы по литературным данным играют важную функциональную роль в регуляции исследуемых сигнальных путей. С целью поиска ВГЧ-6-ассоциированных факторов, влияющих на утяжеление клинической картины течения герпесвирусной микст-инфекции, проведен анализ выявленных нами изменений уровней экспрессии мРНК и генов у пациентов с тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией и ВЭБ+ЦМВ микст-инфекцией средней тяжести по сравнению со здоровыми донорами. Обнаружены 5 мРНК и 3 гена, уровни экспрессии которых были существенно повышенны при ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции и оставались неизменными при ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции. С точки зрения функциональной принадлежности большинство таких мРНК и генов являются ключевыми участниками сигнального пути Fas-опосредованного апоптоза. Таким образом, вклад ВГЧ-6 в утяжеление клинической картины тяжелой микст-инфекции предположительно связан с активацией данного сигнального пути и выявленные мРНК могут служить кандидатными прогностическими факторами риска развития тяжелых форм герпесвирусной инфекции с участием ВГЧ-6.

Настоящая работа значительно расширяет существующие представления о молекулярных механизмах патогенеза ВГЧ-6 инфекции, в реализации которых задействованы сигнальные пути апоптоза и выживания. Выявленные нами изменения уровней экспрессии мРНК и генов сигнальных путей апоптоза и выживания с наибольшей вероятностью вносят вклад в патогенез ВГЧ-6 инфекции и тяжелой ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ микст-инфекции.

2. Новосад Е.В., Шамшева О.В., Львов Н.Д., Мельниченко А.В., Егорова Н.Ю., Михайлowsкая Г.В., Никитина А.А., Зоненшайн Т.П. Инфекционный мононуклеоз, ассоциированный с вирусом герпеса 6 типа // Детские инфекции. 2008. Т. 7, № 1. С. 36–38. [Novosad E.V., Shamsheva O.V., Lvov N.D., Melnichenko A.V., Egorova N.Yu., Mikhailovskaya G.V. Infectious mononucleosis associated with herpes simplex virus type 6. *Detskie Infektsii = Children Infections*, 2008, vol. 7, no. 1, pp. 36–38. (In Russ.)]
3. Тимченко В.Н., Хмилевская С.А. Болезни цивилизации (корь, ВЭБ-мононуклеоз) в практике педиатра: руководство для врачей. СПб.: Специальная Литература, 2017. 527 с. [Timchenko V.N., Khmilevskaya S.A. Diseases of civilization (measles, EBV-mononucleosis) in the practice of a pediatrician: a guide for doctors. St. Petersburg: Special Literature, 2017. 527 p. (In Russ.)]
4. Филатова Е.Н., Уткин О.В., Анисенкова Е.В., Преснякова Н.Б., Сычева Т.Д., Краснов В.В., Сенягина Н.Е., Кулова Е.А., Ефимов Е.И. Оценка уровня апоптоза наивных CD8+ Т-лимфоцитов у детей с острым инфекционным мононуклеозом при активации рецепторов CD95 и DR3 // Современные технологии в медицине. 2015. Т. 7, № 3. С. 109–118. [Filatova E.N., Utkin O.V., Anisenkova E.V., Presnyakova N.B., Sycheva T.D., Krasnov V.V., Senyagina N.E., Kulova E.A., Efimov E.I. Assessment of apoptosis level of naive CD8+ T-lymphocytes in children with acute infectious mononucleosis upon activation of CD95 and DR3 receptors. *Sovremennye tekhnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine*, 2015, vol. 7, no. 3, pp. 109–118. doi: 10.17691/stm2015.7.3.16 (In Russ.)]
5. Филатова Е.Н., Уткин О.В. Современные подходы к моделированию герпесвирусной инфекции // Медиаль, 2014. С. 172–197. [Filatova E.N., Utkin O.V., Modern approaches to the modeling of herpes infection. *MediAl*. 2014, vol. 2, no. 12, pp. 172–197. (In Russ.)]
6. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2015, vol. 28, no. 2, pp. 313–335. doi: 10.1128/CMR.00122-14.
7. Akashi K., Eizuru Y., Sumiyoshi Y., Minematsu T., Hara S., Harada M., Kikuchi M., Niho Y., Minamishima Y. Brief report: severe infectious mononucleosis-like syndrome and primary human herpesvirus 6 infection in an adult. *N. Engl. J. Med.*, 1993, vol. 329, pp. 168–171. doi: 10.1056/NEJM199307153290304
8. Azakir B.A., Desrochers G., Angers A. The ubiquitin ligase Itch mediates the antiapoptotic activity of epidermal growth factor by promoting the ubiquitylation and degradation of the truncated C-terminal portion of Bid. *FEBS J.*, 2010, vol. 277, no. 5, pp. 1319–1330. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07562.x
9. Balachandra K., Ayuthaya P., Auwanit W., Jayavasu C., Okuno T., Yamanishi K., Takahashi M. Prevalence of antibody to human, herpesvirus 6 in women and children. *Microbiol. Immunol.*, 1989, vol. 33, pp. 515–518. doi: 10.1111/j.1348-0421.1989.tb02001.x
10. Beović B., Pečarić-Meglič N., Marin J., Bedernjak J., Muzlović I., Čižman M. Fatal human herpesvirus 6-associated multifocal meningoencephalitis in an adult female patient. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2001, vol. 33, no. 12, pp. 942–944. doi: 10.1080/00365540110076570
11. Brune W. Inhibition of programmed cell death by cytomegaloviruses. *Virus Res.*, 2011, vol. 15, pp. 144–150. doi: 10.1016/j.virusres.2010.10.012
12. Cavallo M.L., Castrovilli A., D’Introno A., Perrone A., Polito A., Lenato G.M., Sabbà C.A. A systemic and severe infection via cytomegalovirus and other herpesviruses in a young apparently immunocompetent patient: a case report. *J. Med. Cases*, 2017, vol. 8, no. 9, pp. 265–268. doi: <https://doi.org/10.14740/jmc2865w>
13. Chu K., Niu X., Williams L.T. A Fas-associated protein factor, FAF1, potentiates Fas-mediated apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995, vol. 92, pp. 11894–11898
14. Fliss P.M., Brune W. Prevention of cellular suicide by cytomegaloviruses. *Viruses*, 2012, vol. 4, pp. 1928–1949. doi: 10.3390/v4101928
15. Floettmann J.E., Rowe M. Epstein–Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) C-terminus activation region 2 (CTAR2) maps to the far C-terminus and requires oligomerisation for NF-κB activation. *Oncogene*, 1997, vol. 15, pp. 1851–1858. doi: 10.1038/sj.onc.1201359
16. Fu Q., He C., Mao Z.R. Epstein–Barr virus interactions with the Bcl-2 protein family and apoptosis in human tumor cells. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2013, vol. 14, no. 1, pp. 8–24. doi: 10.1631/jzus.B1200189
17. Goldmacher V.S., Bartle L.M., Skaletskaya A., Dionne C.A., Kedersha N.L., Vater C.A., Han J.W., Lutz R.J., Watanabe S., Cahir McFarland E.D., Kieff E.D., Mocarski E.S., Chittenden T. A cytomegalovirus-encoded mitochondria-localized inhibitor of apoptosis structurally unrelated to Bcl-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, pp. 12536–12541. doi: 10.1073/pnas.96.22.12536
18. Gupta S., Agrawal S., Gollapudi S. Differential effect of human herpesvirus 6A on cell division and apoptosis among naïve and central and effector memory CD4 and CD8 T-cell subsets. *J. Virol.*, 2009, pp. 5442–5450. doi: 10.1128/JVI.00106-09
19. Ichimi, R., Jin-no T., Ito M. Induction of apoptosis in cord blood lymphocytes by HHV-6. *J. Med. Virol.*, 1999, vol. 58, pp. 63–68. doi: 10.1002/(sici)1096-9071(199905)58:1<63::aid-jmv10>3.0.co;2-c
20. Imai Y., Kimura T., Murakami A., Yajima N., Sakamaki K., Yonehara S. The CED-4-homologous protein FLASH is involved in Fas-mediated activation of caspase-8 during apoptosis. *Nature*, 1999, vol. 398, pp. 777–785. doi: 10.1038/19709
21. Inoue Y., Yasukawa M., Fujita S. Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6. *J. Virology*, 1997, vol. 71, pp. 3751–3759.
22. Izquierdo J.M., Valcárcel J. Fas-activated serine/threonine kinase (FASTK) synergizes with TIA-1/TIAR proteins to regulate Fas alternative splicing. *J. Biol. Chem.*, 2007, vol. 282, no. 3, pp. 1539–1543. doi: 10.1074/jbc.C600198200
23. Milovic-Holm K., Krieghoff E., Jensen K., Will H., Hofmann T.G. FLASH links the CD95 signaling pathway to the cell nucleus and nuclear bodies. *EMBO J.*, 2007, vol. 26, pp. 391–401. doi: 10.1038/sj.emboj.7601504
24. O’Brien V. Viruses and apoptosis. *J. Gen. Virol.*, 1998, vol. 79, pp. 1833–1845. doi: 10.1099/0022-1317-79-8-1833
25. Pruksanonda P., Hall C.B., Insel R.A., McIntyre K., Pellett P.E., Long C.E., Schnabel K.C., Pincus P.H., Stamey F.R., Dambaugh T.R., Stewart J.A. Primary human herpesvirus infection in young children. *New Engl. J. Med.*, 1992, vol. 326, no. 22, pp. 1445–1452. doi: 10.1056/NEJM199205283262201
26. Ryu S.W., Lee S.J., Park M.Y., Jun J.I., Jung Y.K., Kim E. Fas-associated factor 1, FAF1, is a member of Fas death-inducing Signaling Complex. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, pp. 24003–24010. doi: 10.1074/jbc.M302200200

27. Solntsev L.A., Starikova V.D., Sakharnov N.A., Knyazev D.I., Utkin O.V. Strategy of probe selection for studying mRNAs that participate in receptor-mediated apoptosis signaling. *Mol. Biol.*, 2015, vol. 49, no. 3, pp. 457–465. doi: 10.1134/S0026893315030164
28. Wu Z., Aryee M. J. Subset quantile normalization using negative control feature. *J. Comput. Biol.*, 2010, vol. 17, no. 10, pp. 1385–1395. doi: 10.1089/cmb.2010.0049
29. Yamanishi K., Okuno T., Shiraki K., Takahashi M., Kondo T., Asano Y., Kurata T. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum. *Lancet*, 1988, vol. 1, pp. 1065–1067. doi: 10.1016/s0140-6736(88)91893-4
30. Yasukawa M., Inoue Y., Ohminami H., Terada K., Fujita S. Apoptosis of CD4 T lymphocytes in human herpesvirus-6 infection. *J. Gen. Virol.*, 1998, vol. 79, pp. 143–147. doi: 10.1099/0022-1317-79-1-143
31. Yu J., Zhang L., Hwang P. M., Kinzler K.W., Vogelstein B. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cells. *Mol. Cell*, 2001, vol. 7, no. 3, pp. 673–682.

Авторы:

Сахарнов Н.А., научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Уткин О.В., к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Филатова Е.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Князев Д.И., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Кулова Е.А., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней Приволжского исследовательского медицинского университета, Нижний Новгород, Россия;
Преснякова Н.Б., научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Sakharnov N.A., Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Utkin O.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Filatova E.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Knyazev D.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Kulova E.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Infectious Diseases Department, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Presnyakova N.B., Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ НЕЙРОПЕПТИДОВ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

С.В. Кныш¹, Е.В. Маркелова¹, А.И. Симакова¹, А.В. Караулов²

¹ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Система нейропептидов является важной частью взаимодействия нервной системы с эндокринной и иммунной. Пептидные регуляторы отвечают за непрерывность связи элементов систем, поддерживающих гомеостаз в организме, однако несмотря на обилие исследований в области нейропептидов, расшифрованы не все конкретные механизмы и особенности взаимодействия белковых молекул с клетками и элементами иммунной системы, в том числе и при заболеваниях. Цель исследования: провести комплексную оценку состояния системы нейропептидов у пациентов с опоясывающим герпесом. *Материалы и методы.* Было обследовано 106 пациентов, находящихся на стационарном лечении с диагнозом опоясывающий герпес в период с 2016 по 2019 гг. Группу контроля составили 30 практически здоровых добровольцев сопоставимых по возрасту и полу. У всех пациентов был установлен и верифицирован диагноз, произведен забор сыворотки крови в первые сутки госпитализации. Через 3 месяца после выписки проводилось мониторирование состояния пациентов и их болевого синдрома. Это позволило ретроспективно разделить пациентов на 3 группы. Группа 1 — пациенты с опоясывающим герпесом, сопровождающимся слабым или умеренным болевым синдромом; группа 2 — пациенты с опоясывающим герпесом, сопровождающимся сильной болью; группа 3 — пациенты с опоясывающим герпесом, осложнившимся постгерпетической невралгией. Определение белка S100B, основного белка миелина, фактора роста нервов, мозгового нейротрофического фактора, нейронспецифической энолазы в сыворотке венозной крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США). *Результаты.* Было установлено достоверное повышение сывороточного содержания белка S100B во всех группах в сравнении с группой контроля, без различий между группами пациентов. Основной белок миелина был достоверно выше во всех исследуемых группах относительно контроля. Показатели в группе 2 были достоверно выше, чем в группах 1 и 3. Содержание фактора роста нервов было достоверно повышено в группе 1 в сравнении с контролем, с группами 2 и 3. В группе 3 показатель был существенно ниже, чем в группе контроля и в группе 2. Мозговой нейротрофический фактор был достоверно снижен во всех обследуемых группах в сравнении с контрольными значениями, без значимых различий между группами. Уровень нейронспецифической энолазы в сыворотке крови был достоверно повышен относительно группы контроля и остальных двух групп пациентов лишь в группе 3. Полученные данные позволили выделить два классификатора для оценки риска развития постгерпетической невралгии в острый период опоясывающего герпеса, а также дали углубленное понимание патогенеза нейроиммунных нарушений, сопровождающих опоясывающий герпес.

Ключевые слова: нейропептиды, герпес, опоясывающий лишай, S100, MPB, NGF, BDNF, NSE.

Адрес для переписки:

Кныш Сергей Васильевич
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2,
Тихоокеанский государственный медицинский университет.
Тел.: 8 995 773-65-23.
E-mail: immunolog.vl@gmail.com

Contacts:

Sergei V. Knysh
690002, Russian Federation, Vladivostok, Ostryakova str., 2,
Pacific State Medical University.
Phone: +7 995 773-65-23.
E-mail: immunolog.vl@gmail.com

Библиографическое описание:

Кныш С.В., Маркелова Е.В., Симакова А.И., Караулов А.В. Показатели системы нейропептидов в острый период опоясывающего герпеса // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 329–337. doi: 10.15789/2220-7619-TFO-1256

Citation:

Knysh S.V., Markelova E.V., Simakova A.I., Karaulov A.V. Neuropeptide system parameters in acute herpes zoster // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 329–337. doi: 10.15789/2220-7619-TFO-1256

NEUROPEPTIDE SYSTEM PARAMETERS IN ACUTE HERPES ZOSTER

Knysh S.V.^a, Markelova E.V.^a, Simakova A.I.^a, Karaulov A.V.^b

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. The neuropeptides comprise an important part in the nervous system interacting with endocrine and immune systems. Peptide regulators are responsible for the continuity of communicating elements, which support homeostasis, however, despite abundant research examining neuropeptides, not all specific mechanisms and features of interacting proteins with cells and immune components have been uncovered. Objective: to perform a comprehensive assessment of neuropeptide system in patients with herpes zoster. Materials and methods: 106 in-hospital patients were examined diagnosed with herpes zoster within 2016–2019 period. Control group consisted of 30 healthy age- and sex-matched volunteers. Blood serum was collected after verifying diagnosis on day 1. After discharge, patients were monitored for signs of pain syndrome and overall state within 3 months. It allowed to divide patients into 3 groups retrospectively. Group 1 — patients with herpes zoster, accompanied by mild or moderate pain syndrome; group 2 — patients with herpes zoster, accompanied by severe pain; group 3 — patients with herpes zoster, complicated by postherpetic neuralgia. Level of serum protein s100B, myelin basic protein, nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neuron specific enolase was measured by using specific reagents purchased from “R&D Diagnostics Inc.” (США). Results. it was found that level of serum protein S100B in all groups was significantly increased compared to control group, showing no inter-group differences. Amount of myelin basic protein in all study groups vs. control was significantly higher. Moreover, level of these parameters in group 2 vs. group 1 and 3 was significantly elevated. In addition, level of nerve growth factor was significantly increased in group 1 vs. groups 2 and 3, whereas in group 3 it was significantly lower than in control and group 2. Brain-derived neurotrophic factor was significantly decreased in all the study groups compared to control, showing no significant inter-group differences. Level of neuron-specific enolase was significantly increased in group 3 vs. control as well as group 1 and 2. The data obtained allowed to identify two parameters for assessing a risk of postherpetic neuralgia in acute herpes zoster, as well as provided deeper insights into the pathogenesis of neuroimmune disorders accompanying herpes zoster.

Key words: neuropeptides, herpes zoster, shingles. S100, MPB, NGF, BDNF, NSE.

Системы поддержания гомеостаза в организме человека находятся в постоянном, динамичном взаимодействии как между собой, так и с симбиотической флорой — бактериями, простейшими, вирусами, грибами. Парадигма психонейроэндокринной иммунологии (Р.Н.Е.И) рассматривает процессы, имеющие место в организме человека, с позиции комплексной оценки роли и вклада отдельных элементов нервной, иммунной и эндокринной системы с учетом психологического состояния человека [11]. Известно о серьезном влиянии психологического стресса на риски развития различных системных заболеваний, также вероятно воздействие расстройств в одной из интегративных систем на другие, что подчеркивает интерес современной науки к поиску новых, неоднозначных на первый взгляд, механизмов влияния нарушений в иммунной системе на патогенез заболеваний нервной и эндокринной систем [20].

В настоящее время сформировалось представление о существовании системы пептидных регуляторов и их рецепторов, которые определяют функциональную непрерывную связь нервной и иммунной систем и отвечают за адекватную стимуляцию или ингибирование различных функций организма с целью поддержки гомеостаза [4]. Однако, несмотря на обилие исследований в этом направлении,

расшифрованы далеко не все конкретные механизмы и особенности взаимодействия пептидных молекул с клетками и элементами иммунной системы, в том числе при различных патологических состояниях.

Опоясывающий герпес — это серьезное заболевание, вызванное реактивацией вируса Human herpes virus-3 (HHV-3), также известного как вирус ветряной оспы. Первичный контакт с вирусом в большинстве случаев вызывает развитие ветряной оспы, а повторная активация вируса, прибывающего в организме человека в течение всей жизни в состоянии латенции, манифестирует в виде опоясывающего герпеса — заболевания тесно связанного с нейроиммунным взаимодействием и обладающего способностью к частой хронизации болевого синдрома и развитию постгерпетической невралгии.

По сегодняшний день остается несформированным единое мнение о клинико-лабораторных маркерах развития постгерпетической невралгии в острый период опоясывающего герпеса. Известно, что в основе патогенеза лежат механизмы периферической и центральной сенситизации нервной системы, что провоцирует стойкость нейроиммунного воспаления в корешках спинномозговых ганглиев и нарушение проведения нервных импульсов по нервным стволам [2]. Явления демиелини-

зации объединяют опоясывающий герпес и ряд аутоиммунных заболеваний, обуславливая повышенный риск коморбидных состояний у пациентов с этими патологиями [25].

Влияние вируса на организм при хронических инфекциях, в том числе при опоясывающем герпесе, зависит не только от прямого повреждающего эффекта вирионов на клетки организма хозяина, но и обусловлено иммунотропными свойствами вируса, способного изменять функциональное состояние иммунокомпетентных клеток. Нельзя забывать и о взаимодействии факторов врожденного иммунитета, как с вирусом, так и между собой. Активация системы матриксных металлопротеиназ способствует литическому повреждению миелиновой оболочки, что провоцирует повышение уровня основного белка миелина (МВР) — одного из наиболее изученных нейропептидов, обладающего различными функциями, как в норме, так и при патологии [25]. Сегодня все еще открыт вопрос о целесообразности использования подобных ему маркеров повреждения нервной системы в рутинной клинической практике, однако данные мировой литературы [28] и собственные исследования являются обнадеживающими. Представлены доказательства роли матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в формировании нейропатической боли и ее хронизации в эксперименте на мышах [19].

В предшествующих исследованиях нами были получены данные об активации матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) и относительной недостаточности ее тканевого ингибитора-1 у пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией [2]. Избыточная функциональная активность ММР-9 обуславливает интенсивность болевого синдрома в острый период [16], в то же время известно, что повышенное сывороточное содержание матриксной металлопротеиназы-2 в хронический период заболевания обуславливает длительный болевой синдром [18]. Нами были получены данные о том, что пониженное сывороточное содержание ММР-2 в острый период опоясывающего герпеса является фактором, повышающим риск хронизации болевого синдрома при опоясывающем герпесе [3], что еще раз подводит нас к исследованию системы нейропептидов как факторов, обуславливающих функционирование и ремоделирование нервных структур — основной цели вирусного воздействия при опоясывающем герпесе.

В мировой литературе отсутствуют комплексные исследования широкого спектра нейропептидов при опоясывающем герпесе и иных клинических вариантах HHV-3 инфекции, что обуславливает отсутствие единого мнения об иммунопатогенезе нейрональных наруше-

ний, ассоциированных с реактивацией вируса ветряной оспы. Влияние системы нейропептидов является крайне плейотропным и ее исследование способно повлиять на фундаментальное понимание патогенеза заболеваний, затрагивающих иммунную и нервную системы.

Цель исследования: провести комплексную оценку системы нейропептидов у пациентов в острый период опоясывающего герпеса.

Материалы и методы

В рамках исследовательской работы нами было обследовано 106 пациентов, находящихся на лечении в ГБУЗ ККБ № 2 г. Владивостока в 2016–2019 гг. с диагнозом «Опоясывающий герпес». Группу контроля составили 30 практически здоровых добровольцев сопоставимых по возрасту и полу. Возраст больных составил от 25 до 74 лет ($46,1 \pm 2,6$). У всех пациентов диагноз был установлен на основании характерной клинической картины и был лабораторно верифицирован путем определения ДНК вируса ветряной оспы в слюне или сыворотке крови пациентов методом количественной ПЦР. Факт реактивации, а не первичного инфицирования вирусом varicella-zoster (VZV), был подтвержден путем определения антител IgG к гликопротеину E (anti-VZV IgG-gE), что является лабораторным маркером реактивации вирусной инфекции. У всех пациентов проводился мониторинг жалоб, клинических проявлений и уровней нейропептидов в сыворотке крови на 1-е сутки госпитализации. Пациенты получали симптоматическую и противовирусную терапию. Через 3 месяца после выписки, проводилось мониторирование состояния пациентов с анкетированием и оценкой характера и длительности болевого синдрома. Это позволило выделить группу в 24 человека с постгерпетической невралгией (ПГН — 3 группа). Пациенты без постгерпетической невралгии на основании данных, полученных при использовании визуальной аналоговой шкалы (ВАШ), были распределены на две группы по выраженности болевого синдрома в острый период болезни. Были выделены: группа 1, со слабым и умеренным болевым синдромом (ВАШ 1–4 см во время острого периода болезни), и группа 2, с сильным болевым синдромом (ВАШ 5 и более см во время острого периода болезни). Данные о группах пациентов представлены в таблице 1.

В рамках данного исследования проведено изучение ряда нейропептидов: белка s100B (S100B), основного белка миелина (myelin basic protein, MBP), фактора роста нервов (neuronal growth factor, NGF), мозгового нейротрофического фактора (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейронспецической энолазы

Таблица 1. Характеристика обследуемых групп

Table 1. Characteristics of examined groups

Показатель Parameters	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3
ВАШ, см (M±m) VAS, cm (M±m)	3,2±0,4	8,6±0,8	6,7±0,4
Количество, n Amount, n	42	40	24
Средний возраст, лет (M±m) Mean age, years (M±m)	44,2±3,2	48,4±2,6	57,5±3,6
ПГН PHN	Нет Negative	Нет Negative	Да Positive

(neuron-specific enolase, NSE) в сыворотке крови пациентов с опоясывающим герпесом и людей контрольной группы.

Определение S100B, MBP, NGF, BDNF, NSE в сыворотке венозной крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчет количества медиаторов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл или нг/мл. Данные представляли в виде медианы и двух квартилей (M_e , Q_{25} , Q_{75}). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%, то есть нулевые гипотезы отвергались в том случае, когда достигнутый уровень значимости Р используемого статистического критерия принимал значения менее 5%. Статистическая обработка проводилась с использованием программы SPSS Statistics v.16. Внутри и межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна–Уитни в рамках прикладной программы. Возможность использования показателей в качестве классификаторов для оценки риска развития ПГН оценивалась с использованием метода ROC-анализа [10], с построение ROC-кривых.

Результаты

Содержание исследуемых нейропептидов в сыворотке крови пациентов с опоясывающим герпесом на первые сутки госпитализации, а также соотношение BDNF и NSE, представлены в таблице 2.

Было установлено достоверное повышение сывороточного уровня S100B во всех исследуемых группах в сравнении с группой контроля без значимых различий между группами пациентов.

Уровень MBP также статистически значимо повышался в сыворотке крови пациентов с опоясывающим герпесом, при этом группа 2 — пациенты с сильным болевым синдромом имели достоверно более высокое повышение уровня нейропептида в сыворотке крови в сравнении с 1-й и 3-й группами, между которыми существенных различий выявлено не было.

Содержание NGF имело разнонаправленные изменения в обследуемых группах. У пациентов со слабым болевым синдромом было установлено повышение сывороточного уровня NGF в сравнении с группой контроля и остальными группами пациентов. Во второй группе содержание белка не отличалось от значений контрольной группы, но было выше, чем в группе 3. Пациенты с ПГН, сформировавшие группу 3, имели статистически достоверное снижение сывороточного содержания белка в сравнении со всеми обследуемыми группами и контролем.

BDNF достоверно понижался во всех обследуемых группах в сравнении с группой контроля без значимых межгрупповых различий. NSE в группе пациентов с постгерпетической невралгией был достоверно выше, чем в остальных группах и контрольной группе, между которыми различий установлено не было.

Соотношение BDNF:NSE было достоверно снижено во всех группах в сравнении с контролем. Между группами также определены различия, со снижением показателя в ряду от результатов в группе 1 к группе 3, где было рассчитано наиболее низкое соотношение BDNF:NSE

Обсуждение

Белок S100 существует в двух формах: гомодимерной и гетеродимерной. S100B вариант белка, который представлен не только в клетках нервной глии, но и в иных мезенхимальных клетках: хондроцитах, меланоцитах, адипоцитах. Функции S100B не ограничиваются лишь внеклеточной активностью. Известно об его участии в процессах внутриклеточного метаболизма, формировании цитоскелета и отдельных органелл. Ряд клеток секретируют S100B гомодимер в физиологических условиях, оказывая внеклеточное влияние, опосредованное, в первую очередь, через рецепторы к конечным продуктам гликозилирования (RAGE). Физиологические концентрации белка S100 участвуют в механизмах reparации глиальных клеток и пролонгируют жизнь астроцитов и нейронов. Однако в случае повреждения клеток и высвобождения в сыворотку крови избыточного протеина S100, может произойти формирование воспалительной реакции. Данный белок может выступать и в качестве «образов опасности» DAMP (danger-associated molecular

Таблица 2. Сывороточное содержание исследуемых показателей у обследуемого контингента

Table 2. The surveyed parameters amount in serum of examined contingent

Показатель Parameters Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Группа контроля Control group	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3
S100B, pg/ml	4,23 (2,88; 7,42)	26,4* (16,3; 32,8)	30,4* (13,4; 39,1)	28,6* (15,1; 38,2)
MBP, pg/ml	37,4 (12,6; 57,2)	138,6* • (89,5; 242,3)	357,6* • ▲ (286,4; 513,4)	154,4* ▲ (80,4; 260,3)
NGF, pg/ml	10,3 (8,6; 12,1)	17,4* • # (12,3; 23,2)	10,6* ▲ (8,4; 11,7)	7,3* # ▲ (4,1; 9,1)
BDNF, ng/ml	29,4 (25,2; 32,1)	19,4* (14,6; 23,1)	19,6* (15,0; 23,2)	18,5* (14,2; 25,2)
NSE, ng/ml	1,74 (1,59; 4,25)	1,96# (1,53; 2,82)	2,12▲ (1,67; 2,36)	5,93* # ▲ (5,17; 7,99)
BDNF: NSE ratio	18,4 (16,3; 18,9)	10,32* • # (9,47; 11,97)	9,63* • ▲ (9,4; 9,83)	3,2* # ▲ (2,62; 3,4)

Примечание. Статистическая достоверность различий между группами: с группой контроля: * — $p < 0,05$; • — между группами 1 и 2 $p_1-p_2 < 0,05$; # — между группами 1 и 3 $p_1-p_3 < 0,05$; ▲ — между группами 2 и 3 $p_2-p_3 < 0,05$.

Note. Statistical significance of differences between groups: with control group: * — $p < 0.05$; • — between groups 1 and 2 $p_1-p_2 < 0.05$; # — between groups 1 and 3 $p_1-p_3 < 0.05$; ▲ — between groups 2 and 3 $p_2-p_3 < 0.05$.

patterns, DAMP), активируя врожденную иммунную систему и инициирую нейроиммунное воспаление. Также в литературе представлены данные об активации натуральных киллеров через S100B-зависимый механизм [26], что достаточно важно для изучения патогенеза нейронального воспаления в основе опоясывающего герпеса.

Повышенное сывороточное содержание S100B у пациентов с опоясывающим герпесом предположительно связано с процессами нейрональной смерти в результате активации глиальных клеток, с последующим развитием воспаления и глиоза [27]. Нельзя исключать и то, что данный нейропептид ответственен за развитие критических форм VZV-инфекции в виде энцефалита и менингоэнцефалита, так как за счет своей иммунной реактивности, S100 способен участвовать в процессах нарушения целостности гематоэнцефалического барьера [1], что повышает шанс миграции вируса. Вполне возможно, что данное повышение белка хоть и предполагает защитный характер для организма, но по причине патологического влияния вируса приносит вред. В ряде исследовательских работ обсуждается роль S100B в формировании центральной сенситизации, лежащей в основе нейропатической боли, а также возможность снижения интенсивности болевого синдрома за счет ингибиции S100B [22].

Серьезным препятствием для диагностического использования данного нейромаркера является его зависимость от сопутствующих психопатологических состояний. Опубликованы данные о влиянии бессонницы, депрессии и иных психологических расстройств на сывороточное содержание S100 [9, 30], что, с одной

стороны, способно снизить диагностическую значимость маркера, с другой, подчеркивает патогенетическую связь расстройств нервной системы с характером нейропатической боли. Свойство быстрой нормализации сывороточного содержания нейропептида в отсутствии повреждающего агента [13] позволяет предполагать возможность оценки S100B в долгосрочной динамике для мониторирования персистентии повреждающего фактора и предикции формирования стойкого хронического болевого синдрома.

Основной белок миелина также считается одним из наиболее значимых маркеров состояния нервной системы. Ведущей функцией МВР является участие в формировании миелиновой оболочки центральной и периферической нервных систем, однако известно о иммунной реактивности белка, что обуславливает патогенез аутоиммунных заболеваний, в основе которых лежит формирование аутоантител к МВР. При рассеянном склерозе и системной красной волчанке в сыворотке пациентов обнаружены аутоантитела с протеолитической активностью — абзимы. Вероятно, они формируются в процессе деаминизации и посттрансляционного изменения белка, что в итоге приводит к возможности контакта Т-лимфоцитов с поверхностью МВР и инициации аутоиммунного ответа. Интересным является то, что абзимы, представленные у пациентов с рассеянным склерозом и системной красной волчанкой, также обнаруживаются и у здоровых лиц, без манифестиций данных заболеваний. Можно предположить, что повреждение клеток нервной системы и глии способствует высвобождению МВР с дальнейшим формирование

автоантител [12]. Это позволяет предположить существование подобного механизма в основе коморбидности у пациентов с опоясывающим герпесом и рядом аутоиммунных заболеваний.

Отсутствие достоверной разницы между сывороточным уровнем МВР у группы 1 и группы 3 позволяет предполагать существование фенотипической предрасположенности у пациентов, с развившейся в дальнейшем постгерпетической невралгией. Исследование С.Ј. Hedegaard с соавт. (2009) демонстрирует существование аутоантител к МВР и у полностью здоровых лиц, что определяет измененную иммунную реактивность у данной категории людей в ответ на повышение сывороточного содержания протеина [15].

Фактор роста нервов NGF — один из ключевых модуляторов нейроэндокринного взаимодействия, о котором на настоящий момент известно достаточно много. NGF участвует в канцерогенезе, развитии глаукомы, макуло и ретинопатии, диабета [6]. По причине распространения рецепторов к NGF на разных типах клеток, попытки использования NGF в качестве терапевтического агента для системного применения встретили ряд трудностей, связанных с развитием нежелательных побочных эффектов, что затрудняет создание адекватной нейропротективной и нейрогенераторной фармакологической субстанции, основанной на NGF. Однако опыт топического применения NGF обнадеживает своей эффективностью [5]. Экспериментальное исследование анти-NGF терапии продемонстрировало продуктивную репликацию VZV, опосредованную через активацию C-Jun n-терминальной киназы (JNK).

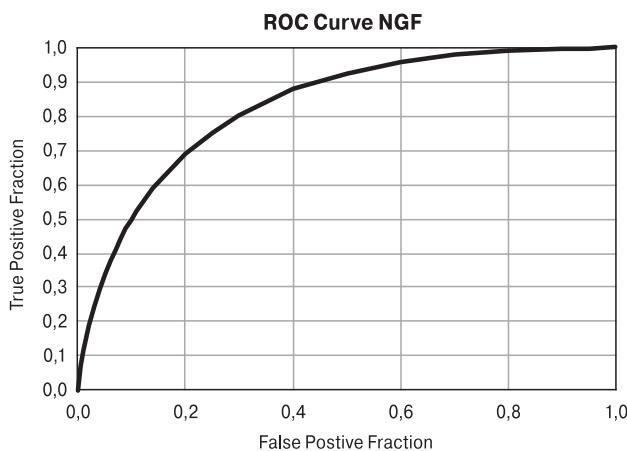


Рисунок 1. Оценка возможности использования NGF в сыворотке крови как раннего маркера развития постгерпетической невралгии методом ROC-анализа

Figure 1. Evaluation of the possibility of using NGF in blood serum as an early marker of postherpetic neuralgia by ROC analysis

К сожалению, предполагается более сложный механизм участия JNK в патогенезе опоясывающего герпеса, так как в ряде клеточных культур были получены диаметрально противоположные результаты именно в случае VZV-инфекции [17].

Полученные нами результаты свидетельствуют о разнонаправленности механизмов действия NGF при опоясывающем герпесе. У пациентов из группы 1 со слабым болевым синдромом повышенное сывороточное содержание NGF может быть признаком активной нейропластичности и адекватной поддержки гомеостаза в ответ на вирусное повреждение. Отсутствие достоверного сывороточного повышения NGF в группе 2 и его дефицит в группе 3 может быть причиной вирусного взаимодействия с NGF. Известно, что альфагерпесвирусы, к которым относится как HHV-3, так и Human herpes virus-1 (HHV-1) и Human herpes virus-2 (HHV-2) обладают выраженным генетическим родством. J.R. Cabrera с соавт. (2016) представили данные о влиянии HHV-2 гликопroteина G (SgG2) на болевую чувствительность через модуляцию и взаимодействие с NGF в сыворотке крови [8]. Можно полагать, что подобное взаимодействие может быть ассоциировано как с выраженной болевой симптоматикой у пациентов группы 2, так и с развитием постгерпетической невралгии в группе 3, обусловленных нарушением нейропластичности за счет развития дефицита NGF. Учитывая выраженную зависимость дефицита сывороточного NGF у пациентов группы 3, нами была проведена оценка возможности использования NGF в сыворотке крови как раннего маркера развития постгерпетической невралгии методом ROC-анализа. Данные представлены на рисунке 1. Полученная модель позволяет судить с высокой вероятностью ($AUC = 0,831, p < 0,05$) о том, что снижение сывороточного содержания NGF менее 8,6 pg/ml может служить предиктором хронизации боли и развития постгерпетической невралгии.

Мозговой нейротрофический фактор BDNF был изучен во время волны исследований нейротрофинов, последовавшей после открытия NGF. Физиологическая роль данного белка первоначальна описывалась в рамках влияния на деятельность центральной нервной системы, память и процессы обучения [7]. В то же время BDNF ответственен за выживаемость стволовых клеток, клеток-предшественников нейронов и в целом за нейрогенез и дифференцировку клеток нервной системы. Белок обнаруживается в клетках в форме своего предшественника — proBDNF, обладающего отличными от зрелого протеина свойствами, однако именно зрелая форма белка выполняет множество нейропротективных функций. Это подтверж-

дается в исследованиях, сфокусированных на исследовании как внутриклеточного, так и сывороточного содержания BDNF при нейродегенеративных, аутоиммунных и вирусных заболеваниях [23, 24, 29]. Интересным является то, что предшественник BDNF созревает путем его взаимодействия с различными энзимами, в том числе с металлопротеиназами.

Нами не было выявлено достоверных различий в уровне BDNF между группами пациентов с опоясывающим герпесом, что может свидетельствовать о более выраженных процессах, затрагивающих нейропротективную функцию BDNF на уровне его белка предшественника, указывая на целесообразность оценки содержания proBDNF с последующим расчетом соотношения зрелой и юной форм нейропептида [31].

Нейронспецифическая энолаза NSE — полифункциональный энзим, принимающий участие в процессах гликолиза и глюконеогенеза. В случае экспрессии NSE на поверхности клеток, данный пептид способен индуцировать провоспалительный синтез цитокинов и хемокинов, что также играет роль в процессах нейропротекции и нейродегенерации. NSE — это специфическая изоформа энолазы, образованная из альфа-энолазы, обладающая тканеспецифичностью и представленная в клетках микроглии, нейронах и олигодендроцитах [21]. NSE выступает в качестве маркера повреждения нервных структур, чему способствует повышенная секреция протеина из клеток после травм, ишемии, влияния опухолевого роста, нейродегенерации. Иммунореактивные свойства NSE обусловливают отрицательное влияние пептида на скорость разрешения нейронального воспаления и нейропротекцию, что было подтверждено экспериментально при использовании ингибитора NSE [14].

Повышенное сывороточное содержание NSE в группе 3 свидетельствует об отрицательном эффекте данного белка при опоясывающем герпесе. Несмотря на существование данных как о нейропротективном, так и о нейродегенераторных свойствах NSE, зависящих от концентрации протеина, мы предполагаем, что NSE пролонгирует нейрональное воспаление за счет супрессии липидических процессов в нервных структурах, что пролонгирует жизнь клеток, пораженных HHV-3, обеспечивая длительное воспаление и формирование очага сенсилизации, ведущего к развитию постгерпетической невралгии. Подобные изменения в острый период опоясывающего герпеса могут затруднить ремоделирование тканей и вмешиваться в функционирование системы матриксных металлопротеиназ. При оценке возможности использования NSE как маркера постгерпетической невралгии была построена ROC-кривая,

представленная на рисунке 2. Данные ROC-анализа ($AUC = 0,978, p < 0,05$) позволяют нам считать, что использование сывороточного содержания NSE (при значении выше 5,17 пг/мл) в качестве маркера развития постгерпетической невралгии в острый период опоясывающего герпеса целесообразно.

При комплексном анализе соотношения факторов BDNF и NSE была выявлена яркая картина функционирования процессов нейропластиности при опоясывающем герпесе. Ухудшение состояния адекватного функционирования процессов жизнедеятельности и ремоделирования нервной ткани, оцениваемое нами с использованием соотношения BDNF:NSE, имеет тренд к ухудшению в зависимости от интенсивности боли (группа 1 и группа 2), и от факта ее хронизации. В группе пациентов без постгерпетической невралгии, данные изменения наблюдаются за счет дефицита BDNF, в то время как у пациентов группы 3, зарегистрировано двунаправленное изменение нейропластиности с понижением функциональной активности BDNF и с повышением нейродегенерации, ассоциированной с NSE. Полагаем, что оценка данного соотношения позволяет проводить динамическое наблюдение за состоянием нервных структур в ходе хронических нейровоспалительных заболеваний, а также является менее чувствительным к генетически-детерминированным колебаниям экспрессии нейропептидов, так как позволяет оценивать комплексное действие двух значимых белков-регуляторов нервной системы.

Подводя итоги, следует подчеркнуть важность системы нейропептидов в патогенезе опоясывающего герпеса. Зарегистрированные в рамках исследования изменения свидетельствуют о сложности взаимодействия нервной

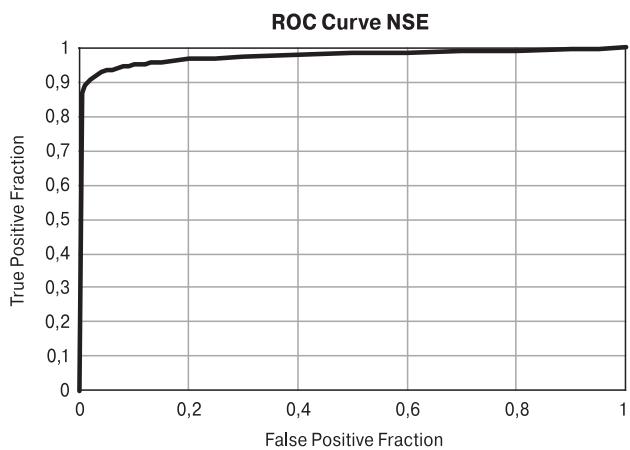


Рисунок 2. Оценка возможности использования NSE как маркера постгерпетической невралгии
Figure 2. Evaluation of the possibility of using NSE as an early marker of postherpetic neuralgia

и иммунной систем в зависимости от клинического течения опоясывающего герпеса. Изменения сывороточного содержания МВР предполагают существование фенотипической предрасположенности к формированию аутоантител к основному белку миелина, что, вероятно, может быть фактором риска не только постгерпетической невралгии, но и ряда аутоиммунных заболеваний. Показатели S100B и BDNF, несмотря на наличие достоверных изменений в их сывороточном содержании в сравнении с контрольными цифрами, требуют дальнейшего углубленного исследования для возможности формирования объективного мнения об их роли в патогенезе и их применения для диагностики и оценки рисков развития постгерпетической невралгии у пациентов с опоясывающим герпесом. Напротив, изменения в содержании NGF и NSE позволяют использовать их в качестве классификаторов

риска развития постгерпетической невралгии уже в острый период опоясывающего герпеса. Расчетное соотношение BDNF:NSE, по нашему мнению, целесообразно использовать для оценки динамических изменений в состоянии нервной системы, однако этот подход требует более глубокого изучения.

Благодарности

Авторы выражают благодарность ректору ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России Шуматову Валентину Борисовичу, проректору ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России Елисеевой Екатерине Валерьевне, а также научному отделу ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, в лице руководителя Зайцевой Елены Александровны, за поддержку исследования в рамках внутривузовского научного гранта (регистрационный номер НИОКР АААА-А19-119031190006-5).

Список литературы/References

- Дюйзен И.В., Иванис В.А., Михайлов А.С., Менчинская Е.С., Манжуло И.В., Огурцова О.С. Исследование содержания нейрональных маркеров при некоторых инфекционных заболеваниях // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 60 (2). С. 27–30. [Duyzen I.V., Ivanis V.A., Mihailov A.C., Menchinskaya E.C., Manzhulo I.V., Ogurtsova O.C. The neuronal markers contents study in some infectious diseases. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 60 (2), pp. 27–30. (In Russ.)]
- Кныш С.В., Малков В.А., Чагина Е.А., Потапенко А.А. Изменение матриксной металлопротеиназы-9 и ее тканевого ингибитора-1 при опоясывающем герпесе // Российский иммунологический журнал. 2018. № 4. С. 683–685. [Knysh S.V., Malkov V.A., Chagina E.A., Potapenko A.A. Alterations in matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 serum concentrations in patients with Herpes Zoster. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, no. 4, pp. 683–685. doi:10.31857/s102872210002637-5 (In Russ.)]
- Кныш С.В., Мачтарева Е.С., Васильева М.М., Малков В.А., Минибаев В.Р. Матриксная металлопротеиназа-2 в патогенезе герпетической невралгии // Российский аллергологический журнал. 2019. № 1 (2). С. 73–75. [Knysh S.V., Machtareva E.S., Vasilieva M.M., Malkov V.A., Minibaev V.R. Matrix metalloproteinase-2 in herpetic neuralgia pathogenesis. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergology*, 2019, no. 1 (2), pp. 73–75. (In Russ.)]
- Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Башкина О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Тюренков И.Н., Карапулов А.В. Нейропептидная регуляция иммунитета // Иммунология. 2018. № 39 (5–6). С. 326–336. [Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Bashkina O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F., Tyurenkov I.N., Karaupulov A.V. Neuropeptide regulation of immunity. *Immunologiya = Immunology*, 2018, no. 39 (5–6), pp. 326–336. doi: 10.18821/0206-4952-2018-39-5-6-326-336 (In Russ.)]
- Aloe L., Rocco M.L., Balzamino B.O., Micera A. Nerve growth factor: a focus on neuroscience and therapy. *Curr. Neuropharmacol.*, 2015, no. 13 (3), pp. 294–303. doi: 10.2174/1570159X13666150403231920
- Aloe L., Rocco M.L., Balzamino B.O., Micera A. Nerve growth factor: role in growth, differentiation and controlling cancer cell development. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2016, no. 35 (1), pp. 116. doi: 10.1186/s13046-016-0395-y
- Borodinova A.A., Salozhin S.V. Differences in the biological functions of BDNF and proBDNF in the central nervous system. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 2017, vol. 47, no. 3, pp. 251–265.
- Cabrera J.R., Viejo-Borbolla A., Alcamí A., Wandosell F. Secreted herpes simplex virus-2 glycoprotein G alters thermal pain sensitivity by modifying NGF effects on TRPV1. *J. Neuroinflamm.*, 2016, no. 13 (1), p. 210. doi:10.1186/s12974-016-0677-5
- Dai C.-X., Hu C.-C., Shang Y.-S., Xie J. Role of Ginkgo biloba extract as an adjunctive treatment of elderly patients with depression and on the expression of serum S100B. *Medicine*, 2018, no. 97 (39): e12421. doi: 10.1097/md.0000000000012421
- Eng J. ROC analysis: web-based calculator for ROC curves. Baltimore: Johns Hopkins University [updated 2014 March 19; cited 2019 July 23]. URL: <http://www.jrocfit.org>
- França K., Lotti T.M. Psycho-neuro-endocrine-immunology: a psychobiological concept. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. *Adv. Exp. Biol.*, 2017, no. 996, pp. 123–134. doi: 10.1007/978-3-319-56017-5_11
- Gonzales-Gronow M., Pizzo S.V. Relevance of catalytic autoantibodies to myelin basic protein (MBP) in autoimmune disorders. *J. Neurol. Neuromed.*, 2018, no. 3 (4), pp. 75–78.
- Goyal A., Failla M.D., Niyonkuru C., Amin K., Fabio A., Berger R.P., Wagner A.K. S100b as a prognostic biomarker in outcome prediction for patients with severe traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 2013, no. 30 (11), pp. 946–957. doi: 10.1089/neu.2012.2579
- Haque A., Capone M., Matzelle D., Cox A., Banik N. Targeting enolase in reducing secondary damage in acute spinal cord injury in rats. *Neurochem. Res.*, 2017, no. 42 (10), pp. 2777–2787. doi: 10.1007/s11064-017-2291-z

15. Hedegaard C.J., Chen N., Sellebjerg F., Sørensen P.S., Leslie R.G.Q., Bendtzen K., Nielsen C.H. Autoantibodies to myelin basic protein (MBP) in healthy individuals and in patients with multiple sclerosis: a role in regulating cytokine responses to MBP. *Immunology*, 2009, no. 128 (pt. 2): e451–e461. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02999.x
16. Ji R-R., Xu Z-Z., Wang X., Lo E.H. Matrix metalloprotease regulation of neuropathic pain. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2009, no. 30 (7), pp. 336–340. doi: 10.1016/j.tips.2009.04.002
17. Kurapati S., Sadaoka T., Rajbhandari L., Jagdish B., Shukla P., Ali M.A., Kim Y.J., Lee G., Cohen J.I., Venkatesan A. Role of the JNK pathway in varicella-zoster virus lytic infection and reactivation. *J. Virol.*, 2017, no. 91: e00640-17.
18. Lakhan S.E., Avramut M. Matrix metalloproteinases in neuropathic pain and migraine: friends, enemies, and therapeutic targets. *Pain Res. Treat.*, 2012, no. 2012, pp. 1–10. doi: 10.1155/2012/952906
19. Miranpuri G.S., Meethal S.V., Sampene E., Chopra A., Buttar S., Nacht C., Moreno N., Patel K., Liu L., Singh A., Singh C.K., Hariharan N., Iskandar B., Resnick D.K. Folic acid modulates matrix metalloproteinase-2 expression, alleviates neuropathic pain, and improves functional recovery in spinal cord-injured rats. *Ann. Neurosciences.*, 2017, no. 24 (2), pp. 74–81. doi: 10.1159/000475896
20. Morey J.N., Boggero I.A., Scott A.B., Segerstrom S.C. Current directions in stress and human immune function. *Curr. Opin. Psychol.*, 2015, no. 5, pp. 13–17. doi: 10.1016/j.copsyc.2015.03.007
21. Polcyn R., Capone M., Hossain A., Matzelle D., Banik N.L., Haque A. Neuron specific enolase is a potential target for regulating neuronal cell survival and death: implications in neurodegeneration and regeneration. *Neuroimmunol. Neuroinflamm.*, 2017, no. 4, pp. 254–257. doi: 10.20517/2347-8659.2017.59
22. Qin G., Gui B., Xie J., Chen L., Chen Z., Zhou J., Tan G. Tetrandrine alleviates nociception in a rat model of migraine via suppressing S100B and p-ERK activation in satellite glial cells of the trigeminal ganglia. *J. Mol. Neurosci.*, 2017, no. 64 (1), pp. 29–38. doi: 10.1007/s12031-017-0999-5
23. Sadaoka T., Depledge D.P., Rajbhandari L., Venkatesan A., Breuer J., Cohen J.I. In vitro system using human neurons demonstrates that varicella-zoster vaccine virus is impaired for reactivation, but not latency. *PNAS*, 2016, no. 113 (17), pp. E2403–E2412.
24. Saxena A.K., Lakshman K., Sharma T., Gupta N., Banerjee B.D., Singal A. Modulation of serum BDNF levels in postherpetic neuralgia following pulsed radiofrequency of intercostal nerve and pregabalin. *Pain Management*, 2016, no. 6 (3), pp. 217–227.
25. Shabayev V., Strongin A., Yaksh T. Role of myelin auto-antigens in pain: a female connection. *Neural Regen. Res.*, 2016, no. 11 (6), pp. 890–891. doi: 10.4103/1673-5374.184452
26. Sorci G., Riuzzi F., Arcuri C., Tubaro C., Bianchi R., Giambanco I., Donato R. S100B protein in tissue development, repair and regeneration. *World J. Biol. Chem.*, 2013, no. 4 (1), pp. 1–12. doi: 10.4331/wjbc.v4.i1.1
27. Villarreal A., Seoane R., González Torres A., Rosciszewski G., Angelo M.F., Rossi A., Barker P.A., Ramos A.J. S100B protein activates a RAGE-dependent autocrine loop in astrocytes: implications for its role in the propagation of reactive gliosis. *J. Neurochemistry*, 2014, no. 131 (2), pp. 190–205. doi: 10.1111/jnc.12790
28. Weil M.T., Möbius W., Winkler A., Ruhwedel T., Wrzos C., Romanelli E., Bennett J.L., Enz L., Goebels N., Nave K.A., Kerschensteiner M., Schaeren-Wiemers N., Stadelmann C., Simons M. Loss of myelin basic protein function triggers myelin breakdown in models of demyelinating diseases. *Cell Rep.*, 2016, no. 16 (2), pp. 314–322. doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.008
29. Wu C., Li C., Hou W., Chiang P., Tsai K. Gain of BDNF function in grafted neural stem cells promotes the therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 2016, no. 6, p. 27358.
30. Zhang P., Tan C-W., Chen G-H., Ge Y-J., Xu J., Xia L., Wang F., Li X-Y., Kong X-Y. Patients with chronic insomnia disorder have increased serum levels of neurofilaments, neuron-specific enolase and S100B: does organic brain damage exist? *Sleep Medicine*, 2018, no. 48, pp. 163–171. doi: 10.1016/j.sleep.2017.12.012
31. Zhao G., Zhang C., Chen J., Su Y., Zhou R., Wang F., Xia W., Huang J., Wang Z., Hu Y., Cao L., Guo X., Yuan C., Wang Y., Yi Z., Lu W., Wu Y., Wu Z., Hong W., Peng D., Fang Y. Ratio of mBDNF to proBDNF for differential diagnosis of major depressive disorder and bipolar depression. *Molecular Neurobiology*, 2016, no. 54 (7), pp. 5573–5582. doi: 10.1007/s12035-016-0098-6

Авторы:

Кныш С.В., ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Владивосток, Россия;
Маркелова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Владивосток, Россия;
Симакова А.И., д.м.н., доцент, зав. кафедрой нормальной и патологической ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Владивосток, Россия;
Караулов А.В., д.м.н. академик РАН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия.

Authors:

Knysh S.V., Assistant Professor, Normal and Pathological Physiology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation;
Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Normal and Pathological Physiology Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation;
Simakova A.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of Infectious Diseases Department, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation;
Karaulov A.V., PhD, MD (Medicine), RAS Full Member, Head of Clinical Immunology and Allergology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

В.А. Зурочка^{1,2}, О.И. Забков¹, М.А. Добрынина¹, В.А. Гриценко³, Е.В. Давыдова⁴,
А.В. Чукичев⁴, Н.А. Забокрицкий¹, А.П. Сарапульцев¹, А.В. Зурочка^{1,2}

¹ ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский), г. Челябинск, Россия

³ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия

Резюме. Сложность лечения хронических вирусных инфекций, сопровождающихся перманентной персистенцией вирусов в целевых эпитопах ротовой полости, кожи, урогенитального тракта состоит в практически полном отсутствии на фармакологическом рынке препаратов, оказывающих сочетанное системное вирулицидное и иммуномодулирующее действие. В работе показана клинико-иммунологическая эффективность комплексной терапии при лечении хронической вирусной инфекции, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Целью исследования явилась оценка клинико-иммунологической эффективности комплексной этиопатогенетической терапии с использованием косметического средства «Ацеграм» у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ. *Материалы и методы.* Наблюдения проведены на 40 пациентах до лечения и 20 пациентах после комплексной терапии (цикли терапии составляли — валацикловир (Валтрекс) в дозе 500 мкг 2 раза в день в течение 10 дней, глюкозаминилмурамилдипептид (Ликопид) в дозе 10 мг 2 раза в день в течение 10 дней — перорально, пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Ацеграм-спрей) 3 раза в день орошение слизистых в течение 10 дней — местно. При необходимости курсы лечения повторялись через 20 дней после окончания терапии. Все пациенты до начала лечения и через 30, 60 дней после терапии обследованы на наличие в ротовой жидкости и крови геномов ВЭБ методом качественной и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-системы ДНК-технология (Россия) на приборе ДТ-Lite; в эти же сроки у больных в сыворотке определялись иммуноглобулины класса G к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, методом иммуноферментного анализа (ИФА) (тест-системы производства ЗАО «Вектор Бест», Россия) и проводилась оценка иммунного статуса (общеклинические методы, метод проточной цитометрии, оценка фагоцитарной активности нейтрофилов, ме-

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64,
ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский
университет.
Тел.: 8 908 060-92-06 (моб.).
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Contacts:

Eugeniya V. Davydova
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64,
South Ural State Medical University.
Phone: +7 908 060-92-06 (mobile).
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Библиографическое описание:

Зурочка В.А., Забков О.И., Добрынина М.А., Гриценко В.А., Давыдова Е.В.,
Чукичев А.В., Забокрицкий Н.А., Сарапульцев А.П., Зурочка А.В.
Иммунологические критерии эффективности комплексной
этиопатогенетической терапии у больных хронической вирусной
инфекцией, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр // Инфекция
и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 338–346. doi: 10.15789/2220-7619-CDC-1141

Citation:

Zurochka V.A., Zabkov O.I., Dobrynina M.A., Gritsenko V.A., Davydov E.V.,
Chukichev A.V., Zabokritskii N.A., Sarapultsev A.P., Zurochka A.V. Clinical
diagnostic criteria of efficiency for combined etiopathogenetic therapy
in patients with chronic Epstein–Barr virus infection // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2,
pp. 338–346. doi: 10.15789/2220-7619-CDC-1141

тод ИФА). **Результаты.** Применение комбинации данных препаратов после одного-двух курсов терапии у лиц с полной элиминацией ВЭБ из основного эпитопа его персистенции при хроническом течении заболевания на фоне купирования у них клинических проявлений сопровождается восстановлением баланса иммунной системы (Т-, В-лимфоцитов, Т-хелперов, CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов, показателей фагоцитоза). Неинвазивный метод контроля элиминации вируса в ротовой жидкости с помощью метода полимеразной цепной реакции может служить объективным критерием эффективности данного вида терапии.

Ключевые слова: Эпштейна–Барр вирусная инфекция, валацикловир, глюказаминилмурамидипептид, косметическое средство «Ацеэрам», антивирусная активность, проточная цитометрия, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, лимфоциты, иммунный статус.

CLINICAL DIAGNOSTIC CRITERIA OF EFFICIENCY FOR COMBINED ETIOPATHOGENETIC THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION

Zurochka V.A.^{a,b}, Zabkov O.I.^a, Dobrynina M.A.^a, Gritsenko V.A.^c, Davydov E.V.^d, Chukichev A.V.^d, Zabokritskii N.A.^a, Sarapultsev A.P.^a, Zurochka A.V.^{a,b}

^a Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation

^b South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

^c Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russian Federation

^d South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Treatment of chronic viral infections accompanied by permanent virus persistence in the target epitopes of the oral cavity, skin, urogenital tract is complicated by virtual lack of available drugs exerting combined systemic virulicidal and immunomodulatory effects. Here we demonstrate clinical and immunological efficacy of combined therapy in treatment of Epstein–Barr virus (EBV)-associated chronic infections. The aim of the study was to evaluate the clinical and immunological efficacy of combined etiopathogenetic therapy using the Acegram cosmetic product in patients with EBV-associated chronic infections. **Materials and methods.** There were enrolled 40 patients monitored before treatment as well as 20 patients followed up after combination therapy (cycle therapy consisted of oral valaciclovir (Valtrex) applied at dose of 500 µg twice a day for 10 days, glucosaminylmuramylpeptide (Licopid) — 10 mg 2 twice a day for 10 days, topical irrigation for mucous membranes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor active center-derived peptide (Acegram-spray) — 3 times a day for 10 days. If necessary, treatment courses were repeated 20 days after the onset. All patients were examined for the presence of EBV genomes in the oral fluid and blood using the qualitative and quantitative polymerase chain reaction (PCR) using the DNA technology test system (Russia) on a DT-Lite device prior treatment and 30, 60 days post-therapy time points. In addition, serum samples were analyzed for level of class G immunoglobulins specific to the EBV nuclear and capsid antigens by using enzyme immunoassay (test systems manufactured by CJSC Vector Best, Russia) as well as immune status (clinical methods, enu flow cytometry evaluation of the phagocytic activity of neutrophils, ELISA method). **Results.** Use of single or two course combination therapy in subjects with fully eradicated EBV carriage associated with reversed clinical symptoms was accompanied by recovered immune system status (T and B cells, T-helper cells, CD3⁺CD25⁺ cells, phagocytosis parameters). A non-invasive approach proposed for controlling virus elimination in the oral fluid by using polymerase chain reaction method may serve as to objectively monitor therapeutic efficacy.

Key words: Epstein–Barr virus infection, valacyclovir, glucosaminylmuramylpeptide, cosmetic “Acegram”, antiviral activity, flow cytometry, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction, lymphocytes, immune status.

Введение

Несмотря на значительные успехи противовирусной терапии различных заболеваний, лечение хронических вирусных инфекций остается сложной задачей вирусологической инфекционной. Не является исключением и терапия хронической вирусной инфекции, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) [14, 15]. Сложность лечения данного заболевания обусловлена персистенцией вируса в эпителии и эндотелии ротовой полости, кожи, урогенитального тракта. Системное применение противовирусных и иммуностимулирующих препаратов зачастую оказывается малоэффективным и не ведет к элиминации вируса, а, напротив, приводит к персистенции последнего в эпитопах его преимущественного размножения (слизистая

оболочка ротоглотки и урогенитального тракта), что выражается в хронизации патологического процесса. Данная ситуация связана прежде всего с тем, что на фармацевтическом рынке практически отсутствуют препараты для системного и местного применения, обладающие прямой вируцидной активностью, а при местном использовании противовирусных препаратов не удается создать в слизистых оболочках и на коже достаточной концентрации, необходимой для элиминации вирусов [14]. Указанные обстоятельства позволили нам предложить новую концепцию комбинированной терапии, которая предполагает использование как местных, так и системных препаратов с противовирусной и иммуностимулирующей активностью, что этиопатогенетически более обосновано, чем только системное или местное лечение.

В этом плане определенный интерес вызывает возможность применения в комплексной терапии вирусных инфекций синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) — ZP2, поскольку в недавнем цикле работ показано, что указанный пептид, помимо иммунотропных и репаративного эффектов, обладает антибактериальной и противовирусной активностью [4, 5]. Наличие у данного синтетического пептида ZP2 уникальной комбинации иммунобиологических свойств позволило создать на его основе новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [1, 2, 7, 8]. Однако его клиническая, в том числе иммунотропная, эффективность в комплексной терапии герпесвирусных инфекций не тестировалась.

Целью настоящего исследования явилась оценка иммунологической эффективности комплексной этиопатогенетической терапии с использованием косметического средства «Ацеграм» хронической вирусной инфекции, вызванной ВЭБ.

Материалы и методы

Клиническое наблюдение проведено на 40 пациентах с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ до начала терапии и 20 пациентах получавших комплексную противовирусную и иммуномодулирующую терапию циклами, которая включала: пероральный прием валацикловира (Валтрекс) в дозе 500 мкг 2 раза в день в течение 10 дней и глюкозаминил-мурамидипептид (Ликопид) в дозе 10 мг 2 раза в день в течение 10 дней, а также местное орошение слизистых оболочек в течение 10 дней 3 раза в день «Ацеграм-спреем» (пептид активного центра ГМ-КСФ) [сертификат соответствия РОСС RU.AB66.H00840 (№ 1467581)]. При необходимости курсы лечения повторялись через 20 дней по-

сле окончания терапии. Все пациенты до начала лечения и через 30 и 60 дней после терапии обследованы на наличие в ротовой жидкости и крови геномов ВЭБ методом качественной и количественной ПЦР (тест-системы производства «ДНК-технология», Россия) на приборе ДТ-Lite; в эти же сроки у больных в сыворотке определялись иммуноглобулины класса G (IgG) к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, методом иммуноферментного анализа (ИФА) (тест-системы производства ЗАО «Вектор Бест», Россия). Взятие ротовой жидкости для исследования производили утром, натощак, самотеком, через 30 мин после полоскания ротовой полости водой. Также проводился общий анализ крови на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция). Оценку иммунного статуса проводили методом проточной цитометрии на цитофлюориметре «Navios» (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁻CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD19⁺, CD45⁺, CD3⁺CD25⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ (Beckman Coulter, США). Абсолютное количество клеток в перечисленных субпопуляциях периферической крови подсчитывали с использованием счетных частиц Flow-Count (Beckman Coulter, США) [10] и пересчитывали с учетом общего анализа крови, оценивали фагоцитарную и НСТ-активность нейтрофилов, уровни IgA, IgM, IgG, C1-ингибитора, С3а и С5а компонентов комплемента по стандартным методикам (ИФА).

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики [10, 11].

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что в исследованиях *in vitro* и наблюдениях *in vivo* косметическое средство «Ацеграм» обладает выраженным иммунотропным, антибактериальным, противовирусным и репаративным эффектами [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Опираясь на эти данные, указанный

Таблица 1. Определение IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ у больных до и после проведения комплексной терапии

Table 1. Definition of IgG for nuclear and capsid antigens of EBV in patients before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
IgG к ядерному антигену ВЭБ (коэффициент позитивности), усл.ед. IgG to the EBV nuclear antigen (coefficient positivity), RU	M±m M _{min} –M _{max}	17,48±1,91 (5,9–38,0)	20,76±0,89 (13,3–24,3)
IgG к капсидному антигену ВЭБ (коэффициент позитивности), усл.ед. IgG to EBV capsid antigen (coefficient positivity), RU	M±m M _{min} –M _{max}	17,66±0,42 (4,9–24,8)	19,11±2,29 (3,0–31,2)

Примечание. р — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при р < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

Таблица 2. Показатели общего анализа крови у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 2. Indicators of the general blood test in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after the complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
Количество лейкоцитов крови, 10⁹/л The number of blood leukocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} –M _{max}	6,04±0,58 3,9–13,5	5,67±0,56 2,9–9,8
Количество эритроцитов крови, 10¹²/л The number of red blood cells, 10 ¹² /l	M±m M _{min} –M _{max}	4,87±0,14 3,81–6,08	4,68±0,1 4,03–5,27
Концентрация гемоглобина, г/л Hemoglobin concentration, g/l	M±m M _{min} –M _{max}	138,06±6,25 70–175	135,6±3,65 114–159
Гематокрит, % Hematocrit, %	M±m M _{min} –M _{max}	40,34±1,19 31,8–51,9	39,96±1,08 33,7–47,1
Средний корпускулярный объем (СКО), fL Average corpuscular volume (RMS), fL	M±m M _{min} –M _{max}	82,89±2,76 56,4–102,8	85,39±0,5 76,1–91,5
Средний корпускулярный объем гемоглобина, пг The average corpuscular volume of hemoglobin, pg	M±m M _{min} –M _{max}	28,4±1,16 17,4–37,0	29±0,43 25,8–31,2
Средняя концентрация корпускулярного Hb, г/л The average concentration of corpuscular Hb, g/l	M±m M _{min} –M _{max}	342,29±2,97 309–359	339,3±0,81 337–347
Количество тромбоцитов, 10⁹/л The number of platelets, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} –M _{max}	238,16±19,6 111–343	217,4±15,2 97–284
Процент лимфоцитов, % The percentage of lymphocytes, %	M±m M _{min} –M _{max} p	34,48±1,96 21–54	41,5±2,03 33–58 < 0,05
Процент моноцитов, % The percentage of monocytes, %	M±m M _{min} –M _{max}	7,65±0,89 3–18	6,8±0,73 1–10
Процент сегментоядерных нейтрофилов, % The percentage of segmented neutrophils, %	M±m M _{min} –M _{max} p	52,54±1,96 35–68	47,9±1,7 35–56 < 0,05
Процент палочкоядерных нейтрофилов, % The percentage of band neutrophils, %	M±m M _{min} –M _{max} p	2,22±0,29 0–5	1,2±0,24 0–3 < 0,05
Процент эозинофилов, % The percentage of eosinophils, %	M±m M _{min} –M _{max}	2,97±0,59 0–10	2,4±0,41 0–5
Процент базофилов, % The percentage of basophils, %	M±m M _{min} –M _{max}	0,12±0,06 0–1	0,2±0,08 0–1
Процент юных нейтрофилов, % The percentage of young neutrophils, %	M±m M _{min} –M _{max}	0±0 0±0	0±0 0±0
Абсолютное количество лимфоцитов, 10⁹/л The absolute number of lymphocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} –M _{max}	2,06±0,26 1,08–6,02	2,34±0,25 0,96–4,02
Абсолютное количество моноцитов, 10⁹/л The absolute number of monocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} –M _{max}	0,46±0,08 0,14–1,46	0,44±0,07 0,08–0,98
Абсолютное количество гранулоцитов, 10⁹/л The absolute number of granulocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} –M _{max} p	3,52±0,3 1,68–6,74	2,95±0,25 1,7–4,8 < 0,05
Ширина распределения клеток красной крови, % CV Red blood cell distribution width, % CV	M±m M _{min} –M _{max} p	13,82±0,14 10,3–16,7	14,63±0,20 12,5–16 < 0,05
Тромбоцитокрит, % Platelet, %	M±m M _{min} –M _{max}	0,19±0,02 0,08–0,473	0,17±0,01 0,07–0,24
Средний объем тромбоцита, fL Average platelet volume, fL	M±m M _{min} –M _{max}	8,32±0,28 6,6–11,3	7,98±0,18 6,7–8,9
Ширина распределения тромбоцита, % Platelet distribution width, %	M±m M _{min} –M _{max}	12,12±0,40 9,9–16,7	11,6±0,21 10–12,6

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0,05$.

препарат был включен в комплексное лечение пациентов с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, в качестве средства для местной терапии.

Под нашим наблюдением находились 40 пациентов с клинической картиной фарингита/тонзиллита и синдрома хронической усталости, ассоциированных с ВЭБ. Клинически у всех пациентов выявлялись энантемы и экзантемы, имелись в наличии рыхлые миндалины и воспаление задней стенки рогоглотки; все пациенты предъявляли жалобы на повышенную утомляемость, снижение работоспособности, слабость при незначительной физической нагрузке, апатию и резкие перемены настроения; у них выявлялась субфебрильная температура. Средняя длительность заболевания составляла три с половиной года. При первичном обращении пациента проводилось комплексное обследование, включавшее: сбор анамнеза и жалоб, физикальный осмотр, термометрию, и на основании полученных данных назначались следующие исследования: ПЦР ротовой жидкости и крови на ВЭБ (качественно), а при положительном результате — его количественное определение, исследование уровней IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, иммунологическое исследование (расширенная иммунограмма). Критериями отбора пациентов с ВЭБ-ассоциированной инфекцией являлись: клиническая картина заболевания (характерный симптомокомплекс) и наличие специфических IgG к антигенам ВЭБ.

Таблица 3. Характеристика показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 3. Characteristics of neutrophilic phagocytic activity in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
Активность фагоцитоза нейтрофилов, % The activity of phagocytosis of neutrophils, %	M±m M _{min} –M _{max}	41,51±5,1 5–91	37,8±3,9 11–59
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, усл.ед. The intensity of phagocytosis of neutrophils, RU	M±m M _{min} –M _{max}	1,57±0,58 0,09–10	0,83±0,11 0,18–1,6
Фагоцитарное число нейтрофилов, усл.ед. Phagocytic number of neutrophils, RU	M±m M _{min} –M _{max} p	3,2±0,57 1,3–11	2,09±0,16 1,3–3,3 < 0,05
НСТ спонтанная активность, % NBT spontaneous activity, %	M±m M _{min} –M _{max}	27,82±4,2 7–79	24,4±4,3 8–61
Индекс спонтанной НСТ активности, усл.ед. Index of spontaneous NST activity, RU	M±m M _{min} –M _{max}	0,39±0,09 0,09–1,07	0,31±0,04 0,11–0,72
НСТ индуцированная активность, % NBT-induced activity, %	M±m M _{min} –M _{max}	55,34±4,3 21–94	56,1±5,04 21–83
НСТ индуцированная активность, усл.ед. NBT induced activity, RU	M±m M _{min} –M _{max}	0,83±0,07 0,31–1,54	0,77±0,07 0,42–1,26

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0,05$.

Итоговые исследования проводились только тем пациентам, у которых по прошествии 20 дней после окончания последнего курса комплексной терапии не определялся ВЭБ методом ПЦР и отсутствовали клинические признаки заболевания.

Одним из эффективных диагностических методов, по данным различных авторов [1, 3, 13], является определение IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, уровень которых считается одним из диагностических критериев при оценке стадии заболевания. Поэтому мы сочли необходимым определить динамику уровней IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ у данной группы пациентов (табл. 1).

Исследования показали, что специфические иммуноглобулины G у больных с хронической формой ВЭБ имеют лишь тенденцию к повышению и не могут служить критерием эффективности проводимой противовирусной и иммунотропной терапии.

В связи с этим мы провели оценку состояния иммунного статуса у больных с данной патологией.

При анализе общего анализа периферической крови (табл. 2), обращает на себя внимание выраженный разброс показателей у больных ВЭБ; на фоне терапии разбросы показателей периферической крови значительно уменьшаются. Достоверные различия выявлены только по показателям «белой» крови, а именно, после лечения у больных ВЭБ-ассоциированной

инфекцией повышалось относительное количество лимфоцитов, снижалось относительное и абсолютное количество нейтрофилов и их палочкоядерных форм. При этом имелись и некоторые особенности со стороны «красной» крови, например, имело место повышение показателя ширины распределения клеток красной крови

у больных после проведенной терапии. Эти данные косвенно свидетельствуют о том, что хроническая вирусная инфекция может приводить и к частичному повреждению эритроидного ростка кроветворения, нарушению его функций. При этом, у части пациентов до лечения наблюдался очень высокий, либо очень низкий

Таблица 4. Характеристика лимфоцитарного звена иммунитета (уровни CD-маркеров лимфоцитов) у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 4. Characteristics of the lymphocytic immunity (levels of CD markers of lymphocytes) in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
T-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻), % T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), %	M \pm m M _{min} –M _{max}	74,29 \pm 2,43 47,9–88,8	74,4 \pm 1,14 68,9–83,0
T-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻), абс. T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), abs.	M \pm m M _{min} –M _{max} p	1426,63 \pm 65,7 784–1877	1746,7 \pm 138,3 861–2931 < 0,05
T-хелперы (CD3⁺CD4⁺), % T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), %	M \pm m M _{min} –M _{max}	46,65 \pm 2,29 21,3–59,8	48,61 \pm 2,16 36,2–62,8
T-хелперы (CD3⁺CD4⁺), абс. T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), abs.	M \pm m M _{min} –M _{max} p	896,7 \pm 72,4,7 352–1566	1167 \pm 131,5,4 375–2239 < 0,05
T-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺), % T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), %	M \pm m M _{min} –M _{max}	25,32 \pm 1,43 14,6–38,7	23,89 \pm 1,82 15,1–37,7
T-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺), абс. T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), abs.	M \pm m M _{min} –M _{max}	486,53 \pm 46,4 158–938	538,9 \pm 50,1 277–892
Соотношение CD4⁺/CD8⁺, абс. Ratio CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , abs.	M \pm m M _{min} –M _{max}	1,95 \pm 0,16 0,96–3,8	2,27 \pm 0,19 0,96–3,4
T-NK лимфоциты, % T-NK lymphocytes, %	M \pm m M _{min} –M _{max}	6,59 \pm 1,38 1,4–24,6	6,59 \pm 1,2 1–15,4
T-NK лимфоциты, абс. T-NK lymphocytes, abs.	M \pm m M _{min} –M _{max}	127,1 \pm 29,5 30–527	125,5 \pm 20,3 18–268
NK лимфоциты, % NK lymphocytes, %	M \pm m M _{min} –M _{max}	12,85 \pm 1,53 2,5–28,3	10,15 \pm 1,63 0,8–21,7
NK лимфоциты, абс. NK lymphocytes, abs.	M \pm m M _{min} –M _{max}	240,57 \pm 44,3 45–590	223,7 \pm 38,9 20–499
B-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺), % B lymphocytes (CD3 ⁻ CD19 ⁺), %	M \pm m M _{min} –M _{max} p	10,5 \pm 1,5 1,8–27,2	13,1 \pm 1,22 4,7–19,8 < 0,05
B-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺), абс. B lymphocytes (CD3 ⁻ CD19 ⁺), abs.	M \pm m M _{min} –M _{max} p	203,3 \pm 31,6 31–562	316,86 \pm 39,4 45–567 < 0,05
CD25⁺ лимфоциты, % CD25 ⁺ lymphocytes, %	M \pm m M _{min} –M _{max}	9,26 \pm 0,42 7–14,1	9,58 \pm 0,65 7,6–15,6
CD25⁺ лимфоциты, абс. CD25 ⁺ lymphocytes, abs.	M \pm m M _{min} –M _{max} p	178,37 \pm 12,3 86–293	202 \pm 12,7 150–306 < 0,05
HLA-DR⁺ лимфоциты, % HLA-DR ⁺ lymphocytes, %	M \pm m M _{min} –M _{max} p	3,67 \pm 0,2 2–5,4	2,84 \pm 0,33 1,9–5,0 < 0,05
HLA-DR⁺ лимфоциты, абс. HLA-DR ⁺ lymphocytes, abs.	M \pm m M _{min} –M _{max}	71,53 \pm 6,1 22–126	64,9 \pm 7,4 18–109

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

Таблица 5. Характеристика показателей гуморального иммунитета у больных с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 5. Characteristics of humoral immunity in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
IgA, г/л IgA, g/l	M±m M _{min} –M _{max}	1,52±0,1 0,77–2,5	1,45±0,08 0,88–1,92
IgM, г/л IgM, g/l	M±m M _{min} –M _{max}	1,13±0,17 0,15–3,01	1,07±0,16 0,24–2,16
IgG, г/л IgG, g/l	M±m M _{min} –M _{max}	12,06±1,02 5,89–23,05	11,35±0,62 7,29–15,0
C1 ингибитор, мкг/мл C1 inhibitor, µg/ml	M±m M _{min} –M _{max}	285,25±18,3 152,9–460,5	296,74±34,5 150,1–698,4
C3a компонент комплемента, нг/мл C3a complement component, ng/ml	M±m M _{min} –M _{max}	122,89±12,08 62,04–259,2	117,92±14,8 65,9–246,5
C5a компонент комплемента, нг/мл C5a complement component, ng/ml	M±m M _{min} –M _{max}	17,57±2,9 2,93–51,73	18,32±2,5 0,46–31,11

Примечание. р — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при р < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

гемоглобин, в отличие от группы пролеченных пациентов, где показатели гемоглобина регистрировались в диапазоне средних величин.

Учитывая полученные нами данные об изменении качественного и количественно состава белой крови до и после проведенного терапевтического вмешательства, важно было определить состояние основных звеньев иммунной системы.

Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов (табл. 3) показало достоверное снижение показателя фагоцитарного числа после проведенной терапии на фоне четкой тенденции к снижению остальных показателей, значения которых сложно интерпретировать вследствие их десятикратного разброса (M_{min}–M_{max}). Можно предположить, что при увеличении числа обследованных лиц данные различия показателей могут быть нивелированы.

Изучение клеточной составляющей иммунного статуса (табл. 4) показало, что у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, достоверно снижены показатели Т-лимфоцитов, преимущественно за счет Т-хелперных лимфоцитов, В-лимфоцитов и лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25⁺). В то же время хочется обратить внимание на тот факт, что разбросы изучаемых параметров клеточного (лимфоцитарного) звена иммунной системы также значительны от очень низких цифр (ниже нормативных показателей), до превышающих нормальные показатели клеток [10] (это относится, в первую очередь, к показателям цитотоксических клеток, натуральных киллеров, Т-NK-клеток). Подобные выраженные девиации количественного состава клеток могут быть связаны как с разной степенью тяжести заболева-

ния, так и с разными fazами воспалительного процесса (степень выраженности ответа на хроническое воспаление). Возможно, будет необходимо более тщательно проанализировать группу до лечения по степени тяжести и характеру ответа иммунной системы (в сторону супрессии и в сторону активации показателей).

Исследование гуморального звена иммунной системы не выявило значительных изменений изучаемых параметров иммунной системы (табл. 5), что, в общем, согласуется с данными, полученными нами при изучении специфических иммуноглобулинов (см. табл. 1). Хотя в целом проявляется та же тенденция, что и в других исследованиях, а именно снижение разброса показателей в группе пролеченных пациентов по сравнению с показателями до начала терапии.

Заключение

Проблема повышения эффективности элиминационной противовирусной терапии и поиска надежных критериев ее оценки при хронических вирусных инфекциях остается одной из сложных в современной клинической практике [6]. В частности, это касается и инфекций, ассоциированных с ВЭБ. Проведенное нами исследование показало, что наиболее информативным критерием этиопатогенетической эффективности проводимой противовирусной терапии является качественное и количественное определение наличия генома ВЭБ методом ПЦР в целевых эпигенотипах. Определение уровней специфических IgG в динамике терапевтического процесса не может служить достаточным и объективным критерием эффективности терапии

в силу большого разброса показателей и отсутствия достоверных различий между группами пациентов до и после лечения в условиях полной элиминации вируса. В то же время оценка иммунного статуса отражает восстановление баланса клеточного компартмента иммунной системы, касающегося нормализации количественных показателей Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, активированных лимфоцитов ($CD25^+$), фагоцитоза нейтрофилов (фагоцитарное число), с уменьшением степени разброса ($M_{min} - M_{max}$) показателей практически по всем изучаемым параметрам расширенной иммунограммы. Полученные нами данные в целом свидетельствуют о наличии этиопатогенетичес-

кой и иммунологической эффективности комплексной схемы терапии хронической вирусной инфекции, ассоциированной с ВЭБ, а неинвазивная ПЦР-диагностика наличия вирусного генома в ротовой жидкости может служить надежным критерием элиминации вируса.

Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН «Фармакологическая коррекция нарушенных физиологических функций № Гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1 и по теме из Плана НИР ИКВС УрО РАН «Эндогенные бактериальные инфекции: возбудители, факторы риска, биомаркеры, разработка алгоритмов диагностики, лечения и профилактики; № Гос. регистрации 116021510075.

Список литературы/References

1. Забков О.И., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Гриценко В.А., Зурочка А.В. Клинико-диагностические критерии эффективности комплексной этиопатогенетической терапии хронической Эпштейна–Барр вирусной инфекции // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2018. № 3. 13 с. [Zabkov O.I., Zurochka V.A., Dobrynnina M.A., Gritsenko V.A., Zurochka A.V. Clinical-diagnostic criteria of efficiency of complex etiopathogenetic therapy chronic Epstein–Barr of a viral infection. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center UB RAS*, 2018, no. 3, 13 p. doi: 10.24411/2304-9081-2018-13012 (In Russ.)]
2. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Забков О.И., Зуева Е.Б., Фомина Л.О., Файзуллина А.И., Гриценко В.А. Спектр иммунобиологической активности и потенциал практического применения синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Российский иммунологический журнал. 2018. Т. 12 (21), № 4. С. 665–669. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynnina M.A., Dukardt V.V., Zabkov O.I., Zueva E.B., Fomina L.O., Fayzullina A.I., Gritsenko V.A. The spectrum of immunobiological activity and the potential of practical application of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, vol. 12 (21), no. 4, pp. 665–669. (In Russ.)]
3. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. № 2. 30 с. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynnina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshnev V.A. The phenomenon of the presence of a unique combination of immunobiological properties of the synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center UB RAS*, 2016, no. 2, 30 p. (In Russ.)]
4. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Гриценко В.А. Исследование спектра иммунобиологической активности синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для расширения возможностей создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 3. С. 377–380. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynnina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrentyeva I.N., Sukhobaevskaya L.P., Gritsenko V.A. The study of the spectrum of the immunobiological activity of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for expanding the possibilities of creating cosmetics of the new generation with combined effects. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, vol. 11 (20), no. 3, pp. 377–380. (In Russ.)]
5. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская А.П., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), спектр его иммунобиологической активности и практическое применение // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 2. С. 137–140. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynnina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrentyeva I.N., Sukhobaevskaya A.P., Gritsenko V.A. Synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), the spectrum of its immunobiological activity and practical application. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, vol. 11 (20), no. 2, pp. 137–140. (In Russ.)]
6. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Забков О.И., Зуева Е.Б., Забокрицкий Н.А. Исследование влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в комбинированной терапии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Российский иммунологический журнал. 2018. Т. 12 (21), № 4. С. 670–673. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Zabkov O.I., Zueva E.B., Zabokritsky N.A. Investigation of the effect of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in the combination therapy of infection caused by Epstein–Barr virus. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, vol. 12 (21), no. 4, pp. 670–673. (In Russ.)]
7. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами — Ацеграм-гель и Ацеграм-спрей // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19), № 3. С. 269–272. [Zurochka A.V., Zurochka V.A.,

- Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. The synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for the creation of a new generation of cosmetic products with combined effects — Acecgram-gel and Acecgram-spray. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, vol. 10 (19), no. 3, pp. 269–272. (In Russ.)]
8. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания лекарств нового поколения с комбинированными эффектами // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19), № 2 (1). С. 433–435. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. The synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for the creation of a new generation of drugs with combined effects. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, vol. 10 (19), no. 2 (1), pp. 433–435. (In Russ.)]
 9. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Haydukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshnev V.A. A flowing cytometry in biomedical researches. Yekaterinburg: RIO URB RAS, 2018. 720 p. (In Russ.)]
 10. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с [Lakin G.F. Biometrics. Moscow: Higher School, 1990. 352 p. (In Russ.)]
 11. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. 384 с. [Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using Statistica package. Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 384 p. (In Russ.)]
 12. Cui J., Yan W., Xu S., Wang Q., Zhang W., Liu W., Ni A. Anti-Epstein–Barr virus antibodies in Beijing during 2013–2017: what we have found in the different patients. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 3: e0193171. doi: 10.1371/journal.pone.0193171
 13. Kostadinova T., Ivanova L., Hristov I., Todorova T., Stoykova Z., Tsaneva D. The role of anti-EBNA1 IgG determination in EBV diagnostics. *J. IMAB*, 2018, vol. 24, no. 3, pp. 2181–2185. doi: 10.5272/jimab.2018243.2181
 14. Santos L., Azevedo K., Silva L., Oliveira L. Epstein–Barr virus in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 2014, vol. 60, no. 3, pp. 262–269. doi: 10.1590/1806-9282.60.03.016
 15. Smatti M., Al-Sadeq D., Ali N., Pintus G., Abou-Saleh H., Gheyat K., Nasrallah G. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.*, 2018, vol. 8: 211. doi: 10.3389/fonc.2018.00211

Авторы:

Зурочка В.А., д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Забков О.И., аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Добрынина М.А., научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Гриценко В.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия;

Давыдова Е.В., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Южно-Уральский медицинский университет, г. Челябинск, Россия;

Чукичев А.В., д.м.н., профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО Южно-Уральский медицинский университет, г. Челябинск, Россия;

Забокрицкий Н.А., д.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Сарапульцев А.П., д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Зурочка А.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия; ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Authors:

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation; Senior Researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

Zabkov O.I., PhD Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

Dobrynina M.A., Researcher, Laboratory of Immunology of the Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Regional Branch of the RAS, Orenburg, Russian Federation;

Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;

Chukichev A.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;

Zabokritsky N.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

Sarapultsev A.P., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation; Leading Researcher, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.02.2019

Отправлена на доработку 18.12.2019

Принята к печати 13.01.2020

Received 06.02.2019

Revision received 18.12.2019

Accepted 13.01.2020

EPSTEIN–BARR VIRUS LMP1 ONCOGENE POLYMORPHISM IN TATAR AND SLAVIC POPULATIONS IN RUSSIAN FEDERATION IMPACTING ON SOME MALIGNANT TUMOURS

V.E. Gurtsevitch^a, K.V. Smirnova^{a,b}, I.V. Botezatu^a, T.E. Dushenkina^a, A.K. Lubenskaya^a, E. Dubar^a, N.B. Senyuta^a, A.V. Lichtenstein^a, S.V. Petrov^c

^a N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

^b Pirogov National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

^c Republican Clinical Oncological Dispensary, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation

Abstract. Objective: To compare genetic structure of the main Epstein–Barr virus (EBV) oncogene, latent membrane protein 1 (LMP1), in EBV strains circulating in two genetically distinct ethnic populations in Russian Federation, Tatars and Slavs, as well as assess an impact of diverse LMP1 variants on incidence and mortality rate for some malignant tumors partially associated with EBV infection. *Materials and methods.* Oral washing samples were collected from 60 ethnic Kazan Tatars and 65 ethnic Moscow Slavics. Carboxy-terminal nucleotide sequences (41 and 40 sequences, respectively) derived from hypervariable LMP1 gene region were amplified from EBV DNA samples. Next, final nucleotide sequences were translated into amino acid sequences and analyzed according to classification by Edwards et al. *Results.* Analysis of 41 and 40 LMP1 samples obtained from ethnic Kazan Tatars and ethnic Moscow Slavics, respectively, revealed significant difference in relevant amino acid structures. In particular, all LMP1 samples derived from Moscow Slavics were found to belong to the four protein variants: B95.8/A, Med–, China1 and NC. Among them, low-transforming variant B95.8/A was dominant (82.5%). In contrast, solely 21 out of 41 LMP1 samples derived from ethnic Tatars were classified as B95.8/A, Med– and China1 variants. Importantly, the percentage of low-transforming B95.8/A variant among ethnic Tatar samples was significantly lower compared to that one found in Moscow Slavics (29.3% vs. 82.5%). On the other hand, seven (17.1%) out of 20 other samples formed a unique protein mono group characterized by LMP1 amino acid sequence differed from that one available in the GenBank database. Such group of variants was designated as LMP1-TatK. The remaining 13 samples (31.7%) did not match either protein variants, thereby forming the “beyond classification” (LMP1-TatBC) group. *Conclusion.* The data obtained suggest that various LMP1 variants exist in EBV strains persisting in ethnic Tatars and ethnic Slavics examined in Russian Federation. It was also found that EBV strains isolated from ethnic Tatars contained a unique LMP1 gene variant encoding protein LMP1-TatK lacked in EBV strains derived from ethnic Moscow Slavics. Taking into account the genealogy of Tatars, it cannot be ruled out that EBV strain bearing LMP1-TatK variant represented ethnically specific EBV strain that might circulate many centuries ago among their historical human predecessors called Mongol-Tatar tribes. In addition, it was shown that the LMP1 variants in EBV strains isolated from ethnic Kazan Tatars and ethnic Moscow Slavics did not affect the incidence and mortality of different forms of cancer consisting of EBV-associated cases.

Key words: Epstein–Barr virus, latent membrane protein 1, ethnic tatars and slavs, sequence analysis, phylogenetic analysis, real-time PCR, Epstein–Barr virus DNA copies.

Адрес для переписки:

Гурцевич Владимир Эдуардович
115478, Россия, Москва, Каширское ш., 24,
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ.
Тел.: 8 910 444-83-52 (моб.).
E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Contacts:

Vladimir E. Gurtsevitch
115478, Russian Federation, Moscow, Kashirskoye highway, 24,
N.N. Blokhin Cancer Research Center.
Phone: +7 910 444-83-52 (mobile).
E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Библиографическое описание:

Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенкина Т.Е.,
Лубенская А.К., Дубар Э., Сенюта Н.Б., Лихтенштейн А.В., Петров С.В.
Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в двух
этнических группах россии, татар и славян, и его влияние на развитие
некоторых злокачественных опухолей // Инфекция и иммунитет. 2020,
Т. 10, № 2. С. 347–358. doi: 10.15789/2220-7619-EBV-1162

Citation:

Gurtsevitch V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushenkina T.E.,
Lubenskaya A.K., Dubar E., Senyuta N.B., Lichtenstein A.V., Petrov S.V.
Epstein–Barr virus LMP1 oncogene polymorphism in tatar and slavic
populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020,
vol. 10, no. 2, pp. 347–358. doi: 10.15789/2220-7619-EBV-1162

ПОЛИМОРФИЗМ ОНКОГЕНА LMP1 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР В ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ РОССИИ, ТАТАР И СЛАВЯН, И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Гурцевич В.Э.¹, Смирнова К.В.^{1,2}, Ботезату И.В.¹, Душенькина Т.Е.¹, Лубенская А.К.¹, Дубар Э.¹, Сенюта Н.Б.¹, Лихтенштейн А.В.¹, Петров С.В.³

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия

²Национальный медицинский университет им. Пирогова МЗ РФ, Москва, Россия

³Республиканский клинический онкологический диспансера МЗ Республики Татарстан, г. Казань, Россия

Резюме. Цель работы: выяснить, отличается ли генетическая структура основного онкогена вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), латентного мембранных белка 1 (LMP1), у штаммов ВЭБ, циркулирующих в двух российских генетически разных популяциях, этнических татар и этнических славян, и каково влияние различных вариантов LMP1 в этих популяциях на уровень злокачественных патологий, часть которых ассоциирована с ВЭБ.

Материалы и методы. Смывы полости рта были получены от 60 этнических казанских татар и 65 этнических московских славян. Сорок одна и сорок (соответственно) С-концевых нуклеотидных последовательностей наиболее вариабельной части LMP1 были амплифицированы из образцов ДНК ВЭБ, экстрагированных из соответствующих смылов. Нуклеотидные последовательности были переведены в аминокислотные последовательности и классифицированы в соответствии с классификацией Edwards и соавт. **Результаты.** Анализ 41 образца LMP1, полученного от этнических татар, и 40 LMP1 образцов, полученных от этнических славян, выявил существенные различия в структуре их аминокислот. Все образцы LMP1 московского происхождения принадлежали к четырем белковым вариантам, B95.8/A, Med–, China1 и NC. Среди них вариант с низким уровнем трансформации, B95.8/A, был доминирующим (82,5%). Из 41 образца LMP1 татарского происхождения только 21 был классифицирован как B95.8/A, Med– и China1 варианты. Процентное содержание низко трансформирующего варианта B95.8/A среди казанских татар было значительно ниже, чем у московских славян (29,3% против 82,5%). Из других 20 образцов семь (17,1%) образовали уникальную моногруппу белков с аминокислотной структурой последовательностей LMP1, отличной от имеющейся в GenBank. Эта группа вариантов была обозначена как LMP1-TatK. Остальные 13 образцов LMP1 (31,7%) не соответствовали ни одному из вариантов в вышеуказанной классификации, формируя, таким образом, группу «вне классификации» (LMP1-TatBC). **Заключение.** Полученные данные указывают на разнообразие вариантов LMP1 в штаммах ВЭБ, персистирующих у этнических татар и славян. Также было обнаружено, что штаммы ВЭБ татарского происхождения содержат уникальный вариант гена LMP1, кодирующий онкобелок LMP1-TatK, который отсутствует в штаммах ВЭБ славянского происхождения. Принимая во внимание генеалогию татар, нельзя исключить, что штамм ВЭБ, кодирующий вариант LMP1-TatK, является этнически специфическим штаммом, который, возможно, циркулировал среди их исторических предшественников, монголо-татарских племен, много веков назад. Было также показано, что варианты LMP1 в штаммах ВЭБ татарского и славянского происхождения не оказывают какого-либо влияния на показатели заболеваемости опухолями и смертности от них, которые включают и случаи, ассоциированные с этим вирусом.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, латентный мембранный белок 1, этнические татары и славяне, анализ последовательности, филогенетический анализ, ПЦР в реальном времени, копии ДНК вируса Эпштейна–Барр.

Introduction

Epstein–Barr virus (EBV; Human herpesvirus 4) is a double-stranded DNA virus with a genome size of about 170 kb, belonging to the Herpesviridae family, Gammaherpesvirinae subfamily and Lymphocryptovirus genus. EBV is estimated to infect up to 95% of the global adult population over their lifetime [11]. Infection with the virus usually occurs when someone comes into contact with the saliva of an infected person, but can also occur through blood transfusion and organ transplantation from infected individuals [19, 40]. In early childhood, infection with the virus is usually asymptomatic; however, infection of young people who have not previously encountered the virus can lead to the development of infectious mononucleosis [14].

In a healthy person, B lymphocytes (mainly memory B cells) and epithelial cells are the main targets of the virus. EBV primarily infects epithelial cells of the mucous membrane that lines the nasopharynx and lymphoid formations surrounding the entrance to the respiratory and digestive tracts (Valdeyer's ring, consisting of the tonsils and adenoids) [43]. Cells that are infected with the virus, other than B lymphocytes, can also determine the development and pathogenesis of a number of EBV-associated pathologies [45]. Through the Valdeyer's ring, the virus enters the peripheral blood and infects memory B cells, in which EBV persists for life [29]. There is no expression of latent proteins in these cells, as only non-translated RNAs are transcribed from episomal viral DNA. The recognition of a "related" antigen by the receptor on memory B cells induces

reactivation of EBV in the cell pool, and the differentiation of plasma cells leads to the development of a lytic infectious virus. In the bloodstream, the virus is implanted by circulating memory B cells into all parts of the peripheral lymphoid system, and then returns to the oral cavity through the lymphoid ring. In this case, the number of infected memory B cells in the population of lymphoid elements of the Valdeier's ring and the peripheral blood are similar, according to Laichalk et al. For every 10 million B cells in the lymphoid formations of the Valdeyer's ring and peripheral blood, the number of infected memory B cells averages 175 and 110, respectively, although only 1% of infected B cells are in the peripheral blood [7]. In an infected person, the virus avoids recognition by the immune system. This is due to the expression of a limited number of viral genes in memory B cells, as well as interruption of the mechanism of viral antigen expression on the surface of these cells [38]. In the body of a healthy person, the virus is under strict immunological control [37]. Weakening of the immune system for various reasons allows the virus to actively multiply, and the restoration of immunocompetence suppresses the replication of the virus, reducing it back to the background level.

Being a ubiquitous virus, EBV is able to simultaneously initiate a number of benign and malignant pathologies. Benign neoplasms are the infectious mononucleosis mentioned above and hairy leukoplakia of the oral cavity. The malignant neoplasms include Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, certain histological variants of classical Hodgkin's lymphoma, a number of non-Hodgkin's lymphomas and certain variants of stomach cancer, among others [42, 45].

Numerous studies have shown that one of the latent EBV infection genes, latent membrane protein 1 (LMP1), which encodes the oncoprotein LMP1, plays an active role in the development of EBV-associated pathologies. This protein has the ability to stimulate cell growth, inhibit apoptosis in various cell types [27, 34] and induce tumors in transgenic mice [28]. LMP1 reduces the immunogenicity of viral proteins and enhances their signalling activity [8, 23]. Studies have shown that nucleotide substitutions in LMP1 sequences are usually located in regions that regulate transcription or translation [16, 25].

The LMP1 protein consists of 386 amino acids that affect functional activity, immunogenicity, half-life and the transforming potential, which can vary significantly in viral isolates [42]. Unlike the prototype variant LMP1-B95.8 of American origin, LMP1 "Cao" (LMP1-Cao), of Chinese origin with high tumourigenic activity, contains a characteristic 10-member deletion (30 bp) in the C-terminal domain, adjacent to the CTAR2 region, as well as three 11-amino acid repeats, numerous point mutations [13, 24].

Of the three LMP1 domains identified, the C-terminal domain is the most studied [31]. Analysis of this domain in different geographic regions allowed Edwards et al. in 1999 to propose a widely used classification, according to which all studied LMP1 samples were subdivided into variants that differed with respect to their key amino acid substitutions compared to the prototypic LMP1-B95.8 variant [15]. In this classification system, LMP1 variants are named according to their geographic origin. However, the above classification of LMP1 was created for EBV strains circulating among a population inhabiting of a limited number of territories, thus it is unclear whether it can be applied for the analysis of LMP1 from other geographic regions [17, 36]. Unfortunately, a classification uniting all possible variants of the gene has not yet been suggested, and it would be very difficult to achieve. It is known that the genetic structure of the population, environmental hazards and the spectrum of EBV-associated diseases in different regions can differ significantly, and it cannot be ruled out that LMP1 variants for each population will contain unique structural changes that are not related to the proposed classification.

The goal of this study was to find out whether EBV strains spread in representatives of two Russian ethnic groups, Volga Tatars and Moscow Slavs, differ in their EBV LMP1 oncogene structure, and influence LMP1 variants onto the incidence of some tumors in above ethnic groups, part of which are EBV-associated.

Materials and methods

Sampling. Throat washing samples were collected from 65 ethnic Slavs and 60 ethnic Tatars. The latter were students at the Kazan State Medical University (KSMU), no less than third generation Tatars. This group consisted of 15 males and 45 females, with an average age of 21.5 years old. Similar washing samples were obtained from ethnic Slavs (21 males and 19 females) with an average age of 47.5 years old. This group consisted of Moscow city residents, who were no less than third generation Russian Slavs. Each throat washing sample was a cell suspension obtained from each person after rinsing their mouth with 15 ml of sterile PBS for 30 seconds. Washing samples were collected in hermetically sealed plastic vials and stored at +4°C before the study. The Ethics Committee of the FSBI "N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" approved this study, which included randomly selected individuals in Moscow city and the R. Tatarstan who had given their informed consent.

Extraction and amplification of the LMP1 gene. DNA from the throat washing samples was isolated by phenol-chloroform deproteinisation. The presence of viral DNA in the isolated samples was evaluated by real-time PCR, as described previously [20].

Amplification of LMP1 was carried out in two stages with the corresponding external and internal primers, according to a previously described technique [22]. Each PCR product was purified using a mini-column (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's instructions. Approximately 100–200 ng of PCR product was used for each reaction, and the DNA concentration was assessed visually in an agarose gel. As a positive control, 100 ng of DNA isolated from the B95–8 cell line was used. Each sample was analysed in duplicate. Negative water blanks were included in every analysis.

Sequencing of LMP1 PCR products. LMP1 amplicons were sequenced in both directions. DNA sequencing was performed by means of a panel of ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 reagents (Thermo Fisher Scientific, USA), with subsequent analysis of the reaction products on an automatic DNA sequencer (ABI PRISM 3100-Avant, Thermo Fisher Scientific, USA). Data processing was carried out using Vector NTI software (Thermo Fisher Scientific, USA).

LMP1 classification. The nucleotide sequences of LMP1 samples amplified from DNA extracted from throat washing samples and translated into amino acid sequences were classified according to the presence of mutations resulting in amino acid substitutions, deletions and duplications in the primary protein structure. The LMP1 variants were determined according to the Edwards et al. classification published in 1999. In this classification, the name of LMP1 variants reflected their geographic origin: Alaskan (Ala), China1 (Ch1), China2 (Ch2), China3 (Ch3), Mediterranean-plus (Med+), Mediterranean-minus (Med−), and North Carolina (NC). The variant LMP1-China1 has been reported to be an analogue of the highly tumourigenic variant LMP1-Cao [15, 33].

Quantitative determination of viral DNA. The number of copies of viral DNA in 1 ml of throat washing sample was determined by real-time PCR. To construct the calibration curves, the DNA of diploid Namalwa cells containing two integrated viral genomes was used. This was based on the ratio of 3.3 pg of genomic DNA per copy of viral DNA [30]. For real-time PCR, primers for the 76-bp fragment in the BamHI-W region of viral DNA (GenBank ID no. V01555) were used: sense primer W-44F (5'-CCCAACACTCCACCACACC-3'), antisense primer W-119R (5'-TCTTAGGAGCTGTCCGA GGG-3'); fluorescent probe W-67T (5'-FAM-CAC ACACTACA-CACACCCACCCGTCTC-RTQ1) [32]. The DNA extracted from throat washings can be used as a template for PCR when the unique K-RAS gene is used as a control, as described previously [9]. The reaction was conducted in 96-well plates on a CFX96 device (Bio-Rad Laboratories, USA). The 50- μ l reaction mixture (Synthol, Russia) contained 0.3 μ M of each of the primers, 25 nM

of the fluorescent probe, 4 mM of MgCl₂, 200 μ M of each dNTP, 1 unit of Taq polymerase, 10 μ l of DNA solution in 10 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) and 1 mM EDTA (corresponding to 50 μ l of wash sample). Each analysis included two negative controls that did not contain DNA. The PCR conditions were denaturation for 5 min at 95°C, followed by 40 cycles at 95°C for 15 s then at 56.5°C for 30 s. The real-time PCR was analysed using CFX Manager software (BioRad).

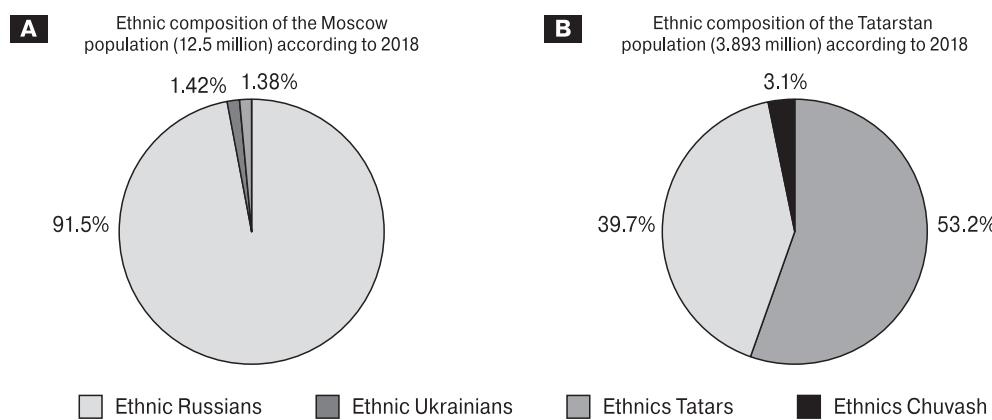
Phylogenetic analysis. To analyse the phylogenetic relationship among ethnic Tartar EBV isolates, the LMP1 C-terminus sequences were compiled. All sequences were aligned, and the distances between each sample were calculated with the ClustalW program using the Kimura two-parameter model. A phylogenetic tree was constructed from these matrices by the neighbour-joining method using MEGA software. The main LMP1 EBV variants (Alaskan, NC, B95.8/A, Med−, China1, China2) available in GenBank were used for phylogenetic comparison.

Statistical analysis. Standardized rates (SR) for the incidence and mortality and their standard errors (SE) in 2015–2017 years for some malignant tumours among which EBV-associated cases are diagnosed in Moscow and the R. Tatarstan, were obtained from the publication “Malignant neoplasms in Russia in 2015–2017 (incidence and mortality)”, Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova; Moscow, 2018; Mean values of SR for incidence and mortality and their SE in 2015–2017 for both sexes were analysed. 95% confidence intervals (CI) for SR were calculated as SR±1.96 SE. Absence of overlapping of CI for Moscow and the R. Tatarstan proves statistically significant difference between SR at P = 0.05 level, the overlapping of CI shows that the difference is not significant.

Results

The multinational population of the Russian Federation is known to consist of numerous ancient ethnic groups that have preserved their own culture and customs, and have occupied certain regions of the country for centuries. Therefore, it was important to perform a comparative analysis of the LMP1 oncogene structure of EBV strains persisting in these groups (which we assume have been transmitted from generation to generation since historical times) and to clarify the effect of these strains on the incidence of tumours of certain localizations due to the cases associated with the virus included in these tumours.

Tatars represent one such ethnic group, the second largest one in the Russian Federation after Slavic people (fig. 1, A and B). Representatives of Slavic nation are dominant in Moscow (91.5%), while Tatars occupy only the third position (1.38%) after Ukrainians (1.42%; fig. 1A). In the R. Tatarstan,

**Figure 1. Leading ethnic nations in Moscow city (A) and the Republic of Tatarstan (B)**

the Tatar population is slightly higher than the Slavic population (53.2% vs. 39.7%, respectively), and significantly exceeds the third ethnic nation, Chuvash (3.1%; fig. 1B).

LMP1 polymorphism

The investigation of LMP1 in the EBV strains circulating among ethnic Tatars was carried out by studying the throat washings from students of the KSMU, representatives of all administrative territories of the R. Tatarstan (tabl. 1). Analysis of the nucleotide and translated amino acid sequences of the 41 LMP1 amplicons obtained from 60 samples revealed significant polymorphism. According to the Edwards et al. classification [21] of the 41 sequences only 21 could be classified. Of these, 12 sequences corresponded to B95.8/A (29.3%, 12/41) variant, 6 — to Med— (14.6%) and 3 — to China1 (7.3%) variants. LMP1 sequences homologous to Alaskan, Med+, China2, China3 and NC variants were not detected. Among the other 20 LMP1 sequences that did not correspond to any variants of the above classification, seven (17.1%) formed a mono group consisting

of sequences which differed not only from the sequences of Moscow Slavs, but also from sequences of other Kazan Tatars. This group was designated as LMP1-TatK. The remaining 13 unclassifiable Tatar sequences (31.7%) formed a group that was designated as LMP1 outside the classification (LMP1-TatBC). In contrast to the low percentage of the low-transforming variant LMP1-B95.8 found in the Tatar group, this variant was dominant among the representatives of the Slavs (82.5% and 29.3%, respectively). Among representatives of the Moscow Slavs, the percentage of LMP1-Med-variant was lower than in the Kazan Tatars (2.5% vs. 14.6%, respectively); however, the difference between these values was not statistically significant. The percentage of LMP1China1 variant was practically identical in both ethnic groups (7.5% vs. 7.3%, respectively) (tabl. 1).

LMP1 sequence analysis

Analysis LMP1 samples of Tatar origin showed that many of them contained so-called Cao-associated mutations (tabl. 2). One such mutation, a deletion of 5 aa (276–280) observed in 16 samples

Table 1. Polymorphism of LMP1 in the EBV strains circulating among Moscow Slavs and Kazan Tatar

Number of examined individuals	Number of amplified LMP1 samples	LMP1 variants according to the Edwards et al. classification* Total: 21 (51.2%)				LMP1 variants outside the Edwards et al. classification Total: 20 (48.8%)		
		B95.8/A	Med-	China1	NC	Beyond Edwards' et al. classification (TatBC)	Unique to the ethnic Tatars (TatK)	
Ethnic Moscow Slavs								
65	40 (100%)	33/40 (82.5%)	1/40 (2.5%)	3/40 (7.5%)	3/40 (7.5%)	0/40 (0%)	0/40 (0%)	
Ethnic Kazan Tatars								
60	41 (69.5%)	12/41 (29.3%)	6/41 (14.6%)	3/41 (7.3%)	(0%)	13/41 (31.7%)	7/41 (17.1%)	

* Edwards et al. 1999 (20)

Table 2. C-terminal domain mutations in the LMP1-Tat^K variants in comparison with low (LMP1-B95.8) and highly transforming (LMP1-Cao) LMP1 variants

LMP1 variants	Mutations in CTAR and other regions				Cao-associated LMP1 mutations			LMP1 mutations unique to the ethnic Tatars	
	Q322N	CTAR 1 191–232	CTAR 2 351–386	CTAR 3 275–330	Deletion 276–280	Insertion 302–303	Deletion 346–355	Deletion 312–316	Deletion 382–386
LMP1-B95.8 & LMP1-Cao variants									
B95.8	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Cao	Q322N	G212S	S366T	276–280	5aa	(11aa x3)	10 aa	–	–
LMP1-Tat^K variants									
T-2	–	–	–	276–280	5aa.	11aa x3	–	5aa	5aa
T-4	–	S229T	–	276–280	5aa	11aa x3	–	5aa	5aa
T-5	–	S229T	S366T	276–280	5aa	11aa x3	–	5aa	5aa
T-6	–	S229T	–	276–280	5aa	11aa x3	–	5aa	5aa
T-33	–	S229T	S366A	–	–	11aa x3	–	5aa	5aa
T-44	–	–	S366T	276–280	5aa	11aa x3	–	5aa	5aa
T-45	Q334R	S229T	–	–	–	–	–	5aa	5aa

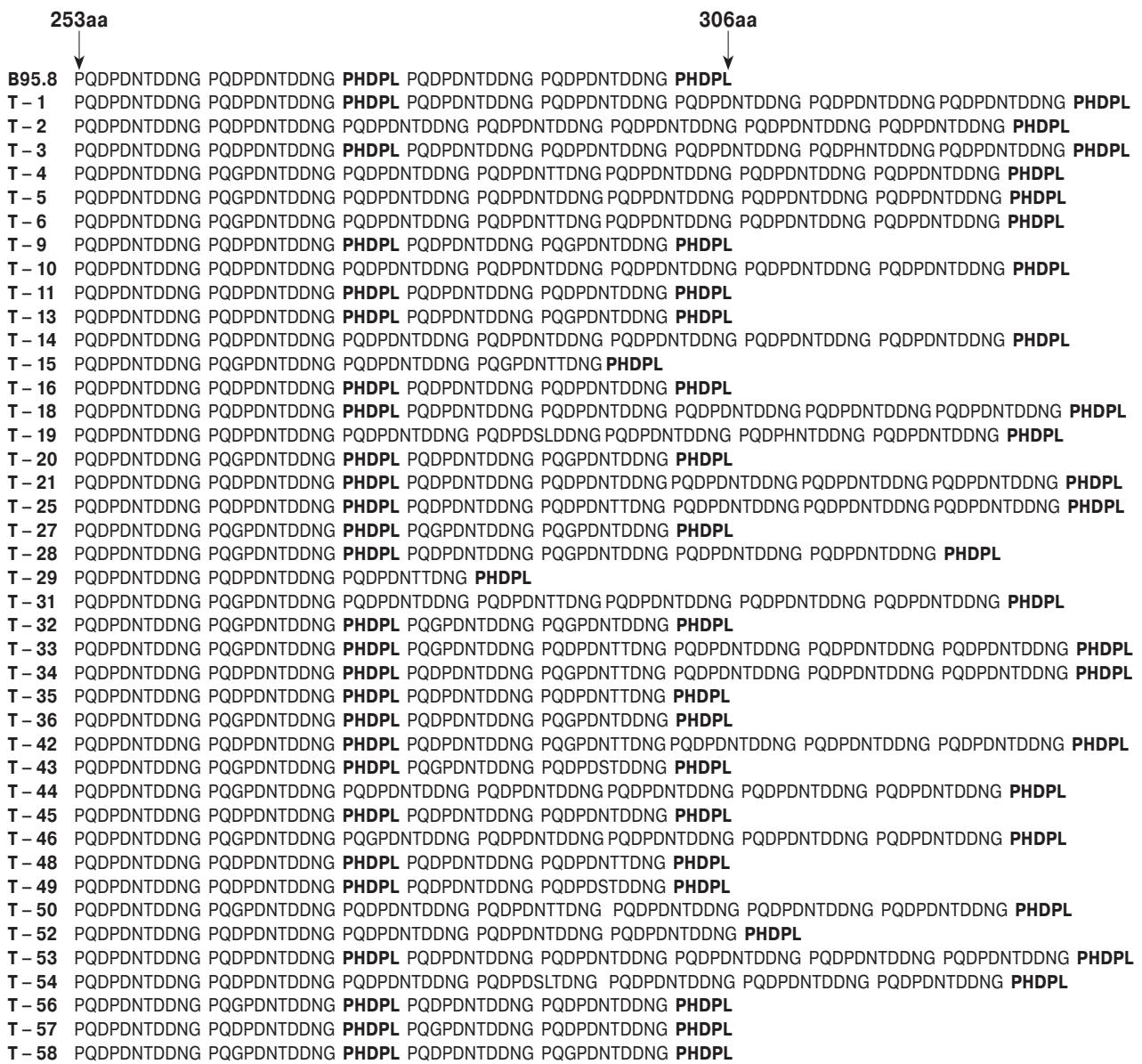
(39.0%), belongs to the CTAR-3 region of the LMP1. This region is required for activation of the Jak3/STAT signalling pathway, and is located between the CTAR-1 and CTAR-2 carboxy-terminal LMP1 regions. In 22 samples (53.7%), rare LMP1 insertions of 33 aa (302–303) were detected, which were found to be located within the same CTAR-3 region. Single point mutations that do not occur in known LMP1 variants were also identified. Among them, a mutation in codon 252 (G → A) was detected in seven samples (17.1%). This mutation is within the CTAR-2 region, which is the region that recruits the TNFR-associated death domain protein (TRADD) and the so-called receptor-interacting protein (RIP). In six samples (14.6%), LMP1 mutations were found in codon 317 (D → E) within the CTAR-3 region, as well as in codon 229 (S → T) in five samples (12.2%). The latter substitution is located in the CTAR-1 region, which actively interacts with TNFR proteins (TRAF1, 2 and 5). It can be assumed that the detected mutations may change the intracellular activity profile of a number of signalling pathways, as well as their biological activity. Sequence analysis of LMP1 samples from representatives of Slav group showed a similar result, which is not surprising, given that mutual enrichment of gene pools, as well as the exchange of EBV strains, between the Slavic and Tatar populations took place over the centuries.

However, particular interest are the seven LMP1-TatK samples of Tatar origin, which are structurally different not only from the other LMP1 samples of Tatar origin and those of Slav origin, but also from LMP1 samples of healthy people and patients with head and neck tumours from different regions of Russia [41]. This group of samples was characterized by the combined content of 5-amino acid deletions in codons 312–316 and 382–386, which were

absent in all other LMP1 samples that we have analysed so far (tabl. 2). Given the genealogy of the ethnic Tatars studied (at least the third generation) it can be assumed that the LMP1-TatK variant probably represents an evolutionarily ancient strain of the virus.

Amino acid repeats and insertions

A number of studies have shown that the C-terminal LMP1 domain contains a different number of repeats consisting of 11 aa (PQDPDNTDDMG), localised between aa 253 and 306. The prototype variant LMP1-B95.8 contains four such repeats and two inserts consisting of 5 aa (PHDPL), one of which is located between the second and third repeats (275–279), and the second after the last repeat (302–306). Box 5 aa is a JAK3 motif within the CTAR3 domain (aa 275–330), which presumably participates in the JACK3/STAT signalling pathway [31, 33]. To characterise LMP1 of ethnic Tatars, the C-terminal domains were analysed for repeats and insertions (fig. 2). Forty-one samples denoted by the letter T were studied. A structure of 11-aa repeats and 5-aa inserts, similar to the prototype strain LMP1-B95.8, was found for 16 samples. Seven 11-aa repeats were observed in 21 samples, 13 of which lacked the 5-aa insert between the second and third repeats, as present in the prototype variant LMP1-B95.8. In addition, point mutations (D → G) were detected in 17 samples in the region of 11-aa repeats. Similar mutations were found in patients with nasopharyngeal carcinoma, who were residents of the North Caucasus of Russia [41]. The findings suggest that EBV isolates from ethnic Tatars contain LMP1 variants which possess both a B95.8-like structure of repeating elements and a structure characteristic of LMP1 variants of African and Japanese origin [26]. However, unlike EBV isolates of Japanese origin,



T — Number of throat flushing samples from ethnic Tatars;

PQDPDNTDDNG — 11 aa repeating elements;

PHDPL — 5 aa sequences insertion;

D → G — point mutations in the region 11 aa

Figure 2. 11 aa repeats and 5 aa insertions in the C-terminal domain of LMP1 isolates from ethnic Tatars

point mutations D → G in LMP1 were often encountered in isolates from Tatar and Slavic samples. The difference in the number of repeats and 5-aa insertions between repeats for the JAK3 motif could be explained by recombination events that arise during the process of viral replication [33]. However, others have hypothesised that the mutational changes are related to the geographical origin of EBV [26].

EBV concentration in throat washing samples

From the literature and the results of own investigations, the saliva of even healthy individuals can contain EBV particles [12, 21]. In general, the concentration of viral particles in saliva is much higher than in peripheral blood. These particles, which are

mixed with saliva, appear in the oral cavity as a result of EBV-induced lytic destruction of infected epithelial cells of the mucous membrane lining the nasopharynx and the Valdeier's lymphoid ring, in particular. In our study, the median number of EBV DNA copies in 15 ml of throat washing samples varied from 833 in the group of Moscow Slavs to 3538 in Tatar students from KSMU (tabl. 3). However, the median number of viral DNA copies per cell in identical volumes of throat washing samples was 0 in students and 0.01 in Moscow Slavs. The data obtained probably indicates moderate replication of the virus in the oral mucosa of individuals tested, as we detected less than 1 copy of the viral genome per cell in the cell suspension, which is in line with other studies [7, 10].

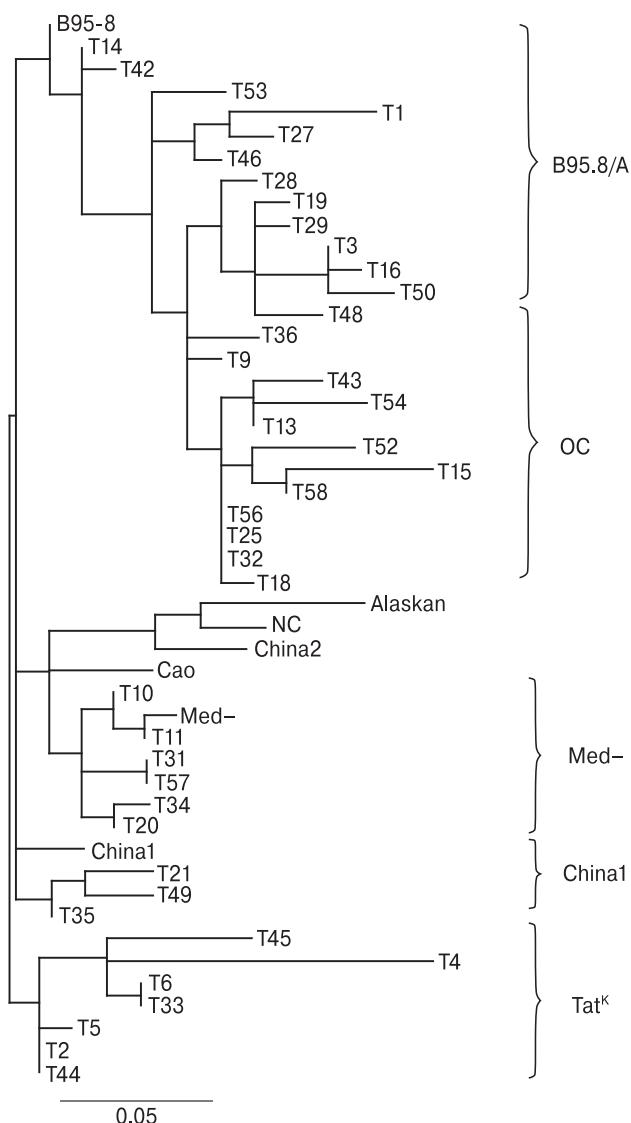
Table 3. Oral cavity EBV infection in representatives of ethnic Tatars and ethnic Slavs

Groups	Number of observations	Average age (years)	Number of EBV DNA copies in 15 ml of throat washings		Number of EBV DNA copies per 1 cell of throat washings	
			Median	IQR*	Median	IQR**
Students of the KSMU* ethnic Tatars	60	21.5	3538	0–183792	0.00	0–0.009
Healthy adults, ethnic Slavs	65	47.5	833	0–3281025	0.01	0–0.257

* KSMU — Kazan State Medical University. ** IQR — interquartile range.

Phylogenetic analysis

The 41 LMP1 sequences of Tatar origin were used to generate a phylogenetic tree to elucidate the genetic relationship between EBV isolates of ethnic Tatars. The neighbour-joining tree, constructed with additional LMP1 C-terminus sequences from GenBank

**Figure 3. Phylogenetic analysis of the LMP1 samples from throat washing of ethnic Tatars**

(Alaskan, NC, B95.8/A, Med-, China1 and China2), showed that the LMP1 sequences of the tested throat washing samples represent a heterogeneous group. Based on their sequence variations, the LMP1 alleles under investigation could be classified into five variants, for which corresponding clusters were created in the phylogenetic tree: B95.8/A, China1, Med-, BC, and TatK (fig. 3). The LMP1 B95.8/A and TatBC variants were represented with the same frequency (both 29.3%). The estimated frequencies of the LMP1 Med- and China1 variants were lower (14.6% and 7.3%, respectively). As seen in the phylogenetic tree, part of the investigated LMP1 sequences formed a separate phylogenetic group, TatK one, which most likely had a different EBV ancestor. It was also shown that LMP1 TatBC samples, which did not relate to any variant in the phylogenetic tree, were located quite close to the branches belonging to previously reported LMP1 variants with increased transforming activity (NC, Alaska, Med-) and the new TatK variant, but they were genetically distant from sequences of the prototype LMP1 B95.8/A variant.

The higher polymorphism of the LMP1 gene identified for EBV strains among ethnic Tatars compared to that of the Slavic group (tabl. 1) allow us to suggest a higher rates of incidence and mortality among the Tatar population for some malignant neoplasms in which cases associated with EBV are included. To find out the validity of our assumption the tumours of the oropharynx, nasopharynx, gastric cancer and Hodgkin's lymphoma were included in the list of analysed pathologies (tabl. 4). It is known, that EBV-associated cases of tonsil and lymphoepithelial salivary gland cancers are part of the oral cavity tumours [44]. Among tumours located in the pharynx, nasopharyngeal carcinoma associated with EBV is often diagnosed [6]. Among stomach tumours some cases are associated with EBV [35]. And among the Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas EBV-associated cases can be also detected [2, 4, 5].

An analysis of the standardized incidence and mortality rates per 100,000 populations in 2015–2017 years revealed that no statistically significant differences between above rates for nasopharyngeal and oropharyngeal tumours and Hodgkin's lym-

phomas, were found for geographical regions compared. Statistically significant differences for both the incidence and mortality rates were obtained only for gastric cancer. However, given the fact that EBV-associated gastric cancers make up only a small percentage of tumours of this localization (up to 10%), their effect on morbidity and mortality rates can hardly be taken into consideration.

Discussion

Since the discovery of EBV in 1964, numerous studies have been devoted to its study. The interest in EBV has not waned due to the unique properties of the virus. EBV, which is present in virtually every human body without harming it, has a powerful transforming potential. Due to this ability EBV is aetiologically associated with a wide range of benign and malignant human neoplasms.

Molecular biological studies revealed that the transforming and oncogenic (under certain conditions) properties of EBV are due to the function of nine latent viral proteins, comprising six nuclear and three membrane proteins. Each of these proteins contributes to virus-associated carcinogenesis, but the transforming capacity of LMP1 prevails. It has also been found that LMP1 samples from various geographical regions are characterised by a wide variety of polymorphisms, upon which several LMP1 classifications have been based. Among these classification systems, the most widely used in the literature is the Edwards et al. classification [15]. However, in some geographical regions, LMP1 samples do not fit into the "Procrustean bed" of the above classification [18,

39] and additional efforts should be made to create a more universal classification system.

It is important to note that, according to our knowledge, not a single study has been devoted to the investigation of ancient EBV strains. As latency genes are characterised by a large nucleotide diversity, particularly LMP1, it cannot be ruled out that mutations that occurred in the virus genome over the course of evolution led to the formation of virus strains with new structures and properties. In this regard, it is important to compare so-called "modern" EBV strains with strains that circulated among our ancestors several centuries ago.

This study represents an attempt to clarify this issue. To this end, the genetic structures of LMP1 from representatives of ethnic Tatars and Slavs, possible carriers of ancient virus strains, were compared. The genetic succession of Kazan Tatars to their ancient predecessors is based on the following historical facts, "... after the conquest of the Volga Bulgaria in 1236 by the Mongols and a number of Bulgarian uprisings of 1237 and 1240, the Volga Bulgaria becomes a part of the Golden Horde. Later on, after the collapse of the Golden Horde and the emergence of a number of independent khanates in its place, the Kazan Khanate was formed on the Bulgarian lands. As a result of the consolidation of part of the Bulgars with another Kypchak and partly Finno-Ugric population of the region, the Kazan Tatars are formed" [1]. The ethnic Slavs in our study were represented by native inhabitants of Moscow. It should be noted, however, that Moscow was captured by the Mongol-Tatar troops in 1238 [3] and, consequently, there was mutual enrichment

Table 4. Standardized incidence and mortality rates for malignant tumors in Moscow and the R. Tatarstan per 100,000 populations in 2015–2017, among which EBV-associated cases are diagnosed (both sexes)

Region	Nasopharynx (C11*)	Oropharynx (C10)	Gastric cancer(C16)	Hodgkin's Lymphoma (C81)	Lip, oral cavity, pharynx (C00–14)
Incidence per 100,000 population					
Moscow	0.16 (0.03**)	0.94 (0.7)	10.67 (0.22)	1.64 (0.12)	–
R. Tatarstan	0.25 (0.075)	0.84 (0.11)	15.08 (0.48)	1.85 (0.22)	–
Statistically significant differences	No	No	Yes***	No	–
Mortality per 100,000 population					
Moscow	–	–	9.39 (0.19)	0.36 (0.5)	3.33 (0.12)
R. Tatarstan	–	–	11.22 (0.42)	0.38 (0.8)	4.09 (0.25)
Statistically significant differences	–	–	Yes	No	No

*C11 — The section in the book "Malignant neoplasms in Russia in 2015–2017 (incidence and mortality)", eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova; Moscow, 2018 [45]. **Standard error. ***Yes — The difference between the standardized incidence and mortality rates was statistically significant at P = 0.05 level.

of the gene pools of the Slavic and Tatar populations for centuries, as well as the exchange of EBV strains. Therefore, it is not surprising that among representatives of the Tatar and Slav ethnic groups studied, the EBV strains contained the same variants of LMP1. On the other hand, detection among ethnic Tatars, i.e. Tatars no less than in the third generation, unique LMP1 variant (TatK), which does not comply with Edwards et al. classification and was not found among LMP1 variants of representatives of ethnic Slavs, raises the question of the origin of the EBV strain carrying this variant of LMP1. It can be assumed that this viral strain is related either geographically to the territory of Tatarstan, or ethnically to the Tatar ethnic group. In the latter case, why it is impossible to assume that this EBV strain has an ancient origin? Further investigations involving increased number of ethnic Tatars, as well as a detailed analysis of the structure and molecular properties of the TatK LMP1 variant, will probably allow us to clarify the question of whether an an-

cient EBV strain exists indeed and whether it affects the morbidity and mortality rates of certain tumours in the Tatar population.

Acknowledgment

We are grateful to Dr. D.M. Maksimovich, a senior researcher of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumours, for statistical processing of our data.

Financing

Research is conducted under the auspices of the experimental governmental assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation and coordinated by the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Ministry of Health of the Russia, also it was financially supported by the grant of the Russian Science Foundation (project No 18-015-00505A).

References

1. Кривошеев Ю.В. Русь и монголы: исследование по истории Северо-Восточной Руси XII—XV вв. СПб.: Академия исследования культуры, 2015. 452 с. [Krivosheev Yu.V. Russia and the Mongols: a study on the history of North-Eastern Russia of the 12th–15th centuries. St. Petersburg: Academy of Culture Studies, 2015. 452 p. (In Russ.)]
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 236 с. [State of oncological care in Russia in 2017. Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertseva — branch of FGBU "NMIRTS" Ministry of Health of Russia, 2018. 236 p. (In Russ.)]
3. Хрусталев Д.Г. Русь и монгольское нашествие (20–50 гг. XIII в.). СПб.: Евразия, 2015. 416 с. [Khrustalev D.G. Rus and the Mongol invasion (20–50 years of the XIII century). SPb.: Eurasia, 2015. 416 p. (In Russ.)]
4. Alexander F.E., Jarrett R.F., Lawrence D., Armstrong A.A., Freeland J., Gokhale D.A., Kane E., Taylor G.M., Wright D.H., Cartwright R.A. Risk factors for Hodgkin's disease by Epstein–Barr virus (EBV) status: prior infection by EBV and other agents. *Br. J. Cancer*, 2000, vol. 82, pp. 1117–1121. doi: 10.1054/bjoc.1999.1049
5. Andreone P., Gramenzi A., Lorenzini S., Biselli M., Cursaro C., Pileri S., Bernardi M. Posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Arch. Intern. Med.*, 2003, vol. 163, pp. 1997–2004. doi: 10.1001/archinte.163.17.1997
6. Ayadi W., Khabir A., Hadhri-Guiga B., Fki L., Toumi N., Siala W., Charfi S., Fendri A., Makni H., Boudawara T., Ghorbel A., Gargouri A., Jlidi R., Gargouri R., Busson P., Drira M., Daoud J., Frika M., Hammami A., Karray-Hakim H. North African and Southeast Asian nasopharyngeal carcinomas: between the resemblance and the dissemblance. *Bull. Cancer*, 2010, vol. 97, pp. 475–482. doi: 10.1684/bdc.2010.1090
7. Balfour H.H. Jr., Holman C.J., Hokanson K.M., Lelonek M.M., Giesbrecht J.E., White D.R., Schmeling D.O., Webb C.H., Cavert W., Wang D.H., Brundage R.C. A prospective clinical study of Epstein–Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 192, pp. 1505–1512. doi: 10.1086/491740
8. Blake S.M., Eliopoulos A.G., Dawson C.W., Young L.S. The transmembrane domains of the EBV-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) variant CAO regulate enhanced signalling activity. *Virology*, 2001, vol. 282, pp. 278–287. doi: 10.1006/viro.2001.0828
9. Botezatu I.V., Kondratova V.N., Shelepopov V.P., Lichtenstein A.V. DNA melting analysis: application of the “open tube” format for detection of mutant KRAS. *Anal. Biochem.*, 2011, vol. 419, pp. 302–308. doi: 10.1016/j.ab.2011.08.015
10. Cederberg L.E., Rabinovitch M.D., Grimm-Geris J.M., Schmeling D.O., Filtz E.A., Condon L.M., Balfour H.H.Jr. Epstein–Barr virus DNA in parental oral secretions: a potential source of infection for their young children. *Clin. Infect. Dis.*, 2018. doi: 10.1093/cid/ciy464
11. Chang C.M., Yu K.J., Mbulaiteye S.M., Hildesheim A., Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein–Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. *Virus Res.*, 2009, vol. 143, pp. 209–221. doi: 10.1016/j.virusres.2009.07.005
12. Dawson D.R., Wang C., Danaher R.J., Lin Y., Kryscio R.J., Jacob R.J., Miller C.S. Salivary levels of Epstein–Barr virus DNA correlate with subgingival levels, not severity of periodontitis. *Oral Dis.*, 2009, vol. 15, pp. 554–559. doi: 10.1111/j.1601-0825.2009.01585.x
13. Dirmeier U., Neuhiel B., Kilger E., Reisbach G., Sandberg M.L., Hammerschmidt W. Latent membrane protein 1 is critical for efficient growth transformation of human B cells by epstein–barr virus. *Cancer Res.*, 2003, vol. 63, pp. 2982–2989.
14. Dunmire S.K., Hogquist K.A., Balfour H.H. Infectious Mononucleosis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2015, vol. 390, pp. 211–240. doi: 10.1038/cti.2015.1
15. Edwards R.H., Seillier-Moiseiwitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology*, 1999, vol. 261, pp. 79–95. doi: 10.1006/viro.1999.9855

16. Farrell P.J. Signal transduction from the Epstein–Barr virus LMP-1 transforming protein. *Trends Microbiol.*, 1998, vol. 6, pp. 175–177.
17. Feederle R., Klinke O., Kutikhin A., Poirey R., Tsai M.H., Delecluse H.J. Epstein–Barr virus: from the detection of sequence polymorphisms to the recognition of viral types. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2015, vol. 390, pp. 119–148. doi: 10.1007/978-3-319-22822-8_7
18. Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. *PLoS One*, 2017, vol. 12: e0174221. doi: 10.1371/journal.pone.0174221
19. Gerber P., Walsh J.H., Rosenblum E.N., Purcell R.H. Association of EB-virus infection with the post-perfusion syndrome. *Lancet*, 1969, vol. 1, pp. 593–595.
20. Gurtsevitch V.E., Iakovleva L.S., Shcherbak L.N., Goncharova E.V., Smirnova K.V., Diduk S.V., Kondratova V.N., Maksimovich D.M., Lichtenstein A.V., Seniuta N.B. The LMP1 oncogene sequence variations in patients with oral tumours associated or not associated with the Epstein–Barr. *Mol. Biol.*, 2013, vol. 47, pp. 987–995.
21. Hadinoto V., Shapiro M., Sun C.C., Thorley-Lawson D.A. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog.*, 2009, vol. 5: e1000496. doi: 10.1371/journal.ppat.1000496
22. Hahn P., Novikova E., Scherback L., Janik C., Pavlish O., Arkhipov V., Nicholls J., Muller-Lantzsch N., Gurtsevitch V., Grasser F.A. The LMP1 gene isolated from Russian nasopharyngeal carcinoma has no 30-bp deletion. *Int. J. Cancer.*, 2001, vol. 91, pp. 815–821.
23. Hu L., Troyanovsky B., Zhang X., Trivedi P., Ernberg I., Klein G. Differences in the immunogenicity of latent membrane protein 1 (LMP1) encoded by Epstein–Barr virus genomes derived from LMP1-positive and -negative nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.*, 2000, vol. 60, pp. 5589–5593.
24. Hu L.F., Chen F., Zheng X., Ernberg I., Cao S.L., Christensson B., Klein G., Winberg G. Clonability and tumorigenicity of human epithelial cells expressing the EBV encoded membrane protein LMP1. *Oncogene*, 1993, vol. 8, pp. 1575–1583.
25. Huen D.S., Henderson S.A., Croom-Carter D., Rowe M. The Epstein–Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF-kappa B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain. *Oncogene*, 1995, vol. 10, pp. 549–560.
26. Kanai K., Satoh Y., Saiki Y., Ohtani H., Sairenji T. Difference of Epstein–Barr virus isolates from Japanese patients and African Burkitt’s lymphoma cell lines based on the sequence of latent membrane protein 1. *Virus Genes*, 2007, vol. 34, pp. 55–61. doi: 10.1007/s11262-006-0010-y
27. Kaye K.M., Izumi K.M., Kieff E. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, pp. 9150–9154.
28. Kulwichit W., Edwards R.H., Davenport E.M., Baskar J.F., Godfrey V., Raab-Traub N. Expression of the Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, pp. 11963–11968.
29. Laichalk L.L., Hochberg D., Babcock G.J., Freeman R.B., Thorley-Lawson D.A. The dispersal of mucosal memory B cells: evidence from persistent EBV infection. *Immunity*, 2002, vol. 16, pp. 745–754.
30. Lawrence J.B., Villnave C.A., Singer R.H. Sensitive, high-resolution chromatin and chromosome mapping in situ: presence and orientation of two closely integrated copies of EBV in a lymphoma line. *Cell*, 1988, vol. 52, pp. 51–61.
31. Li H.P., Chang Y.S. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1: structure and functions. *J. Biomed. Sci.*, 2003, vol. 10, pp. 490–504. doi: 10.1159/000072376
32. Lo Y.M., Chan L.Y., Lo K.W., Leung S.F., Zhang J., Chan A.T., Lee J.C., Hjelm N.M., Johnson P.J., Huang D.P. Quantitative analysis of cell-free Epstein–Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.*, 1999, vol. 59, pp. 1188–1191.
33. Miller W.E., Edwards R.H., Walling D.M., Raab-Traub N. Sequence variation in the Epstein–Barr virus latent membrane protein 1. *J. Gen. Virol.*, 1994, vol. 75(pt. 10), pp. 2729–2740. doi: 10.1099/0022-1317-75-10-2729
34. Moorthy R.K., Thorley-Lawson D.A. All three domains of the Epstein–Barr virus-encoded latent membrane protein LMP-1 are required for transformation of rat-1 fibroblasts. *J. Virol.*, 1993, vol. 67, pp. 1638–1646.
35. Namikawa T., Fujisawa K., Munekage E., Munekage M., Oki Y., Maeda H., Kitagawa H., Ueta H., Kobayashi M., Hanazaki K. Epstein–Barr virus-associated early gastric carcinoma with lymphoid stroma, accompanied with lymph node metastasis. *Mol. Clin. Oncol.*, 2018, vol. 8, pp. 561–566. doi: 10.3892/mco.2018.1567
36. Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: geographic or disease-specific variants? *J. Med. Virol.*, 2017, vol. 89, pp. 373–387. doi: 10.1002/jmv.24633
37. Rickinson A.B., Long H.M., Palendira U., Munz C., Hislop A.D. Cellular immune controls over Epstein–Barr virus infection: new lessons from the clinic and the laboratory. *Trends Immunol.*, 2014, vol. 35, pp. 159–169. doi: 10.1016/j.it.2014.01.003
38. Rickinson A.B., Moss D.J. Human cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein–Barr virus infection. *Annu. Rev. Immunol.*, 1997, vol. 15, pp. 405–431. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.405
39. Saechan V., Settheetham-Ishida W., Kimura R., Tiwawech D., Mitarnun W., Ishida T. Epstein–Barr virus strains defined by the latent membrane protein 1 sequence characterize Thai ethnic groups. *J. Gen. Virol.*, 2010, vol. 91, pp. 2054–2061. doi: 10.1099/vir.0.021105-0
40. Santpere G., Darre F., Blanco S., Alcami A., Viloslada P., Mar A.M., Navarro A. Genome-wide analysis of wild-type Epstein–Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 Genomes Project. *Genome Biol. Evol.*, 2014, vol. 6, pp. 846–860. doi: 10.1093/gbe/evu054
41. Senyuta N., Yakovleva L., Goncharova E., Scherback L., Diduk S., Smirnova K., Maksimovich D., Gurtsevitch V. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 polymorphism in nasopharyngeal carcinoma and other oral cavity tumors in Russia. *J. Med. Virol.*, 2014, vol. 86, pp. 290–300. doi: 10.1002/jmv.23729
42. Tzellos S., Farrell P.J. Epstein–Barr virus sequence variation-biology and disease. *Pathogens*, 2012, vol. 1, pp. 156–174. doi: 10.3390/pathogens1020156

43. Weiss L.M., Gaffey M.J., Chen Y.Y., Frierson H.F.Jr. Frequency of Epstein–Barr viral DNA in “Western” sinonasal and Waldeyer’s ring non-Hodgkin’s lymphomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1992, vol. 16, pp. 156–162.
44. Wu L.Y., Cheng J., Lu Y., Zhou Z.Y., Saku T. Epstein–Barr virus infection in benign lymphoepithelial lesions with malignant transformation of salivary glands. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2004, vol. 39, pp. 291–293.
45. Young L.S., Rickinson A.B. Epstein–Barr virus: 40 years on. *Nat. Rev. Cancer*, 2004, vol. 4, pp. 757–768. doi: 10.1038/nrc1452

Авторы:

Гурцевич В.Э., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Смирнова К.В., к.б.н., руководитель лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии Национального медицинского университета им. Пирогова МЗ РФ, Москва, Россия;
Ботезату И.В., к.б.н., научный сотрудник группы биохимии опухолей ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Душенькина Т.Е., лаборант-исследователь лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Лубенская А.К., лаборант-исследователь лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Дубар Э., лаборант-исследователь лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Сенюта Н.Б., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Лихтенштейн А.В., д.б.н., ведущий научный сотрудник группы биохимии опухолей ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;
Петров С.В., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории иммуногистохимической диагностики опухолей Республиканского клинического онкологического диспансера МЗ Республики Татарстан, г. Казань, Россия.

Поступила в редакцию 11.03.2019
 Отправлена на доработку 19.06.2019
 Принята к печати 03.12.2019

Authors:

Gurtsevitch V.E., PhD, MD (Medicine), Professor, Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Smirnova K.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation; Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Pirogov National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;
Botezatu I.V., PhD (Biology), Researcher, Tumor Biochemistry Group, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Dushenkina T.E., Investigator (Biologist), Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Lubenskaya A.K., Investigator (Biologist), Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Dubar E., Investigator (Biologist), Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Senyuta N.B., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Lichtenstein A.V., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Tumor Biochemistry Group, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;
Petrov S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Immunohistochemical Diagnosis of Tumors, Republican Clinical Oncological Dispensary, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation.

Received 11.03.2019
 Revision received 19.06.2019
 Accepted 03.12.2019

ЗНАЧЕНИЯ МИКРОБНОЙ ФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ В РАЗВИТИИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

И.И. Абабий¹, Л.А. Данилов¹, М.К. Манюк¹, П.И. Абабий¹, С.С. Гинда²,
М.Г. Трофимчук¹, М.П. Костинов^{3,4}, А.В. Поддубиков³

¹ Государственный медицинский и фармацевтический университет «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова

² Институт фтизиопульмонологии «Кирилл Драганиук», Кишинев, Молдова

³ ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия

Резюме. В настоящее время отмечен рост полиэтиологических воспалений слизистых верхних дыхательных путей с изменениями представителей резидентной и транзиторной микробной флоры, во многих случаях с увеличенной устойчивостью к антибиотикам. Основную роль в развитии воспалительного процесса в кольце Пирогова–Вальдейера играют условно патогенные микроорганизмы. Воспалительный процесс в лимфатической тонзиллярной ткани приводит к развитию системных осложнений в организме. Борьба с острыми и хроническими инфекциями верхних дыхательных путей, является главной задачей детской оториноларингологии, так как последствием этих инфекций являются осложнения со стороны сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и опорно-двигательного аппарата. Результаты исследований, посвященные данной проблеме весьма противоречивы, в связи с чем возникла необходимость выполнения данной работы на территории Молдовы, относящейся к смешанным типам климатических условий. Целью работы являлось изучение роли микробного фактора в этиопатогенезе хронического тонзиллита у детей. Бактериологические исследования микрофлоры поверхности небных миндалин выполнены у 608 детей из 5 групп: I группа – 333 ребенка с компенсированным хроническим тонзиллитом; II группа – 87 детей с декомпенсированным хроническим тонзиллитом; III группа – 91 ребенок с острыми инфекциями верхних дыхательных путей (группа сравнения); IV группа – 48 детей после антибиотикотерапии при лечении острых инфекций верхних дыхательных путей; V группа – 49 практически здоровых детей (контрольная). При острых воспалительных процессах в миндалинах и декомпенсации функции защиты лимфатического глоточного кольца β -гемолитический стрептококк определяли в 17,4% случаев против 3,5% в группе контроля, при высокой чувствительности практически ко всем группам антибиотиков. *Streptococcus pneumoniae*, выделявшийся во всех группах исследования с частотой 4,8–21,7%, в том числе у здоровых (14%), характеризовался сниженной чувствительностью к действию антибиотиков. Полученные результаты свидетельствуют о том, что часто болеющие дети с острыми и хроническими инфекциями верхних дыхательных путей формируют группу риска развития соматических

Адрес для переписки:

Костинов Михаил Петрович
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5А,
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 (495) 917-41-49.
E-mail: monolit.96@mail.ru

Contacts:

Mikhail P. Kostinov
105064, Russian Federation, Moscow, Malyi Kazennyi lane, 5A,
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera.
Phone: +7 (495) 917-41-49.
E-mail: monolit.96@mail.ru

Библиографическое описание:

Абабий И.И., Данилов Л.А., Манюк М.К., Абабий П.И., Гинда С.С.,
Трофимчук М.Г., Костинов М.П., Поддубиков А.В. Значения микробной
флоры ротовоглотки в развитии острых и хронических заболеваний
верхних дыхательных путей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2.
С. 359–367. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-809

Citation:

Ababii I.I., Danilov L.A., Maniuc M.K., Ababii P.I., Ghinda S.S., Trofimciuc M.G.,
Kostinov M.P., Poddubikov A.V. A role of oropharyngeal microbiota
in developing acute and chronic diseases of the upper respiratory tract //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020,
vol. 10, no. 2, pp. 359–367. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-809

заболеваний. Высокая частота выявления *Streptococcus pneumoniae* указывает на необходимость иммунопрофилактики, применения терапевтической вакцинации как современного, комплексного подхода при лечении данного контингента детей.

Ключевые слова: тонзиллит, микробная флора, чувствительность к антибиотикам, стрептококк, пневмококк, вакцинация.

A ROLE OF OROPHARYNGEAL MICROBIOTA IN DEVELOPING ACUTE AND CHRONIC DISEASES OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT

Ababii I.I.^a, Danilov L.A.^a, Maniuc M.K.^a, Ababii P.I.^a, Ghinda S.S.^b, Trofimciuc M.G.^a, Kostinov M.P.^{c,d}, Poddubikov A.V.^c

^a State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu" Chisinau, Republic of Moldova

^b "Chiril Draganiuc", Chisinau, Republic of Moldova

^c I.Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^d Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. Currently, a rise in incidence of polyethological inflammation of the upper respiratory tract mucosa paralleled by altered resident and transient microbiota displaying in many cases increased antibiotic resistance has been noted. Opportunistic microbes play a major role in developing inflammatory process in Pirogov–Waldeyer's ring. An inflammatory process occurring in the tonsillar lymphatic tissue results in host systemic complications. Fighting against acute and chronic infections of the upper respiratory tract holds the main task in pediatric otorhinolaryngology, as they can consequently elicit the cardiovascular, genitourinary and musculoskeletal complications. The results of studies examining this issue remain very contradictory, which accounted for a need to conduct our study on the territory of Moldova featured with mixed climatic conditions. Here, we wanted to study a role of microbial factor in etiopathogenesis of chronic tonsillitis in children. Bacteriological microbiota data for superficial palatine tonsils were obtained from 608 children subdivided into 5 groups: group I – 333 children with compensated chronic tonsillitis; group II – 87 children with decompensated chronic tonsillitis; group III – 91 children with acute upper respiratory tract infections (comparison group); group IV – 48 children with acute upper respiratory tract infections treated with antibiotic therapy; group V – 49 apparently healthy children (control group). It was found that β-hemolytic streptococcus exerting high sensitivity to virtually all antibiotics groups was detected in 17.4% of children with acute tonsilar inflammatory processes and decompensated defense in the lymphatic pharyngeal ring compared to 3.5% in control group. *Streptococcus pneumoniae* was isolated in all study groups ranging within 4.8–21.7%, including 14% in apparently healthy children characterized by reduced antibiotics sensitivity. The data obtained suggest that sickly children with acute and chronic upper respiratory tract infections constitute a risk group for developing somatic diseases. The high incidence of *Streptococcus pneumoniae* indicates a need for performing immunoprophylaxis, use of therapeutic vaccination as a up-to-date, combined approach in treatment of such pediatric cohort.

Key words: tonsillitis, microbiota, antibiotic sensitivity, streptococcus, pneumococcus, vaccination.

Введение

В настоящее время отмечен рост полиэтиологических воспалений слизистых верхних дыхательных путей с изменениями представителей резидентной и транзиторной микробной флоры, во многих случаях с увеличенной устойчивостью к антибиотикам. Небные миндалины — основной представитель фолликулярного аппарата лимфоглоточного кольца Пирогова–Вальдайера — функционально адаптируются и приспособливаются к новым условиям. Основным этиологическим фактором в развитии воспалительного процесса лимфоглоточного кольца, на фоне задержки созревания иммунной системы с нарушением процессов образования интерферона, являются условно-патогенные микроорганизмы. Следовательно, существует довольно сложная цепочка патологических процессов в развитии

острых и хронических заболеваний лимфоэпителиальной системы глотки [5, 12, 25].

Борьба с острыми и хроническими инфекциями верхних дыхательных путей является главной задачей детской оториноларингологии, так как последствиями этих инфекций являются осложнения со стороны сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и опорно-двигательного аппарата. У трети пациентов хронический тонзиллит ассоциируется с различными симптомами интоксикации: усталостью, потерей аппетита, субфебрилитетом, болями в области сердца и суставов, которые приводят к снижению трудоспособности и инвалидизации.

Китайские ученые, при исследовании микробной флоры у 1449 пациентов с хроническим тонзиллитом, в возрасте от 3 до 60 лет, выявили β-гемолитический стрептококк группы А в 3,0% случаях [28].

Klug T.E. в комплексном исследовании патогенности микробной флоры миндалин получил следующие данные: *Fusobacterium necrophorum* определяли в 22% случаев у больных с хроническим тонзиллитом и у 30% здоровых пациентов; β-гемолитический стрептококк группы А был выявлен в 7,5%, золотистый стафилококк — в 56,3%, гемофильтная палочка — в 6,2% случаев в группе из 80 пациентов после тонзилэктомии [26].

Roberts A.L. из США показал, что β-гемолитический стрептококк группы А при иммунофлюоресцентном анализе присутствует у 37% детей после тонзилэктомии по причине гиперторфии небных миндалин, и у 33% после тонзилэктомии по причине хронического тонзилита [27].

При изучении бактериальной флоры верхних дыхательных путей у 81 пациента с острым фарингитонзиллитом авторы из Бразилии обнаружили β-гемолитический стрептококк группы А в 40,7% случаев [23].

Арефьева Н.А. исследовала бактериальную флору небных миндалин у 120 пациентов после вскрытия паратонзиллярного абсцесса и обнаружила следующие микроорганизмы: *S. pyogenes* — 7,5%, *S. viridans* — 14,1%, *Streptococcus* spp. — 11%, *S. aureus* — 11,6%, *S. epidermidis* — 12,5%, *Staphylococcus* spp. — 6,6%, *E. coli* — 8,3%, *C. albicans* — 4,2%. Было показано, что стрептококк играет важную роль в декомпенсации воспалительного процесса в небной миндалине [4].

Азаматова Е.С. исследовала микробную флору у 133 детей с хроническим декомпенсированным тонзиллитом без каких-либо осложнений. В 40% случаев был обнаружен *S. aureus*, у 7% — *S. pneumoniae*, смешанная flora *S. pyogenes* и *S. salivarius* — в 30% случаев, *S. aureus* и *S. pyogenes* — в 17% случаев. *C. albicans* идентифицировали у 6% обследованных детей [1].

Крюков А.И. показал, что основным этиологическим фактором в развитии хронического тонзилита и его осложнений у детей остается β-гемолитический стрептококк группы А, чаще всего у детей 5–10 лет. Присутствие β-гемолитического стрептококка группы А определяли иммуноферментным анализом с оценкой антистрептококковых антител. Наличие β-гемолитического стрептококка группы А было выявлено у 46,5% пациентов. Для предотвращения отдаленных осложнений, этим пациентам предлагалось назначение курса антибиотикотерапии [11].

Исследование, проведенное в США, показало присутствие β-гемолитического стрепто-

кокка группы А в 20,4% случаев у детей с острым фарингитонзиллитом и у 12% здоровых детей [24]. Персистирование β-гемолитического стрептококка группы А у большого количества здоровых детей без клинических проявлений свидетельствует о том, что состояние здоровья человека является результатом связи между наследственными и конституционными особенностями организма в соответствующей окружающей среде.

Азнабаева Л.Ф. выявила, что в случае паратонзиллярного абсцесса в небных миндалинах у пациентов с хроническим тонзиллитом в 70% случаев был обнаружен вирус Эпштейна–Барр, в 32,2% — стрептококки и в 30,9% — стафилококки. Авторами было высказано предположение, что с увеличением процента присутствия стрептококка в лимфоидной ткани миндалин увеличивается процент осложнений [2].

Кроме изучения видового состава микробной флоры при хроническом тонзиллите, при стрептококковой инфекции необходимо исследовать уровень антистрептолизина-О представляющего собой антитела к антигену β-гемолитического стрептококка. Некоторые авторы считают, что увеличение уровня антистрептолизина-О подтверждает присутствие хронической стрептококковой инфекции, а отсутствие β-гемолитического стрептококка в мазках с небных миндалин при бактериологическом исследовании свидетельствует о возможности внутриклеточного нахождения антигена [13].

Таким образом, данные о микробиоценозе верхних дыхательных путей при острых и хронических воспалительных процессах в современной научной литературе, свидетельствуют о его вариабельности, как для детей, так и для взрослых. Этот факт указывает на необходимость анализа микробной флоры, присутствующей в верхних дыхательных путях в различных географических зонах, так как состояние здоровья человека формируется в результате сложного взаимодействия между особенностями конституции человека и окружающей среды, общества, в котором он развивается.

Цель исследования: определение видового состава бактериальной флоры при хроническом тонзиллите у детей.

Известно, что в состав постоянной микробной ротоглотки входят следующие группы микроорганизмов: бактерии, спирохеты, грибы, вирусы, простейшие. Соотношение анаэробных и аэробных бактерий составляет 10:1. Вместе с тем в нашем исследовании мы ограничились изучением пейзажа аэробных условно патогенных бактерий.

Материалы и методы

Научно-исследовательский проект и протокол исследования были одобрены Комитетом по научной этике Государственного медицинского и фармацевтического университета им. Н. Тестемицану Республики Молдова (протокол № 5 от 12.19.2013). Пациенты были включены в исследование после получения письменного информированного согласия родителей.

Бактериологическое исследование микрофлоры с поверхности небных миндалин было выполнено у 608 детей в возрасте от 2 до 18 лет из сельской и городской местности, которые находились на амбулаторном лечении в оториноларингологическом консультативном кабинете Детской республиканской клинической больницы им. Е. Коцага г. Кишинева (Молдова).

Пациенты были разделены на 5 групп: 1 группа — 333 ребенка с компенсированным хроническим тонзиллитом; 2 группа — 87 детей с декомпенсированным хроническим тонзиллитом. Группы сравнения: 3 группа — 91 ребенок с острыми инфекциями верхних дыхательных путей (фарингит и ринофарингит); 4 группа — 48 детей после лечения острых инфекций верхних дыхательных путей с применением антибиотикотерапии; 5 группа — 49 практически здоровых детей.

При проведении клинического исследования была использована классификация хронического тонзилита, предложенная академиком И.Б. Солдатовым (1975).

Забор материала производили утром натощак до начала лечения в 1, 2, 3 группах, в 4 группе — по окончании курса антибактериальной терапии (через 8–10 дней от начала заболевания), в 5 группе — утром, натощак.

Бактериологическое исследование выполняли классическим методом после консультации оториноларинголога, исследование включало посев отделяемого с поверхности небных миндалин на микрофлору с последующим выделением чистой культуры микроорганизмов, идентификацией и тестированием на чувствительность к антибиотикам в медицинской лаборатории «Sunevo» Департамента микробиологии.

Чувствительность к антибиотикам определяли с применением диско-диффузионного метода Кирби–Бауэра. Интерпретацию антибиотикограмм выполняли в соответствии со стандартом CLSI 2013 (NCCLS) — «Clinical and Laboratory Standards Institute». В исследовании использовали питательные среды и диски

для антибиотикограмм производства фирмы OXOID (Англия).

Для идентификации бета-гемолитических стрептококков был использован диагностический набор для агглютинации «OXOID-test» с латексными частицами, связанными со специфическими антителами к стрептококкам групп A, B, C, D, E, F, G.

Все культуры, отнесенные к стрептококкам группы A были протестираны с использованием набора O.B.I.SPYR для подтверждения вида *Streptococcus pyogenes*.

Для идентификации *Staphylococcus aureus* был использован набор «OXOID Staphyttest plus latex agglutination».

Для идентификации грамотрицательных *Enterobacteriaceae* и *Nonenterobacteriaceae* был использован набор «ApiE».

Оценка образцов была произведена путем количественного подсчета микроорганизмов, учитывали количество выросших колоний определенного типа, умножали на степень разведения и коэффициент, обратный количеству посевенного материала. Результаты представлены в качественном выражении (+, ++, +++, ++++) [12].

Статистические методы: альтернативное варьирование, критерий χ^2 Пирсона.

Результаты

В мазках с поверхности небных миндалин у детей с декомпенсированным хроническим тонзиллитом (группа 1) преобладал *S. aureus* — 59,7% случаев. В порядке убывания следовали *Streptococcus β-haemolyticus* группы A — 8,1%, *Streptococcus β-haemolyticus* группы C — 6,5%, *S. pneumoniae* — 4,8%, *Enterococcus* spp. — 3,2% и *Neisseria* spp. — 1,6%. У трех пациентов *S. aureus* был обнаружен вместе со *Streptococcus β-haemolyticus* группы C и у двух — со *Streptococcus β-haemolyticus* группы A.

В мазках с поверхности миндалин детей 2 группы (с компенсированным хроническим тонзиллитом) преобладал *S. aureus* — 41,4% случаев. Далее в порядке убывания следовали: *S. pneumoniae* — 12,1%, *Neisseria* spp. — 7,4%, *Enterococcus* spp. — 5,1%, *Streptococcus β-haemolyticus* группы A — 4,3%, *Streptococcus β-haemolyticus* группы C — 2,3% и *Pseudomonas aeruginosa* — 2%. Микробные ассоциации *S. aureus* с другими микроорганизмами у детей с хроническим компенсированным тонзиллитом были следующими: в 10 — случаях *Streptococcus β-haemolyticus* группы A (11,5%); в 8 — *S. pneumoniae* (9,2%); в 5 — *Enterococcus* spp. (5,7%); в 4 — *Streptococcus β-haemolyticus* группы C (4,6%).

Анализ действия различных групп антибиотиков на бактерии, идентифицированные в группах исследования 1 и 2, установил, что цефалоспорины разных поколений (цефатааксим, цефазолин, цефалексин, цефаклор, цефуроксим, цефтриаксон) *in vitro* являются высокоэффективными (чувствительность 90–95%). Чувствительность микрофлоры к полусинтетическим пенициллинам составила: для пенициллина — 38%, для оксациллина — 85%, для ампициллина — 37%, для амоксициллина — 70%. Комбинация амоксициллин + клавулановая кислота проявляла antimикробное действие в 95% случаев. Чувствительность к макролидам составила 70% для эритромицина, 83% для кларитромицина и 78% для азитромицина.

В пробах, отобранных у детей с острыми инфекциями верхних дыхательных путей (3 группа), преобладал *S. aureus* — 38,8%. В 12,2% случаев была обнаружена *Neisseria* spp.; *S. pneumoniae* — в 10,2%, *Streptococcus β-haemolyticus* группы А — в 9,2%, *Streptococcus*

β-haemolyticus группы С — в 5,1%, *Streptococcus β-haemolyticus* группы G — в 3,1% случаев.

В микрофлоре с поверхности небных миндалин у детей, получавших антибиотики (4 группа), также преобладал *S. aureus*, но с меньшей частотой встречаемости, чем в первых трех группах (30,4%). В 21,7% случаев присутствовал *S. pneumoniae*, в 6,5% — *Escherichia coli*, в 4,3% — *Streptococcus β-haemolyticus* группы А и *Enterococcus* spp., 2,2% — *Streptococcus β-haemolyticus* группы С и *Neisseria* spp. У 21,7% детей значимого роста условно патогенной микрофлоры обнаружено не было.

В группе практически здоровых детей (5 группа) на поверхности небных миндалин преобладал *S. aureus* — 57,9% случаев, и далее в порядке убывания: *S. pneumoniae* — 14,0% и *Neisseria* spp. — 10,5%. *Streptococcus β-haemolyticus* группы А был обнаружен в 3,5% случаев, *E. coli* — в 3,5%. *Seratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae* были выявлены у 1,8% детей. В 3,5% случаев микробная flora обнаружена не была.

Таблица 1. Активность микробных агентов при посеве с небных миндалин

Table 1. The activity of microbial agents in the seeding with the tonsils

Степень активности Degree of activity	Группа 1 Group 1 n = 333	Группа 2 Group 2 n = 88	Группа 3 Group 3 n = 91	Группа 4 Group 4 n = 48	Группа 5 Group 5 n = 49
++++	40,7%	39,6%	21,7%	25%	32,2%
+++	35,1%	23,1%	33,6%	37,5%	37,3%
++	8,3%	14,4%	15,84%	8,3%	28,5%
+	8,3%	9,9%	18,8%	4,1%	3,4%

Примечание. ++++ — $p_{1-3} < 0,001$; $p_{1-4} < 0,05$; $p_{2-3} < 0,01$; +++ — $p_{1-2} < 0,001$; ++ — $p_{1-5} < 0,01$; $p_{4-5} < 0,01$; + $p_{1-3} < 0,05$; $p_{3-4} < 0,01$; $p_{3-5} < 0,00$.

Note. — $p_{1-3} < 0,001$; $p_{1-4} < 0,05$; $p_{2-3} < 0,01$; +++ — $p_{1-2} < 0,001$; ++ — $p_{1-5} < 0,01$; $p_{4-5} < 0,01$; + $p_{1-3} < 0,05$; $p_{3-4} < 0,01$; $p_{3-5} < 0,00$.

Таблица 2. Антибиотикорезистентность штаммов *S. pneumoniae* (n = 43)

Table 2. Antibiotic resistance of *S. pneumoniae* strains (n = 43)

Антибиотики Antibiotics	Чувствительные Sensitive	Умеренно резистентные Moderately resistant	Резистентные Resistant
Амоксициллин	80	16	4
Пенициллин	82	18	—
Цефотаксим	84	15	1
Цефуроксим	90	8	2
Эритромицин	14	8	78
Кларитромицин	13	10	77
Ванкомицин	73	19	8
Офлоксацин	1	1	1

Таблица 3. Число случаев обнаружения бактерий в различных участках глотки у детей с хроническим компенсированным тонзиллитом (n = 34)

Table 3. The number of cases of detection of bacteria in different parts of the pharynx in children with chronic compensated tonsillitis (n = 34)

Обнаруженные микроорганизмы Detected microorganisms	Поверхность небных миндалин The surface of the tonsils	Лакуны миндалин Lacunae tonsils'	Носоглотка Nasopharynx
<i>S. aureus</i>	15	16	9
<i>S. epidermidis</i>	–	1	–
<i>S. pneumoniae</i>	13	11	9
<i>E. coli</i>	2	3	1
<i>Enterococcus</i> spp.	12	12	11
<i>Neisseria</i> spp.	–	–	3
<i>H. influenzae</i>	1	1	1
<i>Streptococcus β-haemolyticus</i>	1	1	1

Примечание. $\chi^2 1-2 < \chi^2_{95}$; $\chi^2 1-3 < \chi^2_{95}$; $\chi^2 2-3 < \chi^2_{95}$.

Note. $\chi^2 1-2 < \chi^2_{95}$; $\chi^2 1-3 < \chi^2_{95}$; $\chi^2 2-3 < \chi^2_{95}$.

Анализ антибиотикорезистентности выделенных культур в группах 3–5 указывает на отсутствие значимых отличий от результатов, полученных в группах 1–2, с наибольшей чувствительностью к группе цефалоспоринов (87–95%).

Активность микробных агентов, то есть количество колониеобразующих единиц (КОЕ) обнаруженных при посеве мазков, взятых у этих детей оценивали в 39,6% случаев на 4+, в 23,1% случаев — на 3+, в 14,4% случаев — на 2+ и в 9,9% случаев на 1+.

Степень активности микробных агентов, обнаруженных при первичном посеве мазков с небных миндалинах отражены в таблице 1.

Анализ антибиотикочувствительности *Streptococcus β-haemolyticus* группы А в первых трех группах показал, что он был чувствителен ко всем исследованным группам антибиотиков. Этот патоген проявляет максимальную активность у детей с декомпенсированным хроническим тонзиллитом.

Структура устойчивости циркулирующих штаммов *S. pneumoniae* к антибиотикам указывает на высокую чувствительность к пенициллину (82%), амоксициллину (80%), цефалоспоринам (84–90%), ванкомицину 95,8. Уровень устойчивости к препаратам группы макролидов составил 76,5–77,8% (табл. 2).

При анализе микрофлоры различных участков глотки (поверхность небных миндалин, лакуны миндалин, слизистая оболочка носоглотки) у 34 детей с хроническим компенсированным тонзиллитом (табл. 3). Примерно

в равных пропорциях (без статистической разницы) встречались следующие микроорганизмы: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Streptococcus β-haemolyticus*, *Haemophilus influenzae*.

Обсуждение

Тенденция увеличения числа рецидивирующих и хронических форм патологии верхних дыхательных путей у детей отражает множество факторов биологической и социальной сферы, влияющих на показатели здоровья населения. Хронический тонзиллит является одним из самых распространенных заболеваний тяжело поддающихся лечению, о чем свидетельствуют многочисленные научные работы отечественных и зарубежных специалистов, рекомендации профессиональных ассоциаций. Между тем клиническая симптоматика хронических воспалительных поражений носоглотки во многом определяется персистирующей микрофлорой и средой обитания макроорганизма. Результаты исследований, посвященные данной проблеме, весьма противоречивы, в связи с чем возникла необходимость проведения данной работы на территории Молдовы, имеющей смешанный тип климатических условий.

Анализ микробной флоры небных миндалин показал, что во всех 5 группах преобладал *S. aureus*. Эти данные совпадают с результатами большинства исследований, однако по нашим результатам и по данным некоторых

других авторов [22], значительной роли данного агента в декомпенсации воспалительного процесса не выявлено. Е. Карпова при исследовании 84 пациентов с хроническим тонзиллитом, выявила у 85,6% на слизистой глотки ассоциации между стафилококками и стрептококками. Из лакун небных миндалин в 52,5% случаев высеивался — *S. aureus*, в 14,9% — *S. epidermidis*, в 18,2% — *Streptococcus β-haemolyticus*, другая кокковая микрофлора — 7%, грибы рода *Candida* — в 7,4% случаях [10].

По нашим данным при острых воспалительных процессах в миндалинах (декомпенсированный хронический тонзиллит) выявлено влияние β-гемолитического стрептококка с достаточно высокой активностью в ассоциации с *S. aureus* или без него. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [21].

Результаты исследования показали, что у значительного числа пациентов из всех групп исследования присутствует *S. pneumoniae*, который отличается относительной устойчивостью к действию антибиотиков.

Полученные данные демонстрируют, что на слизистой лимфоглоточного кольца у здоровых детей практически всегда присутствует бактериальная условно патогенная флора, которая, в свою очередь, весьма активна.

Выявленные на поверхности небных миндалин бактерии в изученных группах детей в большинстве случаев характеризовались достаточной чувствительностью к цефалоспоринам и амоксициллину в комбинации с клавулановой кислотой, были менее чувствительны к макролидам и полусинтетическим пенициллином.

β-гемолитический стрептококк группы А имел достаточную чувствительность к цефалоспоринам разных поколений, к амоксициллину в сочетании с клавулановой кислотой, а также к полусинтетическим пенициллином.

Наличие одного и того же вида микроорганизмов или комбинированной бактериальной флоры в разных областях глотки указывает на единство хронического воспалительного процесса лимфоэпителиальной системы у детей.

Заключение

В ротоглотке человека постоянно персистируют различные виды микроорганизмов, которые в большинстве случаев обеспечивают биологический симбиоз, необходимый для поддержания необходимого баланса между организмом и окружающей средой. Проникновение дополнительных микроорганизмов (чаще стрептококков) или активизация собственных нарушает этот баланс, вызывая хронический тонзиллит в условиях снижения местного и/или общего иммунитета при таких факторах риска как аллергические заболевания, наследственная предрасположенность, системные заболевания и т.д. [3, 16, 17, 18].

Полученные результаты подтверждают, что часто болеющие дети с острыми и хроническими инфекциями верхних дыхательных путей составляют группу риска развития осложнений, особенно при выявлении β-гемолитического стрептококка группы А и нуждаются в наблюдении ЛОР-врачей и врачей других специальностей [20].

В Республике Молдова β-гемолитический стрептококк группы А чувствителен практически ко всем группам антибиотиков. Частое выявление *S. pneumoniae*, который отличается сниженной чувствительностью к действию антибиотиков, известная роль β-гемолитического стрептококка группы А в развитии декомпенсации воспалительного процесса в лимфоидной ткани глотки, свидетельствуют о необходимости профилактической и терапевтической вакцинации против бактериальных инфекций указанного контингента детей [6, 7, 8, 9, 15, 19].

Список литературы/References

1. Азаматова Э.К., Хараева З.Ф., Мальцева Г.С. Роль персистентных свойств микроорганизмов при хроническом тонзиллите // Российская отоларингология. 2011. № 3. С. 3–6. [Azamatova E.K., Charaeva Z.F., Malceva G.S. Characteristics of microbial properties of persistence in children with chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2011, no. 3, pp. 3–6. (In Russ.)]
2. Азнабаева Л.Ф., Арефьева Н.А., Хафизова Ф.А. Экология и иммунология слизистых оболочек верхних дыхательных путей // Российская отоларингология. 1996. № 2–3. С. 9–10. [Aznabaeva L., Arefieva N. The ecology and immunology of the mucous membranes of the upper respiratory tract. *Rossiyskaya otolaringologiya = Russian Otolaryngology*, 1996, no. 2–3, pp. 9–10. (In Russ.)]
3. Аллергология и иммунология: Национальное руководство. Под ред. Р.М. Хайтова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 656 с. [Allergology and immunology: National guidelines. Eds.: R.M. Khaivor, N.I. Iljin. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 656 p. (In Russ.)]
4. Арефьева Н.А., Азнабаева Л.Ф., Хафизова Ф.А. Иммунокоректоры в комплексном лечении паратонзиллита // Вестник оториноларингологии. 1999. № 2. С. 42–45. [Aref'eva N.A., Aznabaeva L.F., Khafizova F.A. Immunomodulators in complex treatment of paratonsillitis. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 1999, no. 2, pp. 42–45. (In Russ.)]

5. Белов Б.С. А-стрептококковая инфекция глотки в практике интерниста // Вестник оториноларингологии. 2013. № 3. С. 39–43. [Belov B.S. Pharyngeal A-streptococcal infection encountered in the practical work of an internal medicine specialist. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2013, no. 3, pp. 39–43. (In Russ.)]
6. Вакцинация взрослых с бронхолегочной патологией. Руководство для врачей. Под ред. М.П. Костинова. М.: Арт студия «Созвездие», 2013. 109 с. [Vaccination of adults with bronchopulmonary pathology. Guide for doctors. Ed. M.P. Kostinov. Moscow: Art Studio “Constellation”, 2013. 109 p. (In Russ.)]
7. Вакцинация детей с нарушенным состоянием здоровья. 4-е изд. Под ред. М.П. Костинова. М.: 4Мпресс, 2013. 432 с. [Vaccination of children with impaired health. 4th ed. Ed. M.P. Kostinov. Moscow: 4Mpress, 2013. 432 p. (In Russ.)]
8. Гарашенко Т.И., Костинов М.П., Ильенко Л.И., Кытько О.В., Гарашенко М.В., Фошина Е.П., Овечкина Н.В., Кац Т.Г. Профилактическое и терапевтическое использование гемофильной и пневмококковой вакцин у часто и длительно болеющих детей с рецидивирующими средними отитами // Вопросы современной педиатрии. 2006. Т. 5, № 5. С. 24–28. [Garashchenko T.I., Kostinov M.P., Ilyenko L.I., Kutko O.V., Garashchenko M.V., Foshina E.P., Ovechkin N.V., Katz T.G. Prophylactic and therapeutic use of Haemophilus and pneumococcal vaccines in frequently and long ill children with recurrent middle ear infections. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Issues of Modern Pediatrics*, 2006, vol. 5, no. 5, pp. 24–28. (In Russ.)]
9. Ильенко Л.И., Костинов М.П., Гарашенко М.В., Кытько О.В., Овечкина Н.В., Кац Т.Г. Иммунизация вакцинами для профилактики пневмококковой, гемофильной инфекции и гриппа у часто и длительно болеющих детей с хронической и часто рецидивирующей неспецифической инфекционной патологией бронхолегочной системы // Вопросы современной педиатрии. 2006. Т. 5, № 4. С. 27–30. [Ilyenko L.I., Kostinov M.P., Garashchenko M.V., Kutko O.V., Ovechkin N.V., Katz T.G. Immunization with vaccines to prevent pneumococcal, Haemophilus influenzae and influenza in frequently and long ill children with chronic and frequently relapsing non-infectious pathology of the respiratory system. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Issues of Modern Pediatrics*, 2006, vol. 5, no. 4, pp. 27–30. (In Russ.)]
10. Карпова Е.П. Опыт применения препарата марис-спрей для горла при местном лечении хронического тонзиллита у детей // Вестник оториноларингологии. 2008. С. 85–86. [Karpova E. P. Experience with the drug Maris-throat spray for local treatment of chronic tonsillitis in children. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2008, pp. 85–86. (In Russ.)]
11. Крюков А.И., Ивойлов А.Ю., Туровский А.Б., Хамзалиева Р.Б., Товмасян А.С. Консервативная терапия и хирургическое лечение хронического тонзиллита у детей // Вестник оториноларингологии. 2013. № 4. С. 15–20. [Kryukov A.I., Ivojlov A.Y., Turov A.B., Khamzalieva R.B., Tovmasyan A.S. Conservative therapy and surgical treatment of chronic tonsillitis in children. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2013, no. 4, pp. 15–20. (In Russ.)]
12. Кунельская Н.Л., Скрябина Л.Ю. Хронический тонзиллит у студентов гуманитарного вуза: частота встречаемости, диагностика и лечебная тактика // Вестник оториноларингологии. 2013. № 3. С. 48–51. [Kudelska N.L., Skryabin Yu.L. Chronic tonsillitis in the students of humanitarian universities: incidence, diagnosis and therapeutic tactics. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2013, no. 3, pp. 48–51. (In Russ.)]
13. Мальцева Г.С. Роль бета-гемолитического стрептококка группы А в тонзиллярной патологии // Российская оториноларингология. 2007. Т. 3, № 28. С.131–139. [Mal'tseva G.S. Role of beta-hemolytic Streptococcus group A in tonsillar pathology. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2007, vol. 3, no. 28, pp. 131–139. (In Russ.)]
14. Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии: Методические рекомендации. Утверждены Министерством здравоохранения РСФСР от 19 декабря 1991 г. [Methods of bacteriological investigation of opportunistic microorganisms in clinical microbiology: methodical recommendation. Approved by the Ministry of Health of the RSFSR on December 19, 1991]
15. Новое в клинике, диагностике и вакцинопрофилактике управляемых инфекций. Под ред. М.П. Костинова. М.: Медицина для всех, 1997. 110 с. [The new clinic, diagnostics and vaccinal prevention of controlled infections. Ed. M.P. Kostinov. Moscow: Medicine for all, 1997. 110 p. (In Russ.)]
16. Профессиональные заболевания органов дыхания: Национальное руководство. Под ред. Н.Ф. Измерова, А.Г. Чучалина. М.: 2015. 792 с. [Occupational respiratory diseases: national guidelines. Eds. N.F. Izmerov, A.G. Chuchalin. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. 792 p. (In Russ.)]
17. Респираторная медицина: Руководство. Под ред. А.Г. Чучалина. 2-е изд. перераб. и доп. М.: 2017. 544 с. [Respiratory medicine: a guide. Ed. A.G. Chuchalin. 2nd ed. Moscow: 2017. 544 p.]
18. Руководство по клинической иммунологии в респираторной медицине. 2-е изд. Под ред. М.П. Костинова, А.Г. Чучалина. М.: Группа МДВ, 2018. 304 с. [Guidelines for clinical immunology in respiratory medicine. Eds. M.P. Kostinov, A.G. Chuchalin. 2nd ed. Moscow: MDV Group, 2018. 304 p.]
19. Рыжов А.А., Костинов М.П., Магаршак О.О. Применение вакцин против пневмококковой и гемофильной типа в инфекций у лиц с хронической патологией // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. Т. 6, № 19. С. 24–27. [Ryzhov A.A., Kostinov M.P., Magarshak O.O. Use of vaccines against pneumococcal and b-type infections in patients with chronic pathology. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2004, vol. 6, no. 19, pp. 24–27. (In Russ.)]
20. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Под ред. А.Г. Чучалина, В.В. Яснетова. Вып. XVII. М.: ООО «Видокс», 2016. 1045 с. [Federal guidelines for the use of medicines (formulary system). Eds. Chuchalin A.G., Yasnetsov V.V. Iss. XVII. Moscow: LLC “Vidox”, 2016. 1045 p. (In Russ.)]
21. Фошина Е.П., Полищук В.Б., Костинов М.П. Коррекция нарушений микробиоценоза полости рта у детей с хроническим тонзиллитом с помощью топического бактериального лизата // Вопросы современной педиатрии. 2007. Т. 6, № 2. С. 11–19. [Foshina E.P., Polishchuk V.B., kostinov M.P. Correction of disorders of microbiocenosis of the oral cavity in children with chronic tonsillitis with the help of topical bacterial lysate. *Voprosy sovremennoi pediatrii = Issues of Modern Pediatrics*, 2007, vol. 6, no. 2, pp. 11–19. (In Russ.)]
22. Фошина Е.П., Костинов М.П., Поддубиков А.В. Влияние бактериальных вакцин на состояние микробиоценоза носоглотки и оценка клинической эффективности у детей с хроническими риносинуситами и тонзиллофарингитами // Педиатрия. Журнал им. Г.И. Сперанского. 2018. Т. 98, № 2. С. 129–133. [Foshina E.P., Kostinov M.P., Poddubikov A.V. Effect of bacterial vaccines on the state of the microbiocenosis of the nasopharynx and assessment of clinical effectiveness in children with chronic rhinosinusitis and tonsillopharyngitis. *Pediatrics. Journal named after G.I. Speranskogo*, 2018, vol. 98, no. 2, pp. 129–133. (In Russ.)]

- Poddubko A.V. Influence of vaccine therapy on the nasopharyngeal microbiocenosis state and evaluation of its clinical efficacy in children with chronic rhinosinusitis and tonsillopharyngitis. *Pediatriya. Zhurnal im. G.I. Speranskogo = Pediatrics. Journal named after G.I. Speransky*, 2018, vol. 98, no. 2, pp. 129–133. (In Russ.)
23. Araujo Filho B.C., Imamura R., Sennes L.U. Role of rapid antigen detection test for the diagnosis of group A beta-hemolytic streptococcus in patients with pharyngotonsillitis. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*, 2006, vol. 72, no. 1, pp. 12–15.
24. Brook I., Gober A.E. Increased recovery of *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus Influenzae* in association with group A beta-hemolytic streptococci in healthy children and those with pharyngotonsillitis. *J. Med. Microbiol.*, 2006, vol. 55, pt. 8, pp. 989–992. doi: 10.1099/jmm.0.46325-0
25. Danilov L. Problema amigdalitei cronice în otorinolaringologie și pediatrie. *Buletin perinatologic, Chișinău*, 2013, vol. 2–3, no. 58–59, pp. 143–148.
26. Klug T.E., Henriksen J.J., Fuerst K., Ovesen T. Similar recovery rates of *Fusobacterium necrophorum* from recurrently infected and non-infected tonsils. *Dan. Med. Bul.*, 2011, vol. 58, no. 7: A4295.
27. Roberts A.L., Connolly K.L., Kirse D.J., Evans A.K., Poehling K.A., Peters T.R., Reid S.D. Detection of Group A Streptococcus in tonsils from pediatric patients reveals high rate of asymptomatic streptococcal carriage. *BMC Pediatr.*, 2012, vol. 12, no. 3. doi: 10.1186/1471-2431-12-3
28. Wong M.C., Chung C.H. Group A streptococcal infection in patients presenting with a sore throat at an accident and emergency department: prospective observational study. *Hong Kong Med. J.*, 2002, vol. 8, no. 2, pp. 92–98.

Авторы:

Абабий И.И., академик Академии Наук Республики Молдова, доктор наук, профессор, зав. кафедрой оториноларингологии Государственного медицинского и фармацевтического университета «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова;
Данилов Л.А., доктор наук, доцент кафедры оториноларингологии Государственного медицинского и фармацевтического университета «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова;
Манюк М.К., доктор наук, профессор кафедры оториноларингологии Государственного медицинского и фармацевтического университета «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова;
Абабий П.И., к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии Государственного медицинского и фармацевтического университета «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова;
Гинда С.С., доктор наук, профессор, лаборатория иммунологии и аллергологии Института фтизиопульмонологии «Кирилл Драганик», Кишинев, Молдова;
Трофимчук М.Г., резидент-оториноларинголог кафедры оториноларингологии Государственного медицинского и фармацевтического университета «Николае Тестемицану», Кишинев, Молдова;
Костинов М.П., д.м.н., профессор, зав. лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; профессор кафедры эпидемиологии ИПО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия;
Поддубиков А.В., к.м.н., зав. лабораторией микробиологии условно-патогенных бактерий ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Authors:

Ababii I.I., Full Member of Academy of Sciences of the Republic of Moldova, DSci, Professor, Otorhinolaryngology Department, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;
Danilov L.A., DSci, Associate Professor, Otorhinolaryngology Department, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;
Maniuc M.K., DSci, Professor of the Otorhinolaryngology Department, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;
Ababii P.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Otorhinolaryngology Department, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;
Ghinda S.S., DSci, Professor, Laboratory of Immunology and Allergology, Institute of Phthisiopulmonology "Chiril Draganiuc", Chisinau, Moldova;
Trofimciuc M.G., Resident-Otorhinolaryngologist, Otorhinolaryngology Department, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;
Kostinov M.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation; Professor of the Department of Epidemiology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;
Poddubikov A.V., PhD (Medicine), Head of Laboratory of Microbiology of the Opportunistic Bacteria, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.

THE LOCAL INTERFERON-CORRECTIVE THERAPY IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFT LIP AND PALATE, SUFFERING FROM THE RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS

I.V. Nesterova^{a,b}, M.N. Mitropanova^a, G.A. Chudilova^a, S.V. Kovaleva^a, E.O. Khalturina^c^a RUDN University of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russian Federation^b Kuban State Medical University of Ministry of Health Development of Russia, Krasnodar, Russian Federation^c I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Abstract. It is known that children with congenital cleft lip and palate are suffering from recurrent respiratory infections, which worsen the state of their health, and also complicate the results of reconstructive surgical treatment. The aim of the study was to detect defects of mucosal immunity in children with congenital cleft lip and palate, suffering from recurrent respiratory infections, and to create the program of local interferon corrective therapy with an assessment of its effectiveness. The studies included 56 children from the age of 1 to 3 years. Three groups of children were formed: group 1 — 26 children with congenital cleft lip and palate (antibiotic therapy); group 2 — 30 children with congenital cleft lip and palate (antibiotic therapy + local interferon therapy), group 3 — the control group. The clinical examination included a medical history, an assessment of the symptoms of recurrent episodes of acute respiratory infections and exacerbations of chronic infections. Microbiological studies were performed using standard methods. The status of local immunity was detected: the concentrations of secretory IgA, cytokines IL-17, IL-4, IL-6, IL-1 β , IFN γ in the oral fluid were tested by ELISA. Results of the study established that in group 1 and group 2 clinical criteria of immunodeficiency with an infectious syndrome were revealed: repeated acute respiratory viral infections from 10 or more times a year, complicated by frequent exacerbations of chronic bacterial infection (up to 10 or more per year). Assessment of the state of local immunity in children with congenital cleft lip and palate revealed a lack of sIgA compared with the control group. Before treatment in group 2 oral fluid level of IL-17, IL-6 were statistically significant increase ($p < 0.05$); the results of the study also established increase in the level of IL-1 β and a decrease in anti-inflammatory IL-4 and regulatory IFN γ relative to the control group ($p > 0.05$). After complex treatment with the inclusion of local interferon therapy in group 2 the appearance of sIgA, increase in the concentration of IL-4, IL-1 β and a decrease IL-17 in oral fluid were observed ($p > 0.05$). The concentrations of IL-6, IFN γ did not change ($p > 0.05$). After treatment in group 2 there were a decrease in exacerbations of chronic upper respiratory tract infection and in frequency of acute respiratory viral infections compared with group 1 ($p < 0.05$). Positive clinical efficacy of local interferon therapy (the gel of recombinant IFN α 2b in combination with oxidants — Vi-feron gel) in the process of staged rehabilitation of children with congenital cleft lip and palate has a protective clinical effect in reducing the frequency of acute respiratory viral infections, reducing the number of postoperative complications, reducing hospital stay, duration of antibacterial therapy and the number of exacerbations of chronic bacterial infection.

Key words: congenital cleft lip and palate, recurrent respiratory infections, immunocompromised children, complex immunorehabilitation, immunotropic therapy, mucosal immunity.

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Вадимовна
117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
Российский университет дружбы народов.
Тел.: 8 916 187-73-41 (моб.).
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Contacts:

Irina V. Nesterova
117198, Russian Federation, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 6,
Peoples' Friendship University of Russia.
Phone: +7 916 187-73-41 (mobile).
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Библиографическое описание:

Нестерова И.В., Митропанова М.Н., Чудилова Г.А., Ковалева С.В.,
Халтурин Е.О. Локальная интерферонокорректирующая терапия
у детей с врожденными расщелинами губы и неба с возвратными
респираторными инфекциями // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10,
№ 2. С. 368–374. doi: 10.15789/2220-7619-TLI-1352

Citation:

Nesterova I.V., Mitropanova M.N., Chudilova G.A., Kovaleva S.V.,
Khalturina E.O. The local interferon-corrective therapy in children with
congenital cleft lip and palate, suffering from the recurrent respiratory
infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 368–374. doi: 10.15789/2220-7619-
TLI-1352

ЛОКАЛЬНАЯ ИНТЕРФЕРОНОКОРРЕКТИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ РАСЩЕЛИНАМИ ГУБЫ И НЕБА С ВОЗВРАТНЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Нестерова И.В.^{1,2}, Митропанова М.Н.¹, Чудилова Г.А.¹, Ковалева С.В.¹, Халтурина Е.О.³

¹ ФГАОУ ВО Российской университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Краснодар, Россия

³ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Известно, что дети с врожденной расщелиной губы и неба страдают от рецидивирующих респираторных инфекций, которые ухудшают состояние их здоровья, а также осложняют результаты реконструктивного хирургического лечения. Целью данного исследования явилось выявление дефектов мукозального иммунитета у детей с врожденной расщелиной губы и неба, страдающих рецидивирующими инфекциями респираторного тракта, а также создание программы локальной интерферонотерапии с последующей оценкой ее эффективности. В исследовании приняли участие 56 детей в возрасте от 1 года до 3 лет. Были сформированы три группы: 1-я группа — 26 детей с врожденной расщелиной губы и неба (антибиотикотерапия); 2-я группа — 30 детей с врожденной расщелиной губы и неба (антибиотикотерапия + локальная интерферонотерапия), 3-я группа — контрольная группа. Клиническое обследование включало в себя сбор анамнеза, оценку симптомов ОРВИ и обострений хронических инфекций. Микробиологические исследования проводились с использованием стандартных методов. Определяли параметры мукозального иммунитета, а именно: концентрацию sIgA, цитокинов IL-17, IL-4, IL-6, IL-1 β , IFN γ в ротовой жидкости методом ИФА. Результаты исследования показали, что в 1-й и 2-й группах детей были детектированы клинические критерии иммунодефицита с инфекционным синдромом: повторные ОРВИ от 10 и более раз в год, осложненные частыми обострениями хронических бактериальных инфекций (до 10 и более в год). Определение параметров мукозального иммунитета у детей с врожденной расщелиной губы и неба показало отсутствие sIgA по сравнению с контрольной группой. Перед лечением у детей 2-й группы уровень IL-17, IL-6 в ротовой жидкости был статистически значимо повышен ($P < 0,05$); по результатам исследования также установлено повышение уровня IL-1 β и снижение противовоспалительного IL-4 и регуляторного IFN γ относительно группы контроля ($P > 0,05$). После проведения комплексной терапии с включением локальной интерферонотерапии во 2-й группе отмечается появление sIgA, повышение концентрации IL-4, IL-1 β и снижение IL-17 в ротовой жидкости ($P > 0,05$). Концентрации IL-6, IFN γ не изменились ($P > 0,05$). После терапии во 2-й группе наблюдалось снижение частоты обострений хронических инфекций верхних дыхательных путей и частоты ОРВИ по сравнению с 1-й группой ($P < 0,05$). Позитивный клинический эффект локальной интерферонотерапии (гель рекомбинантного IFN α 2b в сочетании с антиоксидантами — Виферон гель) в процессе поэтапной реабилитации детей с врожденной расщелиной губы и неба оказывает протективный клинический эффект, выражющийся в снижении частоты ОРВИ, уменьшении количества послеоперационных осложнений, сокращении времени пребывания в стационаре, снижении длительности применения антибактериальных препаратов, уменьшении количества обострений хронических очагов бактериальной инфекции.

Ключевые слова: врожденная расщелина губы и неба, рецидивирующие респираторные инфекции, иммунокомпрометированные дети, комплексная иммунореабилитация, иммунотропная терапия, мукозальный иммунитет.

Introduction

There has been a progressive increase in the number of children with congenital malformations throughout the world recently. According to WHO data, congenital clefts of the lips and palate (CCLP) are found in 0.6–1.6 cases per 1000 newborns and in frequency of occurrence they occupy the 2nd–3rd place among all congenital malformations of a person. Every year in the Russian Federation more than 20.000 children with CCLP are born [1]. These malformations in children are not only a medical, but also a social problem and require the use of a range of rehabilitation measures, including the timely therapeutic and reconstructive surgical care. To date, the most important method of treatment for CCLP is surgical, however, the timing of surgical intervention often has to be postponed due to the high incidence of infec-

tious and inflammatory diseases of the oral cavity, respiratory tract and ENT organs. A previous clinical observation in children with CCLP showed that these children suffered of complicated and uncomplicated ARVI 10 or more episodes per year with an acute period of 4 to 14 days or more, i.e. the patients were immunocompromised [5, 6]. In addition, despite the continuous improvement of the operations technique, as well as a significant advance in patient care after plastic surgery, the frequency of early and long-term postoperative complications remains quite significant. An indisputable fact is that the formation of the inflammatory process in children with CCLP is associated with anatomical and topographic features that facilitate the penetration of pathogenic microflora onto the oral and nasal mucosa. The prolonged presence of pathogenic microflora on the mucous membranes is accompanied by impaired mu-

cosal immunity [2, 4, 10]. In recent years, a lot of information has accumulated about the role of pro- and anti-inflammatory cytokines in providing anti-infection resistance and in the processes of the formation of inflammatory responses. Many of these cytokines are present in saliva: IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, TNF α , IFN α , IFN γ , epidermal growth factor and other growth factors and cytokines [3, 9, 11]. These numerous factors produce mucosal epithelium, lymphocytes and macrophages embedded in the epithelium under the influence of phlogogenic stimuli entering the oral cavity and upper respiratory tract. In addition, serum transudate and salivary glands are a source of cytokines in saliva [3, 9]. An important role in anti-infection protection belongs to secretory immunoglobulin A (sIgA). Defects in mucosal immunity lead to easier invasion of pathogens and contribute to their persistence, which supports inflammatory processes. The emerging defects in the functioning of local and systemic immunity in children with CCLP require the development of new approaches to comprehensive rehabilitation. At the same time, one of the most important priority areas is the development of new immunotherapeutic approaches aimed at restoring the defective functioning of both mucosal and systemic immunity, which should, from our point of view, increase the effectiveness of comprehensive rehabilitation.

The aim of the study: to identify the features of the defects in mucosal immunity in children with CCLP, followed by an assessment of the effectiveness of local interferon therapy, which is included in the comprehensive of rehabilitation measures.

Material and methods

Treatment groups. The studies included 56 children with congenital clefts of the lips and palate (CCLP) from the age of 1 to 3 years, who are prepared for a surgical operation to repair a soft palate defect (veloplasty), or were early gentle operated to repair a hard palate defect (urano-plasty), all patients were performed cheiloplasty (surgical lip restoration) in the maxillofacial department of Facial Surgery Children's Regional Clinical Hospital in Krasnodar, Russia. The parents (guardians) of the children gave their informed consent to participate in the study in accordance with the WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013. All procedures used in this study were approved by the Independent Ethic Committee of Kuban State Medical University (Approval No: 59 from 18.01.2018).

Three groups of children were formed randomly: group 1 — 26 children with CCLP (10 boys and 16 girls), having clinical signs of secondary immunodeficiency with an infectious syndrome, under our clinical supervision (comparison group); group 2 — 30 children with CCLP (13 boys and 17 girls) who also

have clinical signs of secondary immunodeficiency with an infectious syndrome, but their comprehensive rehabilitation program included local interferon therapy by application of gel — recombinant IFN α 2b in combination with antioxidants (α -tocopherol acetate) — Viferon (Feron, Russia). Group 3 — the control group consisted of 30 healthy children of the same age.

Samples of oral fluid were obtained during a routine examination by a dentist and were stored at -20°C until further analysis.

Microbiological studies. Microbiological studies of the oral cavity, nasopharynx and nasal cavity in children with CCLP were performed to identify pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms using standard methods.

ELISA. The state of mucosal immunity was studied in all groups of children. In group 2, studies of mucosal immunity were performed twice — before and after local interferon therapy. To assess the state of mucosal immunity in the oral fluid samples, the concentrations of secretory IgA (sIgA) and cytokines IL-17, IL-4, IL-6, IL-1 β , IFN γ were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) by microplate reader (Ascent, Finland) using appropriate test systems ("Vector-Best", Russia) following the manufacturer's instruction.

Statistical analysis. A statistical processing of the results was carried out using computer programs Microsoft Excel, StatPlus 2009 using nonparametric tests of Wilcoxon and Mann–Whitney and parametric Student's test. The results were presented as the median with the upper and lower quartiles (Me [Q1; Q3]) or as arithmetic mean and the error of the mean ($M \pm m$) depending on distribution. The significance of the differences was determined at $p < 0.05$.

Results

Analysis of the clinical status of children with CCLP in groups 1 and 2 revealed the clinical criteria for secondary immunodeficiency with an infectious syndrome: repeated ARVI from 12 or more times a year, complicated by frequent exacerbations (up to 10 or more per year) of chronic bacterial infection in the form of chronic rhinitis, chronic tonsillitis, chronic sinusitis, chronic pharyngotracheitis. Children received from 8 or more courses of antibacterial therapy per year, including the latest generation of cephalosporins used parenterally (tabl. 1).

According to the results of microbiological and bacteriological studies, 10 cultures of gram-positive (*S. epidermidis*, *S. viridans*, *S. pneumoniae*, *E. durans*, *E. faecium*, *E. faecalis*) and gram-negative (*Haemophilus influenza*, *Haemophilus parainfluenzae*) bacterial microorganisms, as well as *C. albicans* and *C. krusei*, were identified. We also have established that the composition and density of microbial communities in different biotopes in children with con-

genital cleft lip and palate is not the same. In all studied biotopes from all groups we revealed significant changes in the qualitative and quantitative composition of microbes.

In the course of the study, it was revealed that patients with group 1 and group 2 with CCLP had disturbances in the microbiocenosis of the oral cavity and upper respiratory tract against the background of physiological inflammation of the gum mucosa during eruption of temporary teeth. The most common bacterial associations were *S. viridans*, *S. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* (in 30% of cases), and monocultures of bacteria mainly *E. durans*, *E. faecium*, *S. epidermidis*, *Haemophilus influenzae* (in 70% of cases) and *Candida albicans* (in 20% of cases) with an abundance of soft plaque. Viral infections were represented by persistent respiratory and herpetic viruses, repeated acute herpetic stomatitis. Thus, a decrease in anti-infectious resistance was associated with persistent viral and bacterial infection.

Assessment of the state of local immunity in children with CCLP revealed a lack of sIgA in the OF compared with the control group of the corresponding age (fig. 1).

A statistically significant increase in CCLP level of IL-17 in 4.03 times to 21.8 [10.0; 37.8] pg/ml vs. 5.4 [3.8; 5.9] in the control ($p < 0.05$), IL-6 up to 3.8 [1.37; 4.3] pg/ml vs. 2.63 [2.41; 2.85] pg/ml ($p < 0.05$).

The results of a study of IL-1 β level in CCLP allowed to establish only a tendency to increase — 42.13 [30.0; 57.8] pg/ml vs 34.3 [27.3; 36.1] pg/ml in control ($p > 0.05$) and decrease in anti-inflammatory IL-4 ($p > 0.05$) and regulatory IFN γ ($p > 0.05$) relative to control values of relatively healthy children (fig. 2, tabl. 2).

Taking into account the identified defects in the functioning of antiviral immunity, the presence of clinical criteria for secondary immunodeficiency with an infectious syndrome, and the clinical status of patients at different stages of surgical treatment of congenital cleft lip and palate, we developed a program of local interferon therapy to prevent the occurrence of acute respiratory viral infections and reduce the incidence of bacterial infections of the nose and oropharynx, as well as the incidence of postoperative complications.

In both clinical groups antibacterial therapy was prescribed empirically, according to current information about the resistance of pathogens to certain antibacterial drugs. Further, the correction of antibiotic therapy was carried out in view of the results of bacteriological studies (inoculation of the microflora of the oral cavity, nasal cavity and nasopharynx) and determination of sensitivity to antibiotics. The drugs of choice were antibacterial agents from the group of cephalosporins (lifaxone, cefaxone,

Table 1. Comparative clinical efficacy of complex local interferon therapy in children with congenital clefts of the lip and palate and secondary immunodeficiency (M \pm m)

Clinical criteria of treatment efficacy	Before therapy	After therapy		Significance
		Group 1 Antibiotic therapy	Group 2 Local interferon therapy+ antibiotic therapy	
Number of ARVI cases per year	12.3 \pm 1.2	8.6 \pm 1.8	4.9 \pm 2.3	$p_{1,2} < 0.05$ $p_{1,3} < 0.05$ $p_{2,3} < 0.05$
Number of ARVI exacerbation cases per year	10.3 \pm 0.58	8.03 \pm 0.74	3.4 \pm 0.34	$p_{1,2} < 0.05$ $p_{1,3} < 0.05$ $p_{2,3} < 0.05$
Number of chronic bacterial infection exacerbation cases per year (chronic rhinitis, chronic tonsillitis, chronic sinusitis, chronic pharyngotracheitis)	5.1 \pm 2.61	4.5 \pm 0.52	3.8 \pm 0.56	$p_{1,2} < 0.05$ $p_{1,3} > 0.05$ $p_{2,3} > 0.05$
Number of antibiotic therapy courses per year (including parenteral)	8.96 \pm 0.12	7.20 \pm 0.86	6.34 \pm 0.58	$p_{1,2} < 0.05$ $p_{1,3} > 0.05$ $p_{2,3} > 0.05$

Table 2. The state of mucosal immunity in children with congenital cleft lip and palate before and after local interferon therapy (Me [Q1; Q3])

Group	IL-17, pg/ml	IL-4, pg/ml	IL-6, pg/ml	IL-1 β , pg/ml	IFN γ , pg/ml	sIgA, g/l
Control	5.4 [3.8; 5.9]	18.65 [15.1; 19.14]	2.63 [2.4; 2.85]	34.31 [27.3; 36.13]	16.74 [5.2; 17.3]	0.51 [0.46; 0.63]
Group 2 before treatment	21.28* [0.01; 37.8]	12.4* [7.1; 13.1]	3.8* [1.4; 4.32]	42.13 [30.0; 57.8]	12.7 [8.11; 17.5]	0*
Group 2 after treatment	14.18*# [5.3; 33.6]	17.3 [15.9; 18.9]	2.14 [1.37; 5.3]	57.3*# [45.9; 63.96]	11.8 [9.6; 16.9]	0.32* [0.29; 0.30]

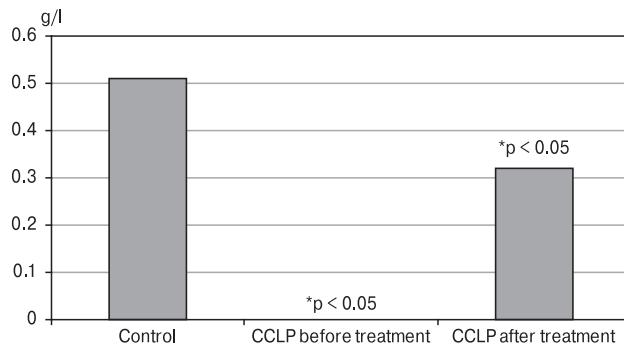


Figure 1. Concentration of secretory immunoglobulin A in children with congenital cleft lip and palate before and after local interferon therapy

Note: *significance of control group.

cephalosporin, azaran, ceftriaxone, etc.). The dose of the drug and the duration of course was determined by the age of the child, its weight, concomitant somatic pathology and the nature of postoperative complications.

In children of group 2, a locally recombinant interferon α 2b gel was used by application of the mucous membrane of oral cavity and nose 3–4 times a day 10 days before surgical treatment and within 1 month after surgical treatment starting on the second postoperative day.

The total duration of the course of local interferon therapy before and after surgical treatment was 10 days and 1 month accordingly.

After the complex treatment through the local interferon therapy with recombinant interferon alfa-2b — gel in children of group 2 with CCLP, there was noted the appearance of sIgA 0.32 [0.29; 0.30] g/l in the OF ($p < 0.05$), reaching a lower control value of 0.45 [0.34; 0.60] g/l, increase of the concentration of IL-4 to 17.3 [15.9; 18.96] pg/ml to a control level ($p > 0.05$), as well as a level of IL-1 β to 57.3 [45.9; 63.96] pg/ml ($p < 0.05$) against the decrease in the

amount of IL-17 to 14.18 [5.3; 33.6] pg/ml ($p < 0.05$) and unchanging values of the concentration of IL-6, IFN γ ($p > 0.05$).

The developed tactics of local interferon therapy demonstrated a pronounced regression of local cytokine imbalance and partial but significant restoration of sIgA level. The comprehensive treatment allowed compensation for some defects of mucosal immunity in CCLP, which was clinically accompanied by a decrease in respiratory morbidity.

The first stage of surgical treatment in children of group 1 was complicated by suppuration and/or disruption of sutures, long courses of antibiotic therapy, a long period of stay in the hospital, and a long period of rehabilitation. However, the inclusion of local interferon therapy in the comprehensive treatment in patients of group 2 demonstrated a pronounced clinical effect, manifested in a decrease in the incidence of acute respiratory viral infections in 75.18 ± 2.335 cases, as well as the incidence of exacerbations of chronic foci of upper respiratory tract infection in $63.15 \pm 4.53\%$ of cases, a decrease in the number of postoperative complications (suppuration of surgical sutures, surgical suture discrepancy) in all patients of this group — 100% of cases, faster healing of postoperative wounds in all patients, reduction of the duration of hospital stay by $25.34 \pm 0.98\%$ as compared with group 1, which patients were not received local interferon therapy ($p < 0.05$), a decrease in the duration of antibiotic use in $92.0 \pm 5.8\%$ of children compared with group 1 ($p < 0.05$), the effectiveness of rehabilitation increased in 100% of cases.

In addition, a 2.5–3-times decrease in the incidence of complicated and uncomplicated acute respiratory viral infections and their duration made it possible to conduct stage-by-stage surgical rehabilitation in time, to reduce in 1.3 times the number of hospital days and the duration of antibiotic therapy during surgical treatment, and also prevent the de-

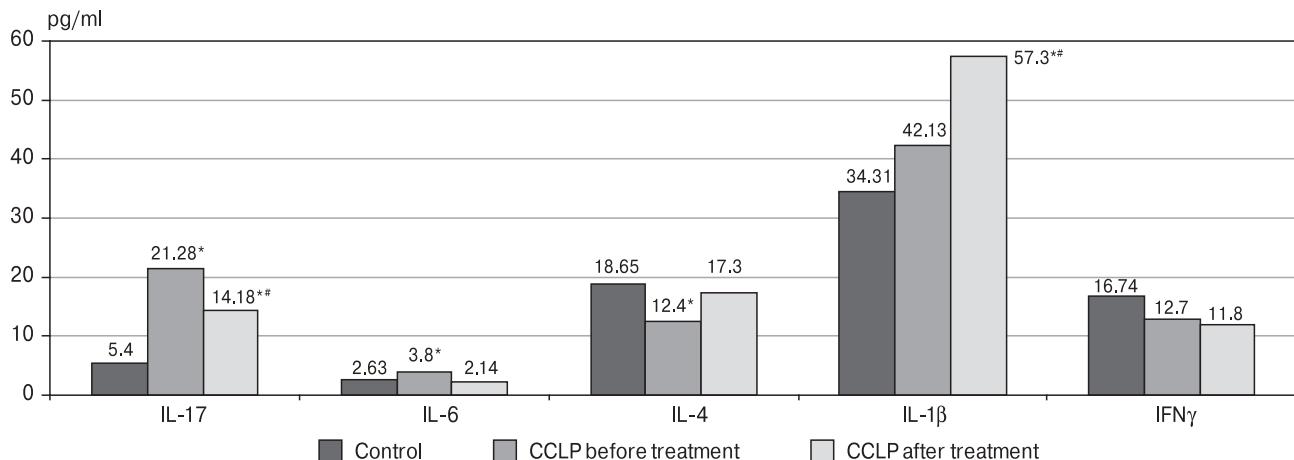


Figure 2. The cytokine profile of the oral fluid in children with congenital cleft lip and palate before and after local interferon therapy

Note: * $p < 0.05$ compared with control group, ** $p < 0.05$ compared with group 2 before treatment.

velopment of both early and long-term postoperative complications (tabl. 1).

Studies have shown that the implementation of complex treatment with the inclusion of local interferon therapy with recombinant interferon alfa-2b — Viferon-gel of children of the 2nd group with CCLP allows to compensate for the disorders caused by both the functional immaturity of the immune system and the formation of various defects due to the presence of frequent respiratory infections due to congenital cleft lip and palate. Thus we noted the absence of various complications of the postoperative period, as well as a decrease in respiratory morbidity.

Discussion

Children of this age are characterized by a state of physiological inflammation of the gingival mucosa during teething, which in children with CCLP is associated with a constant additional viral load (persistence of respiratory and herpes viruses, acute herpetic stomatitis) and bacterial load represented by streptococcus associations. At the same time there was a lack of acute clinical manifestations of the disease. Defects in the microbiocenosis of the mucous membranes of the oral and nasal cavity are the cause or consequence of the decrease in local and systemic immunity and of the immunity stress. Thus, a study of the ecological characteristics of the microflora of the oral cavity, nose and nasopharynx during cleft palate suggests that the pathology of the palate creates the conditions for the formation of dysbiosis in these biotopes, which is caused by certain physical, chemical and biological changes in the ecosystem, the degree of which increases with age.

It is notable, that an imbalance in the most important mediator of the inflammation development of IL-1 was revealed, the first manifestations of the biological effect of which are manifested in the activation of local protective reactions and anti-inflammatory IL-4 together with IFN γ , which are key factors determining the type of immune response and potentiating the expression of the secretory component of IgA. The established defects of mucosal immunity necessitate the development of new approaches to local immunotropic therapy aimed at the restora-

tion of mucosal immunity of the mucous membranes of the oral and nasal cavities, which contributes to the regression of established defects and prevents the occurrence of repeated respiratory infections and post-operative complications. The pathology of the interferon system of congenital or acquired origin is very diverse. Numerous studies of recent years have convincingly shown the existence of primary and secondary acquired disorders in the IFN system, which is clinically manifested by atypically occurring viral and viral-bacterial infections. At the same time, the development of unusual clinical symptoms follows changes in the IFN system that occur both at the cellular and molecular levels. The complex of immunorehabilitation measures for immunocompromised children with viral respiratory and herpetic infections uses recombinant IFN α 2b in combination with antioxidants, due to the universal antiviral, antibacterial and immunomodulating nature of its action [7, 8].

Conclusion

Thus children with CCLP have clinical signs of secondary immunodeficiency with an infectious syndrome associated with impaired mucosal immunity, which is manifested in an imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines and a complete deficiency of secretory immunoglobulin A. Local interferon therapy, that is included in the comprehensive rehabilitation program, had a pronounced protective clinical effect, which was manifested in a decrease in the incidence of acute respiratory viral infections, a reduction of the number of postoperative complications, a reduction of the duration of hospital stay, a decrease in the duration of the use of antibacterial drugs, and a decrease in the number of exacerbations of chronic bacterial infection. Selected immunological criteria for assessing the state of mucosal immunity allow not only to conduct objective detection of its defects, but also to monitor the effectiveness of local interferon and immunotherapy.

Acknowledgments

This study was not supported by any organization or foundation.

References

- Игнатьева О.В., Краснов М.В., Анохина А.В. Врожденные расщелины верхней губы и неба у детей в Чувашской Республике и оптимизация их лечения // *Acta Medica Eurasica*. 2015. № 3. С. 16–22. [Ignatyeva O., Krasnov M., Anokhina A. Congenital clefts of lip and palate in infants in chuvash republic and optimization of their treatment. *Acta Medica Eurasica*, 2015, no. 3, pp. 16–22. (In Russ.)]
- Леонтьев В.К., Воронин В.Ф., Шестаков В.Т. Микрофлора полости рта. М.: Медицинская книга, 2000. 21 с. [Leontyev V.K., Voronin V.F., Shestakov V.T. Microflora of the oral cavity. Moscow: Medical Book, 2000. 21 p. (In Russ.)]
- Лобейко В.В., Иорданишвили А.К., Малышев М.Е. Возрастная характеристика иммунологических показателей слюны у взрослых людей // Кубанский научный медицинский вестник. 2015. Т. 150, № 1. С. 74–79. [Lobeyko V.V., Iordanishvili A.K., Malyshev M.E. Markers of saliva secretory immunity of persons of different age, lives in St. Petersburg and Leningrad region. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik* = *Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2015, vol. 150, no. 1, pp. 74–79. doi: 10.25207/1608-6228-2015-1-74-79 (In Russ.)]

4. Митропанова М.Н. Особенности функционирования иммунной системы у детей с врожденными расщелинами губы и неба на этапах хирургического лечения // Стоматология детского возраста и профилактика. 2017. Т. 16, № 2 (61). С. 79–83. [Mitropanova M.N. Features of immunological system functioning in children with cleft lip and palate during surgical stage of treatment. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika = Pediatric Dentistry and Dental Prophylaxis*, 2017, vol. 16, no. 2 (61), pp. 79–83. (In Russ.)]
5. Нестерова И.В. Препараты интерферона альфа в клинической практике: когда и как // Лечащий врач. 2017. Т. 9. С. 66–76. [Nesterova I.V. Interferon alpha drugs in clinical practice: when and how? *Lechashchiy vrach = The Attending Physician*, 2017, vol. 9, pp. 66–76. (In Russ.)]
6. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Клещенко Е.И., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Шинкарева О.Н., Парфенов В.В., Колыцов В.Д. Оптимизация тактики интерфероно- и иммунотерапии в реабилитации иммунокомпрометированных детей с повторными респираторными и герпетическими вирусными инфекциями // Педиатрия. 2014. Т. 93, № 3. С. 66–72. [Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Kleshenko E.I., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Shinkareva O.N., Parfenov V.V., Koltssov V.D. Optimization of interferon and immunotherapy tactics in the rehabilitation of immunocompromised children with repeated respiratory and herpetic viral infections. *Pediatriya = Russian Pediatrics*, 2014, vol. 93, no. 3, pp. 66–72. (In Russ.)].
7. Нестерова И.В., Малиновская В.В., Тараканов В.А., Ковалева С.В. Интерфероно- и иммунотерапия в практике лечения часто и длительно болеющих детей и взрослых. США, Великобритания, Россия: Capricorn Publishing Inc., 2004. 160 с. [Nesterova I.V., Malinovskaya V.V., Tarakanov V.A., Kovaleva S.V. IFN and immune therapies in frequently and chronically ill children and adults treatment practice. USA, UK, Russia: Capricorn Publishing Inc., 2004. 158 p. (In Russ.)]
8. Симбирцев А.С., Лавренова Г.В. Иммунотерапия в практике ЛОР-врача и терапевта. СПб.: Диалог, 2018. 456 с. [Simbirtsev A.S., Lavrenova G.V. Immunotherapy in the practice of ENT and the therapist. St. Petersburg: Dialogue, 2018. 456 p. (In Russ.)]
9. Black K.P., Merrill K.W., Jackson S., Kats J. Cytokine profiles in parotid saliva from HIV-1-infected individuals: changes associated with opportunistic infections in the oral cavity. *Oral Microbiology and Immunology*, 2000, vol. 15, no. 2, pp. 74–81. doi: 10.1034/j.1399-302x.2000.150202.x
10. Gao L., Xu T., Huang G., Jiang S., Gu Y., Chen F. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein & Cell*, 2018, vol. 9, no. 5, pp. 488–500. doi: 10.1007/s13238-018-0548-1
11. Kagami H., Hiramatsu Y., Hishida S., Okazaki Y., Horie K., Oda Y., Ueda M. Salivary growth factors in health and disease. *Adv. Dent. Res.*, 2000, vol. 14, no. 1, pp. 99–102. doi: 10.1177/08959374000140011601

Авторы:

Нестерова И.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры аллергологии и иммунологии Факультета непрерывного медицинского образования ФГБОУ ВО Российской университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва, Россия; главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Краснодар, Россия;

Митропанова М.Н., к.м.н., доцент, зав. кафедрой детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии Факультета непрерывного медицинского образования ФГБОУ ВО Российской университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва, Россия;

Чудилова Г.А., к.б.н., доцент, зав. отелом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории Факультета непрерывного медицинского образования ФГБОУ ВО Российской университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва, Россия;

Ковалева С.В., к.м.н., доцент, старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории Факультета непрерывного медицинского образования ФГБОУ ВО Российской университет дружбы народов Министерства образования и науки России, Москва, Россия;

Халтурина Е.О., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия.

Authors:

Nesterova I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Allergology and Immunology, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN University, Moscow, Russian Federation; Head Researcher, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation;

Mitropanova M.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Pediatric Dentistry, Orthodontics and Dentofacial Surgery, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN University, Moscow, Russian Federation;

Chudilova G.A., PhD (Biology), Associate Professor, Head of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN University, Moscow, Russian Federation;

Kovaleva S.V., PhD (Medicine), Assistant Professor, Senior Researcher, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN University, Moscow, Russian Federation;

Khalturina E.O., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАПРЯЖЕННОСТИ ПРОТИВОКОРЕВОГО ИММУНИТЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

А.Г. Сонис^{1,2}, О.А. Гусякова^{1,2}, Ф.Н. Гильмиярова¹, А.А. Ерешченко^{1,2},
Н.К. Игнатова^{1,2}, В.И. Кузьмичева¹, И.А. Бородина¹, С.С. Неняйкин²

¹ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Самара, Россия

²Клиники Самарского государственного медицинского университета, г. Самара, Россия

Резюме. Эпидемиологическая ситуация по распространению коревой инфекции в мире неоднозначна. Наряду со странами, добившимися элиминации коревой инфекции, есть и такие, в которых заболеваемость остается на достаточно высоком уровне. Поскольку корь является вакциноуправляемой инфекцией, единственным гарантом достижения элиминации данной инфекции является обеспечение достаточного охвата населения вакцинопрофилактикой. Целью нашего исследования являлась оценка уровня противокоревого иммунитета у медицинского персонала Клиник Самарского государственного медицинского университета и сотрудников ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет». В исследовании приняли участие 1503 человека (18–79 лет). Все лица в возрасте до 55 лет (77,58%) имели документальные сведения о вакцинации против кори. У абсолютного большинства лиц старше 55 лет отсутствовали документальные подтверждения проведенной вакцинации и перенесенной коревой инфекции. Содержание IgG к вирусу кори в сыворотке крови определяли методом ИФА («ВектоКорь-IgG», ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Средний показатель содержания IgG к вирусу кори в генеральной совокупности составил $1,02 \pm 0,02$ МЕ/мл. Положительные результаты наблюдались у 72,52% обследованных лиц. «Средний уровень» содержания IgG к вирусу кори был характерен для 52,9% обследованных лиц (средний возраст — $41,4 \pm 0,5$ лет). «Высокий уровень» показателя IgG к вирусу кори наблюдался у 19,62% (средний возраст — $54,2 \pm 0,72$ лет). Содержание IgG к вирусу кори ниже порогового значения наблюдалось у 27,48% обследованных лиц (средний возраст — $33,25 \pm 0,53$ лет). Таким образом, у 34,16% обследованных вакцинированных лиц содержание антител было ниже защитного, причем большая часть из них — лица молодого возраста. В более старших возрастных группах с увеличением возраста наблюдается и увеличение среднего содержания IgG к вирусу кори. При анализе зависимости уровня противокоревого иммунитета от возраста были выявлены следующие закономерности: при увеличении возраста, доля лиц с «высоким» содержанием IgG к вирусу кори растет, а с «низким» — снижается. Учитывая наличие среди обследуемых лиц с низким уровнем противокоревого иммунитета большого процента ранее вакцинированных, можно сделать вывод, что в молодом взрослом возрасте необходимо проводить исследование на содержание IgG к вирусу кори для решения вопроса о необходимости последующей ревакцинации.

Ключевые слова: корь, иммунитет, иммуноглобулин G, вакцинация, ревакцинация, медицинские работники.

Адрес для переписки:

Ерешченко Алена Анатольевна
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89,
Самарский государственный медицинский университет.
Тел.: +8 (846) 337-04-63 (служебн.).
E-mail: bio-sam@yandex.ru

Contacts:

Alena A. Ereshchenko
443099, Russian Federation, Samara, Chapayevskaya str., 89,
Samara State Medical University.
Phone: +7 (846) 337-04-63 (office).
E-mail: bio-sam@yandex.ru

Библиографическое описание:

Сонис А.Г., Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Ерешченко А.А.,
Игнатова Н.К., Кузьмичева В.И., Бородина И.А., Неняйкин С.С.
Характеристика напряженности противокоревого иммунитета
в зависимости от возраста // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2.
С. 375–380. doi: 10.15789/2220-7619-POR-1173

Citation:

Sonis A.G., Gusyakova O.A., Gilmiyarova F.N., Ereshchenko A.A.,
Ignatova N.K., Kuzmicheva V.I., Borodina I.A., Nenjajkin S.S. Pattern
of resilient age-related measles immunity // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 375–380.
doi: 10.15789/2220-7619-POR-1173

PATTERN OF RESILIENT AGE-RELATED MEASLES IMMUNITY

Sonis A.G.^{a,b}, Gusyakova O.A.^{a,b}, Gilmiyarova F.N.^a, Ereshchenko A.A.^{a,b}, Ignatova N.K.^{a,b}, Kuzmicheva V.I.^a, Borodina I.A.^a, Nenjakin S.S.^b

^a Samara State Medical University of MH RF, Samara, Russian Federation

^b Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Abstract. Epidemiological situation describing global measles spread is ambiguous. Along with countries succeeded in measles eradication, there are those wherein measles rate remains at quite high level. Because measles is a vaccine-preventable infection, it may then be eradicated solely by ensuring sufficient population coverage with preventive vaccination. The aim of our study was to assess level of measles immunity in medical workers at the Clinics of Samara State Medical University as well as the Samara State Medical University. There were enrolled 1503 subjects (aged 18–79 years), among which all individuals under 55 (77.58%) but not older counterparts provided with medical record on previous measles vaccination or measles infection. Level of serum measles virus-specific IgG antibodies was measured by using ELISA (VektoKor-IgG, JSC Vector-Best, Novosibirsk), with mean concentration ranging in general population within 1.02 ± 0.02 IU/ml. Positive results were observed in 72.52% of the examined individuals. Average vs. high measles virus-specific IgG level was detected in 52.90% (mean age — 41.4 ± 0.5 years) and 19.62% (mean age — 54.2 ± 0.72 years) of individuals, whereas at level below threshold — in 27.48% of subjects (mean age — 33.25 ± 0.53 years). Thus, in 34.16% of the surveyed vaccinated individuals mostly presented by young subjects contained anti-measles virus-specific antibodies below protective level. Older age groups were shown to increase in average IgG amount with age. Interestingly, age-related measles immunity pattern was observed: percentage of subjects with high vs. low measles virus-specific IgG level increases and decreases, respectively. Taking into consideration a large percentage of subjects previously vaccinated against measles among carriers of low measles immunity, it may be concluded that measles virus-specific IgG antibody level must be monitored in young adulthood to decide of whether subsequent revaccination is necessary.

Key words: measles, immunity, immunoglobulin G, vaccination, revaccination, medical workers.

Введение

По информации Европейского регионального бюро Всемирной организации здравоохранения за период с января по декабрь 2018 гг. максимальные показатели заболеваемости корью зарегистрированы в Украине (1209,25 на 1 млн), Сербии (579,32 на 1 млн), Грузии (563,84 на 1 млн), Албании (499,60 на 1 млн), Черногории (322,62 на 1 млн), Греции (196,82 на 1 млн). Напряженной остается ситуация в Румынии (55,51 на 1 млн), Италии (42,45) и Франции (44,66) [11]. По данным отчета ВОЗ за 2017 г., некоторые регионы и территории потеряли статус «свободных от кори», а 11 стран, ранее имевших показатель иммунизации против кори 90%, не смогли подтвердить его [12].

Европейская региональная комиссия по верификации элиминации кори и краснухи в отчете за 2017 г. пришла к выводу, что в 43 государствах — членах Европейского регионального бюро ВОЗ была прервана эндемичная передача кори на протяжении минимум 12 месяцев; в 37 государствах произошла элиминация эндемичной передачи кори (на протяжении минимум 36 месяцев); 10 государств признаны эндемичными в отношении кори в 2017 г., включая Германию и Российскую Федерацию, при этом в обеих странах передача инфекции была прервана в 2016 г. [1].

В последние годы, по данным государственного доклада Роспотребнадзора от 2017 г., отмечается увеличение уровня заболеваемости корью

в России в 4,1 раза и составляет 0,49 на 100 тыс. населения (2016 г. — 0,12). Имеющиеся данные в целом соотносятся с уровнем заболеваемости в мире — 19 случаев на 1 млн человек [4].

В соответствии со стратегическим планом ВОЗ к 2020 г. планируется ликвидировать корь как минимум в пяти регионах ВОЗ. В нашей стране была разработана Программа «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) [6]. Согласно этой Программе, для снижения среди населения Российской Федерации числа лиц, восприимчивых к вирусу кори, были проведены дополнительные противоэпидемические мероприятия, направленные на увеличение охвата населения прививками. Одним из индикативных показателей успешности выполнения задач Программы является достижение и поддержание заболеваемости корью на уровне менее одного случая на 1 млн населения.

За последние несколько лет на территории РФ проводился ряд исследований по оценке напряженности гуморального иммунитета к вирусу кори (рис. 1).

Так, в Московской области при обследовании 939 образцов сывороток крови доноров выявлено 16,5% серонегативных лиц, максимальное количество которых приходится на возрастной интервал от 18 до 40 лет [8]. Похожая ситуация складывается в Перми, где наибольший процент восприимчивых лиц к вирусу кори (20% из 481 человек) наблюдается в возрасте от 18 до 35 лет [7]. Согласно другому исследо-

ванию, также проведенному в Москве, при обследовании медицинских работников и военнослужащих (866 человек) доля серонегативных лиц составила 19,4% [5]. При определении напряженности противокоревого иммунитета среди взрослого и детского населения (103 человека) в Ростове-на-Дону доля серонегативных лиц ($12,8 \pm 3,4\%$) приходилась на возраст от 22 до 26 лет [9]. При обследовании медицинских работников в Обнинске (467 образцов сыворотки крови) низкая напряженность противокоревого иммунитета выявила у 6% обследованных лиц [10].

Как известно, корь является вакциноуправляемой инфекцией. Первая в России массовая вакцинация детского населения была проведена в 1968 г. (однократная вакцинация в 15–18 месяцев; с 1986 г. — в 12 месяцев), что позволило значительно снизить заболеваемость, распространенность, развитие осложнений среди детей. Считается, что после введения противокоревой вакцины в 95% случаев формируется длительный гуморальный иммунитет [2]. В последующие годы вакцинация стала носить плановый характер. Согласно Национальному календарю профилактических прививок вакцинация против кори осуществляется в 1 год и в 6 лет. Подростки и взрослые до 35 лет, не привитые ранее, не имеющие сведений о прививках против кори и ранее не болевшие корью, прививаются двукратно с интервалом не менее 3 месяцев [3].

Поскольку единственным гарантом достижения элиминации коревой инфекции является обеспечение достаточного охвата населения вакцинопрофилактикой, основные силы и средства должны быть направлены на повышение охвата населения прививками. Особое внимание следует обратить на группы лиц, в которых уровень иммунитета может оказаться недостаточно высоким для прекращения эндемичной циркуляции вируса кори. К таким группам относятся лица, не вакцинированные надлежащим образом в прошлом, школьники и студенты, военнослужащие, работники медицинских и образовательных организаций.

Цель исследования — оценка уровня противокоревого иммунитета у медицинского персонала Клиник Самарского государственного медицинского университета и сотрудников ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет».

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 1503 человека в возрасте от 18 до 79 лет, из них 23,9% — мужчины, 75,7% — женщины. Все лица в возрасте до 55 лет, принявшие участие в исследова-

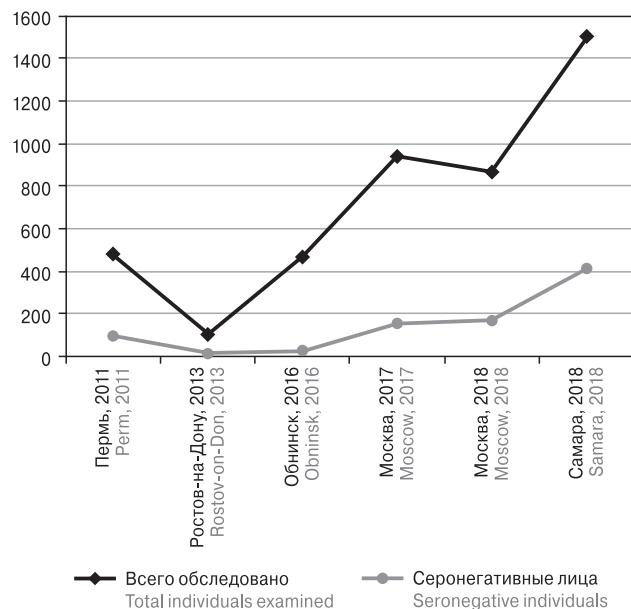


Рисунок 1. Результаты оценки уровня противокоревого иммунитета у различных групп населения в некоторых регионах Российской Федерации

Figure 1. The results of assessing of measles immunity in various groups of the population in some regions of the Russian Federation

нии (77,58%), имели документальные сведения о двукратной вакцинации против кори. У абсолютного большинства лиц старше 55 лет отсутствовали документальные подтверждения проведенной вакцинации и перенесенной коревой инфекции. Лица, имевшие абсолютные медицинские противопоказания к проведению вакцинопрофилактики (3 человека: 1 человек в возрасте до 55 лет, 2 человека — старше 55 лет), не были включены в исследование. Материалом исследования являлась венозная кровь, взятая в пробирки с активатором свертывания крови с применением вакуумных систем. После центрифугирования крови в полученной сыворотке определяли содержание IgG к вирусу кори методом иммуноферментного анализа с применением тест-системы «ВектоКорь-IgG» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Согласно инструкции, разработанной производителями тест-системы, результат исследования интерпретировался как положительный при уровне $IgG \geq 0,180$ МЕ/мл. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Excel 2016, IBM SPSS Statistics 11.0.

Результаты

При анализе результатов исследования были получены данные, представленные на рисунке 2. Средний показатель содержания IgG к ви-

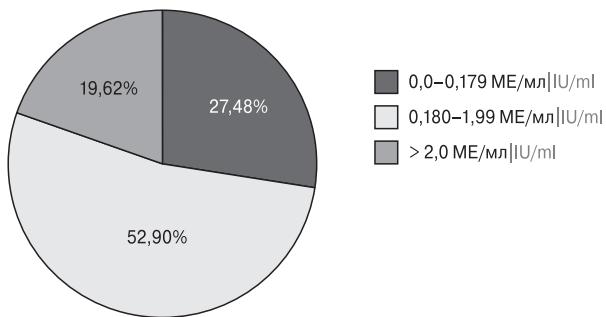


Рисунок 2. Содержание IgG к вирусу кори (МЕ/мл) у медицинского персонала Клиник Самарского государственного медицинского университета и сотрудников ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»

Figure 2. The concentration of IgG to measles virus (IU/ml) in the medical staff of the Clinics of Samara State Medical University and the staff of Samara State Medical University

русу кори в генеральной совокупности составил $1,02 \pm 0,02$ МЕ/мл (медиана — $0,614$ МЕ/мл).

Положительные результаты при определении уровня IgG к вирусу кори (более $0,180$ МЕ/мл) наблюдались у $72,52\%$ обследованных лиц. Для дальнейшего анализа, все положительные результаты были условно разделены на значения «среднего уровня» ($IgG 0,18–1,99$ МЕ/мл) и «высокого уровня» ($IgG \geq 2,0$ МЕ/мл). Содержание IgG к вирусу кори в диапазоне $0,18–1,99$ МЕ/мл ($0,967 \pm 0,64$ МЕ/мл) было характерно для $52,90\%$ обследованных лиц, средний возраст в данной группе составил $41,4 \pm 0,5$ лет. «Высокий уровень» показателя IgG к вирусу кори наблюдался

у $19,62\%$ обследованных лиц. Средний возраст в данной группе составил $54,2 \pm 0,72$ года.

Содержание IgG к вирусу кори в сыворотке крови ниже порогового значения $0,180$ МЕ/мл наблюдалось у $27,48\%$ обследованных лиц, что свидетельствовало об отсутствии противокоревого иммунитета у данной группы обследованных. Средний возраст в данной группе составил $33,25 \pm 0,53$ лет, а среднее содержание IgG к вирусу кори — $0,058$ МЕ/мл.

Распределение показателей «низкого», «среднего» и «высокого» уровней IgG к вирусу кори среди различных возрастных групп, согласно классификации ВОЗ, представлено на рисунке 3.

Результаты более детального рассмотрения закономерностей зависимости уровня противокоревого иммунитета от возраста представлены на рисунке 4.

Обсуждение

Среди 1503 обследованных более четверти лиц ($27,48\%$) не имели достаточного уровня IgG к вирусу кори для формирования противокоревого иммунитета. Несмотря на то что у всех обследованных лиц в возрасте до 55 лет ($77,58\%$) имелось документальное подтверждение проведенной двукратной вакцинопрофилактики, у $34,16\%$ вакцинированных содержание антител было ниже защитного при допустимом уровне $\leq 7\%$. Причем большая часть из них — лица молодого возраста, что свидетельствует о низком уровне специфического противокоревого иммунитета среди молодого взрослого населения. Особенно настораживает тот факт, что среди лиц с отсутствием им-

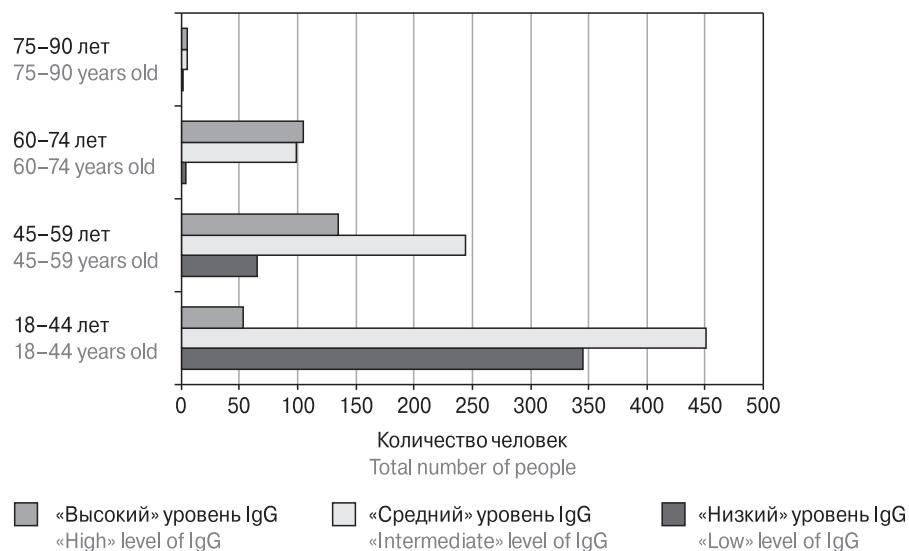


Рисунок 3. Распределение показателей «низкого», «среднего» и «высокого» уровней IgG к вирусу кори среди различных возрастных групп (классификация ВОЗ)

Figure 3. Distribution of «low», «intermediate» and «high» levels of IgG to measles virus among different age groups (WHO classification)

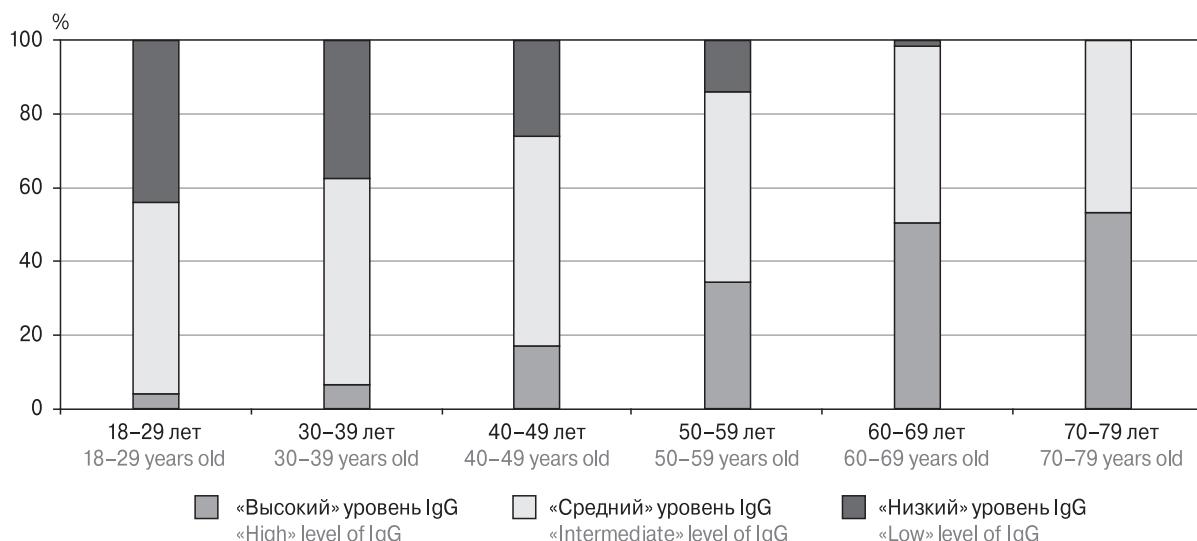


Рисунок 4. Зависимость уровня противокоревого иммунитета от возраста

Figure 4. The dependence of the level of measles immunity on age

мунитета к вирусу кори 67,8% — женщины детородного возраста, что потенциально может привести к росту распространенности коревой инфекции среди детей в довакцинальном периоде (до 12 месяцев).

В более старших возрастных группах отмечается следующая тенденция: с увеличением возраста наблюдается и увеличение среднего содержания IgG к вирусу кори.

При анализе зависимости уровня противокоревого иммунитета от возраста были выявлены следующие закономерности: при увеличении возраста, доля лиц с «высоким» содержанием IgG к вирусу кори растет, а с «низким» — снижается. С учетом отсутствия сведений об инфекционном анамнезе лиц старшей возрастной группы данный факт, вероятно, можно объяснить тем, что у представителей более старшего возраста, помимо постvakцинального иммунитета, имеется еще и приобретенный инфекционный после перенесенного заболевания, так как до введения массовой иммунизации вероятность заразиться вирусом кори была достаточна

велика. У представителей же молодого возраста вероятность встречи с возбудителем в естественной среде мала, что и обуславливает наличие среди них большой доли лиц с недостаточным уровнем иммунитета, даже постvakцинального. Вероятность требуемого эффекта от введения вакцины зависит от многих факторов: качества вакцины, соблюдения холодовой цепи при ее хранении и транспортировке, соблюдения интервалов и кратности ревакцинации, достоверности предоставляемой медицинской документации о вакцинации, наличия сопутствующих патологий, приема лекарственных препаратов, индивидуальных особенностей организма.

Таким образом, учитывая то, что среди обследуемых лиц с выявленным низким уровнем противокоревого иммунитета, значительная часть приходится на ранее вакцинированных, можно сделать вывод о том, что в молодом взрослом возрасте необходимо проводить исследование на содержание IgG к вирусу кори для решения вопроса о необходимости последующей ревакцинации.

Список литературы/References

1. ВОЗ. 7-е совещание Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи (PKB); июнь 13–15, 2018 г. Париж, Франция. [WHO. Seventh meeting of the European regional verification commission for measles and rubella elimination (RVC). June 13–15, 2018. Paris, France. (In Russ.)]
2. ВОЗ. Коревые вакцины: документ по позиции ВОЗ. [WHO. Measles vaccines: WHO position paper. (In Russ.)]
3. Ноздрачева А.В., Грицик А.А., Кузин С.Н., Семененко Т.А. Оценка фактической восприимчивости отдельных групп декретированного населения к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита // Вестник РГМУ. 2017. № 5. С. 58–62. [Nozdracheva A.V., Gritsik A.A., Kuzin S.N., Semenenko T.A. Estimating the actual susceptibility of decree population to Measles, Rubella and Mumps. Vestnik RGMU = Bulletin of RSMU, 2017, no. 5, pp. 58–62. doi: 10.24075/rsmu.2017-05-05 (In Russ.)]
4. Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. № 125н. [On approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations for epidemic indications: Order of the Ministry of health of the Russian Federation of March 21, 2014 N 125n. (In Russ.)]

5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: государственный доклад. [About sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2017: State Report. (*In Russ.*.)].
6. Программа «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) (утверждена Роспотребнадзором 28.12.2015, Минздравом России 31.12.2015). [The program «The elimination of measles and rubella in the Russian Federation» (2016–2020) (approved by Rospotrebnadzor 28.12.2015, Ministry of health 31.12.2015) (*In Russ.*.)]
7. Сармометов Е.В., Мокова Н.М., Вольдшмидт Н.Б., Сергеевин В.И., Цвиркун О.В., Метелкина Н.А. Оценка напряженности противокорового иммунитета у медицинских работников г. Перми // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. Т. 4, № 59. С. 45–48. [Sarmometov E.V., Mokova N.M., Vol'dshmidt N.B., Sergeevin V.I., Tsvirkun O.V., Metelkina N.A. Evaluation of measles immunity innnsity among medical workers in the city of Perm. *Epidemiologiya i vaktsinopropilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, vol. 4, no. 59, pp. 45–48. (*In Russ.*.)]
8. Семененко Т.А., Готвянская Т.П., Кудрявцева Е.Н., Русакова Е.В., Ноздрачева А.В., Евсеева Л.Ф., Корабельникова М.И., Дубоделов Д.В., Шмыр И.С., Кузин С.Н. Частота обнаружения антител к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита у зарегистрированных в Московской области иностранных граждан (трудовых мигрантов) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017. Т. 3, № 94. С. 11–15. [Semenenko T.A., Gotvyanetskaya T.P., Kudryavtseva E.N., Rusakova E.V., Nozdracheva A.V., Evseeva L.F., Korabel'nikova M.I., Dubodelov D.V., Shmyr I.S., Kuzin S.N. Seroprevalence of measles, rubella and mumps antibodies in foreign citizens registered in Moscow Region (labour migrants). *Epidemiologiya i vaktsinopropilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, vol. 3, no. 94, pp. 11–15. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-3-11-15 (*In Russ.*.)]
9. Сылка О.И., Харсеева Г.Г., Леонова И.А. Напряженность иммунитета к вирусу кори у населения г. Ростова-на-Дону // Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2013. № 1. С. 41–43. [Sylka O.I., Kharseeva G.G., Leonova I.A. Immunity stress for Measles vires in the population in the Rostov-on-Don. *Zhurnal fundamental'noi meditsiny i biologii = Journal of Fundamental Medicine and Biology*, 2013, no. 1, pp. 41–43. (*In Russ.*.)]
10. Чеботарева И.В., Северская Н.В. Оценка напряженности иммунитета к кори у сотрудников медицинского центра // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. № 9. С. 652. [Chebotareva I.V., Severskaya N.V. Immunity level evaluation to measles in medical center employees. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2016, no. 9, p. 652. (*In Russ.*.)]
11. WHO. A monthly summary of the epidemiological data on selected Vaccine-preventable diseases in the WHO European Region. Reported measles cases for the period January–December 2018 (data as of 01 February 2019).
12. WHO. 2018 Assessment report of the global vaccine action plan.

Авторы:

Сонис А.Г., д.м.н., профессор, проректор по клинической работе, зав. кафедрой общей хирургии СамГМУ ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ (СамГМУ), г. Самара, Россия; главный врач Клиник СамГМУ, г. Самара, Россия;
Гусякова О.А., д.м.н., зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия; зав. клинико-диагностической лабораторией Клиник СамГМУ, г. Самара, Россия;
Гильмиярова Ф.Н., заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия;
Ерешченко А.А., ассистент кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия; врач клинико-диагностической лаборатории Клиник СамГМУ, г. Самара, Россия;
Игнатова Н.К., к.м.н., доцент кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия; врач клинико-диагностической лаборатории Клиник СамГМУ, г. Самара, Россия;
Кузьмичева В.И., ординатор кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия;
Бородина И.А., ординатор кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ, г. Самара, Россия;
Неняжкин С.С., зав. отделением инфекционной безопасности и гигиены, врач-эпидемиолог Клиник СамГМУ, г. Самара, Россия.

Authors:

Sonis A.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Vice Rector for Clinical Work, Head of the Department of General Surgery, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation; Medical Director, Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Gusyakova O.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation; Head of the Clinical and Diagnostic Laboratory, Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Gilmilyarova F.N., Honored Worker of Science of the Russian Federation, PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Ereshchenko A.A., Assistant Professor, Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation; Pathologist, Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Ignatova N.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation; Pathologist, Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Kuzmicheva V.I., Resident Physician, Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Borodina I.A., Resident Physician, Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;
Nenjakin S.S., Head of The Department of Infectious Safety and Hygiene, Epidemiologist, Clinics of Samara State Medical University, Samara, Russian Federation.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА К КОРИ У ЛИЦ В ВОЗРАСТЕ СТАРШЕ 35 ЛЕТ

Л.В. Рубис^{1,2}¹Медицинский институт ФГБОУ ВО Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия²ГБУЗ Городская поликлиника № 4, г. Петрозаводск, Россия

Резюме. Высокий уровень заболеваемости корью, регистрируемый в стране в последние годы, с активным вовлечением в эпидемический процесс взрослого населения (около 40% больных) определяет актуальность изучения коллективного иммунитета в разных возрастных группах с целью оценки степени риска заболевания. В статье представлены результаты исследования наличия антител к вирусу кори у 402 жителей г.Петрозаводска: 164 лиц, родившихся в 1970–1983 гг. (36–50 лет) и 238 лиц, родившихся в 1948–1968 гг. (51–71 год). Выявлено, что во второй группе достоверно выше не только доля серопозитивных лиц ($94,1 \pm 1,5$ и $77,4 \pm 3,3\%$ соответственно), но и частота обнаружения IgG в высоких концентрациях (5 и более МЕ/л) — $39,7 \pm 3,5$ и $15,4 \pm 5,8\%$ соответственно. Анализ прививочного анамнеза показал, что из 351 человека с защитным уровнем антител были однократно или двукратно привиты 20,9%, из них 14 — в детстве и 63 — в течение 15 лет до исследования. Из 51 человека с отсутствием антител к кори или уровнем ниже защитного привиты 13,7%: пятеро в детстве, двое — в последние 15 лет. Среди лиц, родившихся в 1948–1968 гг., $87,1 \pm 2,2\%$ не имели сведений о прививках и, вероятно, не были привиты. При этом среди них доля обследованных с защитным уровнем антител была достоверно выше, чем в группе 36–50 лет — $87,1 \pm 2,2$ и $62,2 \pm 4,3\%$ соответственно. Факт перенесения кори в детстве отметили 23 человека. Из них антитела выявлены у 21 человека, в том числе у девяти в титре 5 и более МЕ/мл. Преобладание в группе родившихся до 1969 г., когда в Республике Карелия регистрировался высокий уровень заболеваемости (477–2176,0 на 100 тыс.), серопозитивных к кори лиц преимущественно с высокими титрами, свидетельствует о сохранении напряженного постинфекционного иммунитета. Отсутствие защитного уровня антител к вирусу кори у 22,6% лиц в возрасте 36–50 лет (1969–1983 гг. рождения), обусловленное низким уровнем постинфекционного и недостаточной напряженностью поствакцинального иммунитета, определяет их как группу высокого риска заражения.

Ключевые слова: корь, серологические исследования, вакцинация, коллективный иммунитет.

A SURVEY OF EXAMINING HERD MEASLES IMMUNITY IN ADULTS OVER 35 YEARS OLD

Rubis L.V.^{a,b}^a Medical Institute of Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation^b City Polyclinic No. 4, Petrozavodsk, Russian Federation

Abstract. A high measles incidence rate has been registered in Russia in recent years, with adults being actively involved in the epidemic process (about 40% of patients), thereby underlying relevance of assessing herd immunity in different

Адрес для переписки:

Рубис Людмила Викторовна
185034, Россия, Петрозаводск, ул. Нойбранденбургская, 1,
Городская поликлиника № 4.
Тел.: +8 921 469-20-78.
E-mail: rublusja@mail.ru

Contacts:

Lyudmila V. Rubis
184034, Russian Federation, Petrozavodsk,
Noibrandenburgskaja str., 1, City Polyclinic No. 4.
Phone: +7 921 469-20-78.
E-mail: rublusja@mail.ru

Библиографическое описание:

Рубис Л.В. Результаты изучения коллективного иммунитета к кори у лиц в возрасте старше 35 лет // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 381–386. doi: 10.15789/2220-7619-ASO-1302

Citation:

Rubis L.V. A survey of examining herd measles immunity in adults over 35 years old // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 381–386. doi: 10.15789/2220-7619-ASO-1302

age groups to measure its risk. The data on examining serum antibodies to measles virus in 402 residents of Petrozavodsk are shown: 164 and 238 subjects were born in 1948–1968 (51–71 years) and 1970–1983 (36–50 years), respectively. It was found that the second group had significantly higher percentage not only of seropositive persons (94.1 ± 1.5 vs. $77.4\pm3.3\%$, respectively), but also frequency of detected high IgG level (5 and more IU/l) reaching 39.7 ± 3.5 vs. $15.4\pm5.8\%$, respectively. Analysis of vaccination history showed that of 351 people with protective antibody levels, 20.9% were vaccinated once or twice, 14 of them in childhood and 63 within the 15 years prior to the study. Of the 51 people with no measles antibodies or below protective level, 13.7% were vaccinated: five in childhood, and two within the last 15 years. Among those who was born in 1948–1968, $87.1\pm2.2\%$ provided no information about previous vaccinations and probably were not vaccinated. In this group, percentage of those examined with a protective antibody level was significantly higher than in the 36–50 years group — 87.1 ± 2.2 and $62.2\pm4.3\%$, respectively. In addition, 23 subjects confirmed that they recovered after measles in childhood. Of these, antibodies were detected in 21 subjects, including 9 having serum titer at level of 5 or more IU/ml. Until 1969, the Republic of Karelia registered a high level of measles morbidity (477–2176,0 per 100 thousand). The predominance in the group born before 1969, individuals seropositive to measles mainly at high titer, indicates that intense post-infectious immunity was preserved. The lack of protective level of antibodies to measles virus in 22.6% of persons aged 36–50 years (1969–1983 year of birth), due to the low level of post-infectious and insufficient durability of post-vaccination immunity allowing to definer them as a high risk group for measles infection.

Key words: measles, serological studies, vaccination, herd immunity.

Введение

С 2011 г. в России начался подъем заболеваемости корью с закреплением в 2018 г. местной циркуляции некоторых генотипов вируса [6]. Пики заболеваемости регистрировались в 2014 и 2019 гг. (3,2 и 3,1 на 100 тыс. населения соответственно). Около 40% больных корью в стране в последние годы составляли взрослые [6, 7], но данные о возрастной структуре заболеваемости удалось найти лишь в одном исследовании, проведенном в Москве и Московской области [9]. Наиболее пораженной возрастной группой среди взрослых оказались лица в возрасте до 40 лет (80%), наименее — лица старше 50 лет (4%). О степени риска заболевания в зависимости от возраста можно было бы судить по результатам изучения коллективного иммунитета, однако для серологического мониторинга в качестве индикаторных определены возрастные группы до 49 лет [4]. Вместе с тем отдельные исследования, проведенные в последние годы в разных регионах страны, выявили существенные различия частоты обнаружения противокоревых антител в отдельных возрастных группах лиц старше 30-летнего возраста [2, 9, 10].

Республика Карелия с показателем заболеваемости 4,7 на 100 тыс. в 2018 г. вошла в число наиболее неблагополучных по кори субъектов страны [6] в результате развития вспышки с преимущественным вовлечением взрослого населения: 23 из 29 больных.

Цель настоящего исследования — изучить состояние коллективного иммунитета к кори в разных возрастных группах взрослого населения г. Петрозаводска старше 35 лет для определения эффективной тактики профилактических мероприятий.

Материалы и методы

Проанализированы результаты исследования крови на наличие антител класса G к вирусу кори у 402 человек (работников и пациентов поликлиник г. Петрозаводска), проведенных в 2014, 2016, 2018 и 2019 гг. Обследованные были разделены на 2 группы: 164 человека, родившихся в 1970–1983 гг. (36–50 лет к моменту исследования) и 238 человек, родившихся в 1948–1968 гг. (51–71 год к моменту исследования). У 238 человек с положительными результатами исследования (199 лиц в возрасте 51–71 года и 39 лиц в возрасте 36–50 лет) проведена оценка титров антител.

Серологические исследования осуществлялись в разных лабораториях: в клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Городская поликлиника № 4», в вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РК», в лаборатории ГБУЗ «Республиканская инфекционная больница» и коммерческих лабораториях с использованием автоматизированных иммуноферментных анализаторов. Защитный титр антител к вирусу кори определен только для методов РНГА (1:10) и РТГА (1:4) [4], при проведении ИФА серопозитивными к вирусу кори считаются лица с уровнем антител, указанным в инструкции к использованной тест-системе [5]. В данном исследовании применялись наборы реагентов для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G к вирусу кори в сыворотке крови «ВектоКорь-IgG» производства АО «Вектор-Бест» (Россия). Согласно инструкции по применению наборов, исследуемый образец считался отрицательным, если концентрация IgG к вирусу кори была ме-

нее 0,12 МЕ/мл, неопределенным — при концентрации от 0,12 до 0,18 МЕ/мл и положительным, если концентрация была больше или равна 0,18 МЕ/мл. Условно в качестве защитного был принят уровень 0,18 МЕ/мл.

Результаты исследования были сопоставлены с данными о прививочном анамнезе обследованных на основании записей в амбулаторных картах и о перенесенном ранее заболевании корью на основании информации, полученной от самих обследованных, а также с показателями заболеваемости корью на территории Республики Карелия с 1950 по 2018 гг. Оценка привитости детей в период с 1968 по 1977 гг. проведена на основании архивных материалов статистических отчетов о профилактических прививках в районах Республики Карелия. Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента ($P=0,95$).

Результаты

Из 402 обследованных лиц у $87,3 \pm 1,7\%$ титр антител к вирусу кори превышал уровень 0,18 МЕ/мл, у $1,5 \pm 0,6\%$ был в пределах 0,12–0,17 МЕ/мл и у $11,2 \pm 1,6\%$ оказался ниже 0,12 МЕ/мл (табл. 1). Доля лиц с защитным титром антител в группе родившихся в 1948–1968 гг. (возраст к моменту исследования — 51 год и старше) была достоверно выше, чем в группе родившихся в 1969–1983 гг. (36–50 лет) — $94,1 \pm 1,5$ и $77,4 \pm 3,3\%$ соответственно.

Данные о титрах антител к вирусу кори удалось проанализировать у 238 из 351 человека с положительными результатами исследования. Высокие титры антител (5 и выше МЕ/мл) имели $35,7 \pm 3,1\%$ человек, антитела в диапазонах 0,18–0,99; 1–2,99 и 3–4,99 МЕ/мл выявлялись практически с одинаковой частотой — от $20,6 \pm 2,6$ до $23,1 \pm 2,7\%$ соответственно (табл. 2). Однако у лиц, относящихся к разным возрастным группам, напряженность иммунитета существенно различалась. В возраст-

ной группе 36–50 лет (39 человек) у $43,6 \pm 7,9\%$ уровень антител не достигал 1 МЕ/мл и лишь у $15,4 \pm 5,8\%$ превышал 5 МЕ/мл. У лиц старше 51 года (199 человек) антитела в титрах 5 и более выявлялись в $39,7 \pm 3,5\%$, еще $24,6 \pm 3,1\%$ имели титры антител от 3 до 5 МЕ/мл и лишь у $16,1 \pm 2,6\%$ они были менее 1 МЕ/мл.

Факт перенесения кори в детстве отметили 23 человека. Из них титры антител 5 и более МЕ/мл имели девять, 3–4,99 МЕ/мл — шесть, 1–2,99 и 0,18–0,99 МЕ/мл — по три, 0,15 и 0,019 МЕ/мл — по одному человеку. Титр антител, соответствовавший отрицательному результату, выявлен у врача 52 лет, сообщившему о перенесенной в подростковом возрасте в среднетяжелой форме кори, потребовавшей госпитализации.

Сведения о прививках против кори имелись в медицинской документации 84 из 402 человек (20,9%). Из 351 человека с защитным уровнем антител привиты 77 (21,9%), из них 14 — в детстве и 63 — в течение 15 лет до исследования. Из 51 человека с отсутствием антител к кори или уровнем ниже защитного пятого (9,8%) были привиты в детстве (двою однократно, трое двукратно), двое в течение 15 лет до исследования (один однократно, один за 7 и 1 месяц до исследования). Среди лиц, не имеющих сведений о прививках, в возрастной группе 51–71 год доля лиц с защитным уровнем антител — $87,1 \pm 2,2\%$ (195 из 224 человек) оказалась достоверно выше, чем в группе 36–50 лет — $62,2 \pm 4,3\%$ (79 из 127 человек).

Обсуждение

Сопоставление результатов исследования крови на наличие антител к вирусу кори у лиц 36–50 лет и 51–71 года выявило существенные различия уровня коллективного иммунитета к инфекции в этих возрастных группах. В группе лиц, родившихся в 1948–1968 гг., по сравнению с родившимися в 1969–1983 гг., достоверно выше оказались не только доля серопозитивных лиц ($94,1 \pm 1,5$ и $77,4 \pm 3,3\%$ соответственно),

Таблица 1. Результаты исследования иммунитета к кори

Table 1. The results of a study of immunity to measles

Годы рождения/ возрастная группа Birth years/age group	Число обследованных Number of examined	Показатель Indicator	Результат исследования Research result		
			Положительный Pozitive	Неопределенный Undetectable	Отрицательный Negative
1948–1968 51–71 год/years	238	абс./abs.	224	2	12
		%	$94,1 \pm 1,5$	$0,8 \pm 0,6$	$5,1 \pm 1,4$
1969–1983 36–50 лет/years	164	абс./abs.	127	4	33
		%	$77,4 \pm 3,3$	$2,4 \pm 1,2$	$20,1 \pm 3,1$
Итого/Total	402	абс./abs.	351	6	45
		%	$87,3 \pm 1,7$	$1,5 \pm 0,6$	$11,2 \pm 1,6$

Таблица 2. Напряженность иммунитета к вирусу кори у лиц с уровнем антител выше защитного

Table 2. Intensity of immunity to measles virus in individuals with antibody levels above protective

Годы рождения/ возрастная группа Birth years/age group	Число обследованных Number of examined	Показатель Indicator	Титры антител к вирусу кори Measles antibody titers			
			0,18–0,99	1,0–2,99	3,0–4,99	≥ 5,0
1948–1968 51–71 год/years	199	абс./abs.	32	39	49	79
		%	16,1±2,6	19,6±2,8	24,6±3,1	39,7±3,5
1969–1983 36–50 лет/years	39	абс./abs.	1	10	6	6
		%	43,6±7,9	25,7±7,0	15,4±5,8	15,4±5,8
Итого/Total	238	абс./abs.	49	49	55	85
		%	20,6±2,6	20,6±2,6	23,1±2,7	35,7±3,1

но и частота обнаружения IgG в концентрации 5 и более МЕ/л — 39,7±3,5 и 15,4±5,8%. Уровень антител менее 1 МЕ/мл в старшей группе, наоборот, встречался в 2,7 раза реже, чем у лиц более молодого возраста: 16,1±2,6 и 43,6±7,9% соответственно. Не защищенными от кори среди лиц в возрасте 51–71 года оказались 5,9±1,5%, а 36–50 лет — 22,6±3,3%. Полученные результаты о частоте обнаружения серонегативных лиц согласуются с данными других авторов по группе 50 лет и старше: 5% [9], 4,7% [10], 0; 9,5 и 14,3% [2]. Среди более молодых лиц выявлялись показатели как соответствовавшие полученным в нашем исследовании, так и отличающиеся: 30–39 лет — 16,1; 25,6 и 38,1% [2], около 32% [9], 7,1% [10]; 40–49 лет — 0; 18,2 и 34,5% [2], 10,9% [10], около 15% [9].

Высокий уровень коллективного иммунитета к кори у лиц, родившихся в 1948–1968 гг., не определялся иммунизацией: 87,1±2,2% не имели сведений о прививках, достоверно не прививались последние 15 лет и, вероятно, не были привиты ранее. Лица, имевшие сведения о прививках, в основном, были вакцинированы в детстве, в 1968–1972 гг. Вакцинация де-

тей против кори в Карелии, как и еще в ряде pilotных регионов, была начата в 1968 г., за 5 лет до введения плановой вакцинации по всей стране [8]. В период с 1968 по 1977 гг. в республике ежегодно прививалось от 10 до 17 тыс. детей. Число новорожденных в эти годы составляло около 11 тыс., следовательно, помимо детей второго года жизни частично прививались не болевшие корью дети более старших возрастов.

Среди лиц 36–50 лет с защитным уровнем антител документально подтвержденные 1 или 2 прививки против кори имели в анамнезе 48 из 127 человек (37,8%), но, по-видимому, доля вакцинированных в этой группе значительно выше, так как часть обследованных, родившихся после 1970 г., отмечала получение прививки в детстве, но не имела подтверждения этого факта в медицинской документации. Часть двукратно привитых вторую дозу вакцины получила в детстве, так как ревакцинация детей в Карелии проводится с 1982 г. [8], в то время как во всей стране она была введена в 1997 г. Но большинство было ревакцинировано с 2005 г., когда в республике началась иммунизация взрослого населения.

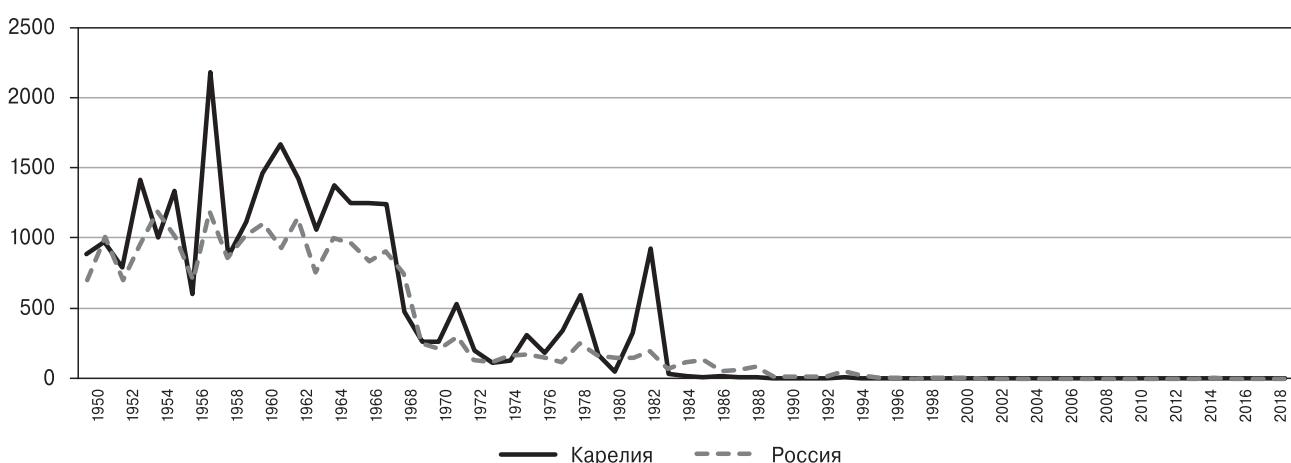
**Рисунок. Заболеваемость корью в России и Республике Карелия в период 1950–2018 гг. (на 100 тыс.)**

Figure. The incidence of measles in Russia and the Republic of Karelia in the period 1950–2018. (per 100 thousand)

Заболеваемость корью в республике в 1950–1967 гг. регистрировалась на уровне 605–2176,0, в среднем составляя 1215,9 на 100 тыс. населения (рис.). В этот период в Петрозаводске регистрировалось около 28% от числа больных в республике. После введения вакцинации заболеваемость снизилась с 1242,5 на 100 тыс. в 1967 г. до 477,9 на 100 тыс. в 1968 г., среднемноголетний уровень в период с 1968 по 1982 г. составил 325,6 на 100 тыс. с колебаниями от 48,5 на 100 тыс. в 1980 до 928,2 на 100 тыс. в 1982 г. После введения ревакцинации заболеваемость снизилась до 36,6 на 100 тыс. в 1983 г. и продолжала снижаться до уровня 0,1 на 100 тыс. в 1999 г. С 2000 имели место лишь завозы кори: в 2006 и 2007 гг. (по 1 случаю) и в 2018 г. с формированием очага 29 случаев. Многолетняя динамика и уровень заболеваемости в Карелии аналогичны показателям по России (рис.), где интенсивное снижение заболеваемости также началось с 1968 г., что, по-видимому, было связано с проведением вакцинации в ряде регионов еще до введения ее по всей стране.

Преобладание в нашем исследовании среди родившихся в годы высокой активности эпидемического процесса кори лиц, не отмечавших факта заболевания и не привитых против кори, но имеющих противокоревые антитела, причем преимущественно в высоких титрах, свидетельствует о сохранении у них напряженного постинфекционного иммунитета, приобретенного в результате перенесения бессимптомных и стертых форм заболевания. Это подтверждают и данные о концентрации IgG к кори у лиц, у которых в детстве было диагностировано заболевание (низкий титр антител у двух человек мог быть связан с индивидуальными особенностями их иммунного ответа). На основании результатов исследования, полученных нами и другими авторами [9, 10], риск заболевания корью населения в возрасте старше 50 лет можно оценивать как низкий. Это ставит под сомнение целесообразность вакцинации отдельных контингентов (работников медицинских и образовательных учреждений; лиц, направляемых на плановую госпитализацию) в этой возрастной группе. Вакцинация за несколько дней до поступления в стационар представляется нецелесообразной еще и в силу того, что пожилой возраст и стрессовое воздействие различных оперативных вмешательств снижают активность формирования поствакцинального иммунитета. Следует отметить, что нормативные документы не предполагают запрет на плановую госпитализацию непривитых лиц: федеральный закон «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней» № 157-ФЗ от 17.09.1998 г. в случае возникновения массовых инфекционных заболеваний или

при угрозе возникновения эпидемии предусматривает отказ в приеме непривитых граждан только в образовательные организации и оздоровительные, но не медицинские учреждения, а санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2952-11 «Профилактика кори, краснухи и эпидемического паротита» запрещают плановую госпитализацию непривитых только из числа лиц, контактировавших с больным.

Отсутствие защитного уровня антител к вирусу кори у 22,6% лиц в возрасте 36–50 лет (1969–1983 гг. рождения) определяет их как группу высокого риска заражения. Недостаточная защищенность этой части населения, родившейся в период снижения циркуляции дикого вируса, может объясняться как резко сократившимся числом лиц с постинфекционным иммунитетом, так и недостаточной напряженностью поствакцинального иммунитета. Последнее обусловлено отсутствием ревакцинации или естественного бустер-эффекта, а также с недостаточной иммуногенностью вакцины. Так, по данным Санкт-Петербургского НИИЭМ им. Пастера, с 1982 г. в результате гиператтенуации вакцинного штамма наблюдалось снижение иммуногенной активности промышленных серий живой коревой вакцины, что выражалось в значительном увеличении среди привитых доли детей с низкими титрами антител. Выпуск вакцины с использованием штамма с восстановленной иммуногенностью начался лишь в 1996 г. в отдельных регионах, к которым относилась и Карелия; она начала использоваться с 1993 г. [3]. Возможные нарушения температурных условий хранения живой лиофилизированной вакцины в эти годы оказывали меньшее влияние на иммуногенность вакцины. Так, в неразведенном состоянии она характеризуется достаточно высокой термостабильностью: в сухом виде при +22...+25°C сохраняет стабильность в течение месяца [1]. Применение в 80-х — начале 90-х гг. прошлого века недостаточно иммуногенной вакцины на территориях с низким уровнем заболеваемости корью привело к появлению среди населения 36–50 лет значительной прослойки лиц с отсутствием защитного уровня антител к вирусу, что определяет важность обеспечения высокого охвата ревакцинацией этой возрастной группы.

По оценке специалистов ВОЗ, ограничение циркуляции вируса кори в популяции наступает, когда коллективный иммунитет превышает 95% [11], в связи с чем критерием эпидемиологического благополучия принято считать выявление в индикаторных группах не более 7% сeroнегативных к вирусу кори лиц [5]. Результаты нашего исследования свидетельствуют о возможности распространения кори среди взрослого населения Петрозаводска, преимущественно до 50-летнего возраста.

Выходы

1. Лица в возрасте старше 50 лет имеют высокий уровень напряженного коллективного постинфекционного иммунитета к кори; доля лиц, имеющих защитный уровень антител составила 94,1%.
2. Наличие в возрастной группе 36–50 лет значительной доли лиц (22,6%), не имеющих

защитного уровня антител к вирусу кори, обусловленное рядом факторов, определяет их как группу риска заражения.

3. Поствакцинальный иммунитет, сформированный в ответ на введение живой коревой вакцины, уступает по напряженности постинфекционному и в условиях спорадической заболеваемости требует стимуляции в виде ревакцинаций.

Список литературы/References

1. Галазка А. Общая иммунология. Женева: ВОЗ, 1993. 29 с. [Galazka A. General immunology. Geneva: WHO, 1993. 29 p. (In Russ.)]
2. Голубкова А.А., Платонова Т.А., Харитонов А.Н., Сергеев А.Г., Леленкова Е.В., Южанина Т.С. Эпидемический процесс коревой инфекции в период ее элиминации и стратегические направления контроля в условиях реального времени // Пермский медицинский журнал. 2017. Т. 34, № 4. С. 67–73. [Golubkova A.A., Platonova T.A., Kharitonov A.N., Sergeev A.G., Lelenkova E.V., Yuzhanina T.S. Epidemic process of measles infection during its elimination and strategic directions of control in real time conditions. *Permskiy meditsinskij zhurnal = Permsky Medical Journal*, 2017, vol. 34, no. 4, pp. 67–73 (In Russ.)]
3. Инфекционная заболеваемость в Северо-Западном федеральном округе России. Совершенствование технологий эпидемиологического надзора и профилактики. Аналитический обзор. СПб.: СПбНИИЭМ им. Пастера, 2001. С. 17–18. [Incidence of infectious disease in the North-Western Federal district of Russia. Improvement of technologies of epidemiological surveillance and prevention. Analytical review. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2001, pp. 17–18. (In Russ.)]
4. Медуницаин Н.В., Олефир Ю.В., Меркулов В.А., Бондарев В.П. Персональный и коллективный иммунитет при вакцинации // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016. Т. 16, № 4. С. 195–207. [Medunitsyn N.V., Olefir Yu.V., Merkulov V.A., Bondarev V.P. Personal and collective immunity during vaccination. *Profilaktika, diagnostika, lechenie = Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 195–207. (In Russ.)]
5. МУ 3.1.2943-11. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической. [MU 3.1.2943–11. Organization and conduct of serological monitoring of the state of collective immunity to infections controlled by specific prevention means (diphtheria, tetanus, measles, rubella, mumps, polio, hepatitis B). Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2011. 11 p.]
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2018 году. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. С. 140–142. [On the State of sanitary and epidemiological wellbeing of the population of the Russian Federation in 2018. State report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2019, pp. 140–142. (In Russ.)]
7. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2017 году. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. 135 с. [On the State of sanitary and epidemiological wellbeing of the population of the Russian Federation in 2017. State report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2018. 135 p.]
8. Рыкушин Ю.П. Эпидемиологические обоснования ликвидации инфекционных болезней. Актовая речь. Л.: Изд. НИИЭМ им. Пастера, 1988. С. 17–21. [Rikusin Y.P. Epidemiological rationale for the elimination of infectious diseases. Assembly speech. Leningrad: Pasteur Institute, 1988, pp. 17–21. (In Russ.)]
9. Топтыгина А.П., Смердова М.А., Наумова М.А., Владимирова Н.П., Мамаева Т.А. Влияние особенностей популяционного иммунитета на структуру заболеваемости корью и краснухой // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 341–348. [Topptygina A.P., Smerdova M.A., Naumova M.A., Vladimirova N.P., Mamaeva T.A. Influence of population immunity peculiarities on the structure of measles and rubella prevalence. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 341–348. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-341-348 (In Russ.)]
10. Червякова Е.М., Медведева Э.Я., Галкина А.А., Микаэлян С.М., Цой Е.Р., Высоцкая И.В. Анализ напряженности иммунитета к вирусу кори и определение коллективного иммунитета у персонала двух крупных стационаров г. Санкт-Петербурга // Проблемы медицинской микологии. 2019. Т. 21, № 2. С. 148. [Chervyakova E.M., Medvedeva E.Ya., Galkina A.A., Mikaelyan S.M., Tsoi E.R., Vysotskaya I.V. Analysis of immunity tension to measles virus and determination of collective immunity in the personnel of two large hospitals of St. Petersburg. *Problemy meditsinskoy mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2019, vol. 21, no. 2, p. 148 (In Russ.)]
11. Элиминация кори и краснухи. Основы процесса верификации в Европейском регионе ВОЗ. Женева: ВОЗ, 2012. 30 с. [Elimination of measles and rubella. Fundamentals of the verification process in the who European region. Geneva: WHO, 2012. 30 p.]

Автор:

Рубис Л.В., к.м.н., доцент кафедры факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии, Медицинский институт ФГБОУ ВО Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия; врач-эпидемиолог ГБУЗ Городская поликлиника № 4, г. Петрозаводск, Россия.

Author:

Rubis L.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Faculty Therapy, Phthisiology, Infectious Diseases and Epidemiology, Medical Institute of Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation; Epidemiologist of City Polyclinic No. 4, Petrozavodsk, Russian Federation.

ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА **VARICELLA-ZOSTER**

**Ф.Г. Нагиева, Е.П. Баркова, А.Н. Лисаков, А.В. Сидоров, В.В. Зверев,
О.В. Осокина, А.Д. Строева**

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Резюме. До настоящего времени принято считать, что инфекционность вируса varicella-zoster (VZV — varicella-zoster virus) остается тесно связанной с клеткой, и вновь сформированный вирус не высвобождается в культуральную среду. Известно также, что VZV трудно выращивать в клеточных культурах, поскольку он медленно реплицируется, имеет ограниченный спектр чувствительных клеточных культур. Кроме того, изоляция VZV зависит от вида использованных клеточных культур, характера клинического материала, наличия жизнеспособного вируса и времени транспортировки. Цель работы: изучение продукции инфекционного внеклеточного VZV с использованием различных клеточных культур. *Материалы и методы.* В работе использовали 8 различных клеточных культур, включая диплоидные клетки легких эмбриона человека и кожно-мышечную ткань эмбриона человека (КМ-27), а также перевиваемые клеточные линии человека и обезьян. В качестве клинических изолятов были использованы корочки от везикулярной сыпи, которые помещали в криопробирки с транспортной средой и транспортировали в жидким азоте. Инфекционность VZV оценивали на инфицированных клеточных культурах по реакции гемадсорбции со взвесью эритроцитов морских свинок или человека с нулевой группой крови и подтверждали в реакции непрямой иммунофлуоресценции с поликлональными сыворотками от людей, переболевших опоясывающим герпесом. *Результаты.* В работе было исследовано 27 клинических образцов в виде корочек от везикулярной сыпи от пациентов, заболевших ветрянкой, и один образец от пациента в возрасте 63 лет в фазе обострения рецидивирующего опоясывающего герпеса. Первичное заражение клиническими изолятами проводили на штаммах диплоидных клеток легких эмбриона человека (ЛЭЧ-3) при низких температурах. Было установлено, что корочки от везикулярной сыпи, взятые от пациентов с 1 по 18 сут включительно с момента появления сыпи, вызывали на монослое клеток ЛЭЧ-3 цитопатическое действие в виде цитолиза клеток вокруг корочки. Специфичность ЦПД подтверждали ПЦР-РВ. Для оценки иммунных сывороток были приготовлены вирусные антигены на 7 клеточных линиях, зараженных лабораторным штаммом «Ellen» VZV (США). Была обнаружена высокая специфическая анти-VZV активность мышиных сывороток в ИФА при использовании в качестве твердофазного сорбента всех использованных лизатов инфицированных клеточных линий. В экспериментах по репродукции VZV было установлено, что внеклеточный вирус высвобождается в культуральную среду с 1 суток с момента инфицирования чувствительных клеток, и инфекционность вирусодержащей жидкости увеличивается в процессе дальнейшего культивирования.

Ключевые слова: varicella-zoster, herpes zoster, культура клеток, клинический изолят, репродукция вируса, реакция гемадсорбции, иммунофлуоресцентный анализ, моноклональные антитела, ПЦР в реальном времени, индивидуальные вирусные сборы.

Адрес для переписки:

Нагиева Фирая Галиевна
115088, Россия, Москва, ул. 1-я Дубровская, 15, стр. 1,
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 (495) 674-76-45 (служебн.); 8 916 272-79-01 (моб.).
E-mail: fgn42@yandex.ru

Contacts:

Firaya G. Nagieva
115088, Russian Federation, Moscow, 1st Dubrovskaya str., 15/1,
Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera.
Phone: +7 (495) 674-76-45 (office); +7 916 272-79-01 (mobile).
E-mail: fgn42@yandex.ru

Библиографическое описание:

Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Лисаков А.Н., Сидоров А.В., Зверев В.В.,
Осокина О.В., Строева А.Д. Практические аспекты выявления,
культивирования и характеристики клинических изолятов вируса
varicella-zoster // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 387–396.
doi: 10.15789/2220-7619-PAO-1211

Citation:

Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V.V.,
Osokina O.V., Stroeva A.D. Practical aspects on identification, cultivation
and characteristics of varicella-zoster virus isolates // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2020, vol. 10, no. 2,
pp. 387–396. doi: 10.15789/2220-7619-PAO-1211

PRACTICAL ASPECTS ON IDENTIFICATION, CULTIVATION AND CHARACTERISTICS OF VARICELLA-ZOSTER VIRUS ISOLATES

Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V.V., Osokina O.V., Stroeva A.D.

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. Anjaparidze Virology Branch

Abstract. Until now, it has been considered that infectivity of the varicella-zoster virus (VZV) is closely related to target cell, and newly formed virus is not released into the culture medium. It is also known that it is hard to grow VZV in cell cultures, due to its slow replication rate and a limited range of sensitive cell cultures. In addition, VZV isolation depends on type of cell culture used, nature of clinical material, presence of viable virus and transport time. Objectives. To study production of infectious extracellular VZV in various cell cultures. *Materials and methods.* Eight cell cultures were used, including human embryonic diploid lung cells and human embryonic dermomuscular tissue (KM-27), as well as continuous human and monkey cell lines. Crusts detached from vesicular lesions were used as clinical isolates, which were placed into cryo-vials added with transport medium and transferred in liquid nitrogen. VZV infectivity was assessed in cell cultures by using hemo-adsorption assay with erythrocyte suspension isolated from guinea pig or human zero group blood and confirmed by indirect immunofluorescence with polyclonal sera from varicella or herpes zoster convalescents. Results. There were examined 27 clinical samples consisting of crusts from vesicular lesions isolated from patients with chickenpox, as well as one sample from 63-year old patient with exacerbated recurrent herpes zoster. Primary infection with clinical isolates was performed on diploid human lung embryo cells (HLEC) at low temperature. It was found that clinical samples collected within day 1–18 inclusive after the onset of skin eruption were able to induce cytopathic effects in HLEC cell monolayer such as cytolysis around dermal crusts. Specificity of cytopathic effect was confirmed by using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Viral antigens were prepared on 7 cell lines infected with the laboratory strain Ellen VZV (USA) to assess the immune sera. A high anti-VZV specificity of mouse sera was detected by ELISA while all the lysates of infected cell lines were used as the solid-phase sorbent. In experiments on VZV reproduction demonstrated that extracellular virus was released into the culture medium starting from day 1 after infection of target cells, and infectivity of the virus-containing fluid ascends during further cultivation.

Key words: Varicella-zoster virus, cell culture, clinical isolate, virus reproduction, hemo-adsorption reaction, immunofluorescent analysis, monoclonal antibodies, real-time PCR assay, individual virus collecting.

Введение

Varicella-zoster virus (VZV) является этиологическим агентом ветряной оспы и опоясывающего герпеса (Herpes zoster – HZ) и может вызывать тяжелые системные инфекции центральной нервной системы и респираторного тракта у пациентов с иммунодефицитами. Последние могут также страдать от диссеминированных заболеваний многочисленных органных систем [2, 7, 8, 9, 13, 17]. Инфицирование VZV серонегативной беременной женщины в первом триместре беременности может вызывать инфицирование плода в 1% случаев, что порой может привести к уродству плода. Инфицирование женщин во втором или третьем триместре беременности может распространяться на плод и вызвать реактивацию латентного вируса в сенсорных нервных ганглиях, приводя к HZ. Нет детального объяснения появления HZ у младенцев или у матери на поздних стадиях беременности [3].

До настоящего времени принято считать, что инфекционность VZV остается тесно связанной с клеткой, и вновь сформированный вирус не высвобождается в культуральную среду. Тесная ассоциация VZV с клеткой основывалась на экспериментальных данных. Было показано, что вновь сконструированные вирусные

частицы переходят в поздние эндосомы клетки, содержащие кислые энзимы, где они деградируют. Деградированные вирионы являются плеоморфными и неинфекционными [3, 4, 6, 11].

Цель работы: оптимизация способа выявления, культивирования и оценки репродукции *in vitro* внеклеточного инфекционного VZV с использованием различных клеточных культур.

Материалы и методы

Культуры клеток. В работе использовали штамм диплоидных клеток легких эмбриона человека (ЛЭЧ-3), штамм диплоидных клеток кожно-мышечной ткани эмбриона человека (KM-27), перевиваемые клеточные линии Hela, Нер-2, Л-41, Vero (клон Е6), Vero CCL-81, клетки меланомы человека (MeWo).

Диплоидные клеточные культуры выращивали на питательной среде ДМЕМ/F-12 (PanEco, США) с 10 mM НЕПЕС, с 5% эмбриональной сыворотки коров (ЭСК) (HyClone, США) с добавлением 2 mM L-глутамина и 40 мкг/мл гентамицина.

Перевиваемые клеточные линии выращивали на среде ДМЕМ с 5% ЭСК (PAA Laboratories GmbH, Австрия) с добавлением 2 mM глутамина и 40 мкг/мл гентамицина.

Ферменты. В работе использовали Тац-полимеразу фирмы «Синтол» (Москва, Россия).

Получение клинических изолятов от пациентов с ветряной оспой и опоясывающим герпесом. Клинический материал от инфицированных пациентов в виде корочек от везикулярной сыпи был взят в различные сроки от первого дня появления сыпи. Корочки непосредственно переносили в жидкий азот в криопробирках с транспортной средой. Транспортная среда состояла из 1 мл питательной среды ДМЕМ/F12, с 10 мМ НЕРПЕС, 5% ЭСК, 100 мкг/мл канамицина и 5 мкг/мл Micokill (противогрибковый препарат фирмы PAA Laboratories GmbH, Австрия).

Изоляция VZV в культуре клеток. Вирусы изолировали путем переноса корочек от везикулярной сыпи в транспортной среде на монослой диплоидных клеток ЛЭЧ-3, выращенных в культуральных флаконах площадью 25 см², вносили 4 мл поддерживающей питательной среды ДМЕМ с 2% ЭСК. Культивирование проводили в термостате при температуре 30°C до появления цитопатического действия (ЦПД) вируса вокруг корочки от везикул, в основном, от 2 до 12 сут. Культуральный флакон с инфицированными клетками двукратно замораживали при -70°C с последующим оттаиванием при +4°C. Клеточную взвесь центрифugировали при 1000 об./мин в течение 10 мин, отбирали надосадочную жидкость в которую вносили стабилизатор, разливали надосадочную жидкость в ампулы по 0,5 мл и переносили на -70°C до использования.

Определение инфекционной активности VZV. Определение инфекционной активности вируса проводили на клеточной культуре КМ-27, выращенной на двух 24-луночных планшетах. Посевная концентрация клеток составляла 100×10^3 клеток на лунку. Вируссодержащую жидкость (ВСЖ) разводили десятикратно с 10⁻¹ до 10⁻¹⁰, затем в лунки двух планшет с клеточными тест-культурами вносили по 0,1 мл ВСЖ в разных разведениях. Контакт ВСЖ с клеточным монослоем продолжался 1,0–1,5 ч при 36,5°C в атмосфере с 5% CO₂. Один планшет с инфицированными клетками использовали для постановки реакции гемадсорбции, другой — для постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции. Результаты титрования в реакции гемадсорбции с 0,25% взвесью эритроцитов морской свинки или эритроцитов человека группы крови 0 (I) (Rh+), учитывали на 7–9 сутки с момента инфицирования. За титр вируса принимали максимальное разведение вируса, вызывающее гемадсорбцию в 50% инфицированных культур, при отсутствии гемадсорбции в контрольных неинфицированных культурах. Титр вируса выражали в гемадсорбирующих единицах в 0,1 мл (ГАДЕ 50/0,1 мл). Реакцию гемадсорбции подтверждали в непрямой реакции иммунофлуоресценции с сыворотками от па-

циентов, переболевших опоясывающим герпесом. Титр вируса выражали в иммунофлуоресцирующих фокусах в 0,1 мл (ИФ₅₀/0,1 мл).

Постановка реакции гемадсорбции. Готовили 0,25% взвесь эритроцитов морской свинки или человека путем трехкратного отмывания эритроцитов 0,9% изотоническим раствором NaCl. По 0,3 мл взвеси эритроцитов вносили в лунки планшет с инфицированными клетками. Клетки с эритроцитами выдерживали 30 мин при +4°...+8°C и дополнительно выдерживали 30 мин при комнатной температуре. Затем лунки планшета трехкратно отмывали от эритроцитов 0,9% изотоническим раствором NaCl и регистрировали наличие или отсутствие гемадсорбции в световом микроскопе (увеличение ×70).

Постановка реакции непрямой иммунофлуоресценции. Планшет с инфицированными клетками замораживали при -20°C. Из каждой лунки с инфицированными клетками готовили препарат на предметном стекле, высушивали при комнатной температуре и фиксировали 2% параформальдегидом, предварительно дважды фильтрованным через миллипоровый фильтр с размером пор 0,22 мкм (Millex-GV). Фиксированные клетки промывали дистиллированной водой, после легкого высушивания на препарат наносили по 30 мкл вирусспецифической сыворотки и выдерживали 45 мин во влажной камере при 37°C. Затем на препарат наносили конъюгат «белок А-ФИТЦ» (Sigma, США) в рабочем разведении с контрастирующей краской Эванс голубой (Biochem, Франция) и выдерживали 30 мин во влажной камере при 37°C. Учет реакции проводили под люминесцентным микроскопом «Optika» (Италия) при длине волны 510–550 нм (увеличение ×40 или ×100).

Дифференцирование VZV от вирусов герпеса простого типа 1 и 2 с помощью моноклональных антител (МКА). МКА-1Н-110 реагировали только с вирусом герпеса простого 1 типа и были направлены к гликопротеиду gB, а МКА-2Н-208 реагировали только с вирусом герпеса простого 2 типа и были направлены к гликопротеиду gD. МКА получали путем введения соответствующих мышиных лимфоцитарных гибридом в брюшную полость сингенных мышей линии BALB/c. Полученные асцитические жидкости концентрировали и очищали по методу, описанному ранее [14].

Получение поликлональной мышиной анти-VZV-специфической иммунной сыворотки. Пятинедельных самок мышей линии BALB/c, свободных от патогенной флоры (Spf), иммунизировали внутрибрюшинно вируссодержащей жидкостью (ВСЖ) лабораторного штамма «Ellen» (США) с титром 5,0 lg ГАДЕ₅₀/0,1 мл. Проводили

3 цикла иммунизации с интервалами 2–3 недели, каждый цикл включал внутрибрюшинное введение ВСЖ штамма «Ellen» по 0,5 мл 3 дня подряд.

Определение специфической активности мышных иммунных сывороток в непрямой ИФА. ИФА тест-систему создавали по методу [15] в нашей модификации. Коротко: лизаты клеток, инфицированных лабораторным штаммом «Ellen» VZV разрушали ультразвуковым дезинтегратором, определяли концентрацию белка на спектрофотометре NanoPhotometer NP 80-Touch (Германия) и по 50 мкл лизата с концентрацией 100 мкг/мл вносили в лунки 96-луночных иммунологических планшет (Nunc, Дания). Планшеты с антигеном сушили в терmostате при 37°C в течение 18–20 ч. В качестве коньюгата использовали антимышиную козлиную сыворотку (Bio-Rad, США) в рабочем разведении.

В качестве VZV-иммunoсорбентов для ИФА использовали лизаты клеток КМ-27, Hela, Нер-2, Л-41, Vero CCL-81, Vero (клон Е6), MeWo, инфицированных штаммом «Ellen» VZV. В качестве отрицательного контроля применяли неиммунные сыворотки Spf мышей линии BALB/c. Постановку ИФА проводили общепринятым методом.

Выделение ДНК VZV. Тотальную ДНК выделяли из клеточных линий MeWo, инфицированных клиническими изолятами вируса, которые предварительно пассировали в диплоидных клетках легких эмбриона человека при низких температурах. Для получения образцов ДНК был использован набор для выделения тотальной ДНК «К-сorb» (Синтол, Москва). Выделение проводили по протоколу производителя с некоторыми модификациями, а именно: при обработке образцов протеиназой K время инкубации увеличивали до 16–20 часов. Полученные образцы, содержащие как вирусную, так и клеточную ДНК, использовали в дальнейшем в качестве матрицы в полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Определение вирусной ДНК ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов (вариант TaqMan зондов). Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей, а также конструирование праймеров и проб для ПЦР-РВ проводили в программном обеспечении

«Vector NTI 11» с использованием материалов доступной нуклеотидной базы данных GenBank. Праймеры и пробы были синтезированы в фирме «Синтол» (Москва, Россия).

Дизайн и выбор вариантов проведения реакций амплификации для определения вирусной ДНК были проведены ранее [1], в дальнейших экспериментах использовали вариант амплификации фрагмента гена вируса orf29 с TaqMan зондом [5], в котором появление сигнала обусловлено 5'-экзонуклеазной активностью Таq полимеразы, отщепляющей от зонда флуоресцентный маркер после его гибридизации на матрице вирусной ДНК. При этом флуоресценция самого зонда подавляется тушителем, расположенным на его 3'-конце. Последовательности праймеров и использованный зонд, а также локализация гена, из которых они получены, представлены в таблице 1.

В ходе ряда экспериментов были оптимизированы условия проведения реакции, а именно: объем реакционной смеси, составивший 25 мкл; состав реакционной смеси с содержанием нижеперечисленных компонентов в следующих конечных концентрациях: 0,5 мкМ каждого праймера, 1 мкМ флуоресцентного зонда, 1 ед. Таq-полимеразы, однократный буфер для проведения реакции от производителя полимеразы с содержанием 1,5 мМ MgCl₂ и 0,2 мМ дНТФ, а также 3 мкл ДНК матрицы. ПЦР-РВ проводили на амплификаторе ДТ-96 («ДНК-Технология», Россия) по следующей программе: предварительная денатурация 95°C — 2 мин; 45 циклов: 95°C — 15 с; 55°C — 60 с с учетом флуоресценции по каналу FAM при температуре 55°C во время каждого цикла.

Учет результатов реакции осуществляли с помощью программного обеспечения «Real-Time PCR» прибора «ДТ-96».

Результаты

От пациентов с ветряной оспой получили 27 клинических образцов и один образец от пациента с начальной фазой обострения рецидивирующего опоясывающего герпеса. В таблице 2 представлена информация о пациентах.

Большая часть клинических образцов изолирована от военнослужащих первого года

Таблица 1. Олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно-меченный гибридизационный зонд для выявления ДНК VZV методом ПЦР-РВ

Table 1. Oligonucleotide primers and TaqMan probe for the detection of VZV DNA by real time PCR

Название Name	Характеристика Characteristic	Нуклеотидная последовательность (5'→3') Nucleotide sequence (5'→3')	Мишень Target
VZV-29-F	Прямой/Forward	CAGGTATTTTCAGTCCTCTTCAAGTG	orf 29
VZV-29-R	Обратный/Reverse	TTAGACGTGGAGTTGACATCGTT	
VZV-29-Z	Флуоресцентный зонд/Fluorescent probe	FAM-TACCGCCCGTGGAGCGCG-BHQ1	

службы, заболевших ветряной оспой в воинской части Московской области. Два клинических образца получены от детей, находившихся на лечении в детской клинике, один образец получен от школьницы 1-го класса и один образец получен от пациента с рецидивирующими опоясывающим герпесом.

Эпидемическая вспышка, возникшая в воинской части Московской области, включала 34 военнослужащих, заболевших ветряной оспой. Клинические образцы для исследования были взяты у 24 военнослужащих. Из них 79%

клинических образцов приходилось на заболевших в возрасте 19–21 год. Корочки от везикулярной сыпи были взяты от начала высыпания с 1-го по 18 сутки.

27 изолятов из 28 при первичном заражении индуцировали цитопатический эффект (ЦПД) в культуре клеток ЛЭЧ-3, а изолят под № 10 индуцировал ЦПД только на втором пассажном уровне.

При первичном заражении ЛЭЧ-3 (20–21 пассаж) на монослое вокруг корочки на вторые сутки с момента инфицирования наблю-

Таблица 2. Информация о пациентах с ветряной оспой и опоясывающим герпесом в г. Москве и в Московской области, у которых были взяты образцы корочек везикулярной сыпи

Table 2. Information about patients with chickenpox and herpes zoster from Moscow urban area and suburban region provided vesicular rash crust samples

№ пациента № patient	Дата забора образца Sample date	Возраст Age	Пол Sex	Источник получения клинического образца Source for obtaining a clinical sample	День забора образца от начала появления сыпи Sampling day of the sample from the onset of rash	ЦПД Цитопатический эффект Cytopathic effect	ПЦР-РВ Real-time PCR
1	12.2013	63	м/м	гос.учреждение state institution	5	+	+
2	11.2014	6	ж/ф	школа/school	6	+	+
3	02.2015	20	м/м	в/ч* м/у	7	+	-
4	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	12	+	+
5	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	9	+	+
6	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	5	+	+
7	02.2015	24	м/м	в/ч м/у	12	+	-
8	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	10	+	-
9	02.2015	25	м/м	в/ч м/у	10	+	-
10	02.2015	20	м/м	в/ч м/у	9	+	н.и./i.n.
11	02.2015	20	м/м	в/ч м/у	10	+	+
12	02.2015	20	м/м	в/ч м/у	8	+	+
13	02.2015	24	м/м	в/ч м/у	8	+	+
14	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	15	+	+
15	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	13	+	+
16	02.2015	20	м/м	в/ч м/у	18	+	+
17	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	4	+	+
18	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	1	+	+
19	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	3	+	+
20	02.2015	20	м/м	в/ч м/у	3	+	+
21	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	5	+	+
22	02.2015	23	м/м	в/ч м/у	5	+	+
23	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	6	+	+
24	02.2015	21	м/м	в/ч м/у	6	+	+
25	02.2015	19	м/м	в/ч м/у	5	+	+
26	02.2015	22	м/м	в/ч м/у	6	+	+
27	03.2015	1 год 10 месяцев 1 year 10 months	м/м	клиника/clinic	1	+	+
28	03.2015	16	ж/ф	клиника/clinic	1	+	+

Примечание. * — воинская часть Московской области; ** — клинический изолят вызвал ЦПД на 2-м пассажном уровне; «+» — положительная реакция; «-» — отрицательная реакция; н.и. — не исследовали.

Note. * — military unit of the Moscow region; ** — clinical isolate caused cytopathic effect at the 2nd passage level; “+” — positive reaction; “-” — (negative reaction); i.n. — information is not available.

дали ЦПД в виде округлых цитолитических клеток и частичное разряжение клеточного монослоя. На третью сутки с момента инфицирования на клеточном монослое ЛЭЧ-3 обнаруживали увеличенное количество плавающих открепленных округлых клеток. В этот момент культуральные флаконы с инфицированными клетками двукратно замораживали на -70°C с последующим размораживанием. После осаждения инфицированных клеток путем

Таблица 3. Выявление ДНК VZV в клинических образцах от пациентов с ветряной оспой и опоясывающим герпесом методом ПЦР-РВ

Table 3. Detection of VZV DNA in clinical samples from patients with chickenpox and herpes zoster by real time PCR

N	Пороговый цикл Threshold cycle	Относительное количество копий ДНК Kelative number of DNA copies	Количество пассажей в клетках ЛЭЧ/Mewo The number of passages in the cells HEL/ Mewo
1	27,7	63	6/1
2	24,9	422	8/1
3	> 55	0	4/1
4	28,9	27	4/1
5	30,0	123	2/1
6	24,9	426	2/1
7	> 55	0	4/1
8	> 55	0	2/1
9	> 55	0	2/1
11	26,6	131	2/1
12	28,9	24,4	2/1
13	27,3	102	2/1
14	35,1	1,8	2/1
15	33,3	2,4	2/1
16	37,0	1,2	2,1
17	30,3	119	2,1
18	32,6	2	2/1
19	32,3	4,6	2/1
20	30,6	83	2/1
21	26,6	130	2/1
22	30,1	20,7	2/1
23	26,4	130	2/1
24	27,2	94	2/1
25	33,0	2,8	2/1
26	28,6	58,5	2/1
27	33,7	1	3/1
28	30,6	84	2/1
Mewo	>55	0	
KB/WC	>55	0	
PC/RM	>55	0	

Примечание. KB — контроль воды; PC — реакционная смесь.

Note. WC — water control; RM — reaction mixture.

центрифугирования внеклеточную ВСЖ использовали для последующего пассажа в клеточной культуре при низких температурах.

Как видно из таблицы 2 корочки от везикулярной сыпи, взятые от пациентов с ветряной оспой и опоясывающим герпесом с 1 по 18 сутки с момента высыпания, вызывали на монослое клеток ЛЭЧ-3 ЦПД. Из литературных источников известно и экспериментально установлено, что виремия у пациентов с ветряной оспой может продолжаться в течение 18 и более суток [2].

Специфичность ЦПД подтверждены в ПЦР-РВ, результаты исследования представлены в таблицах 2 и 3. Корреляция ЦПД и ПЦР-РВ исследованных клинических изолятов на втором пассажном уровне составила 81,5%.

Специфическую активность мышиных иммунных сывороток оценивали в ИФА. На рисунках 1 и 2 представлены результаты исследования.

Было установлено, что анти-VZV-специфическая мышиная сыворотка от SpF мышей линии BALB/c (рис. 1), исследованная на двух сорбентах КМ-27 и Vero CCL-81, оказалась высокоиммунной и титры сывороток колебались в пределах 1:25 000–1:50 000. При этом значения показателей ОП₄₅₀ на иммуносорбенте КМ-27 были несколько выше в отличие от аналогичных показателей на иммуносорбенте Vero CCL-81.

Одновременное исследование указанной выше анти-VZV мышевой сыворотки на шести сорбентах: КМ-27, HeLa, Нер-2, Л-41, MeWo, Vero (Клон Е6), также показало высокую специфическую анти-VZV активность сыворотки. Из этого эксперимента следует, что все 6 исследованных клеточных линий обеспечивают высокую репродуктивную активность VZV штамма «Ellen».

На рисунке 3 представлены результаты титрования в ИФА мышиных сывороток, полученных от SpF мышей линии BALB/c, иммунизированных ВСЖ от клинического изолята VZV № 1, который прошел 8 пассажей на клетках ЛЭЧ-3 (рис. 3А), и клинического изолята VZV № 2, на 10-м пассажном уровне на клетках ЛЭЧ-3 (рис. 3Б).

Анализ результатов исследования показывает, что оба изолята вызывали высокий уровень гуморальных вирусспецифических антител на всех шести сорбентах. При этом следует отметить, что уровень антител заметно выше на сорбенте из клеток КМ-27, инфицированных штаммом «Ellen» VZV.

Известно, что альфагерпесвирусы: вирус простого герпеса 1-го типа (HSV1), вирус простого герпеса 2-го типа (HSV2) и VZV (HSV3) обладают высокой гомологией геномов [10]. Для дифференцирования различных штаммов герпесвирусов была проведена непрямая реак-

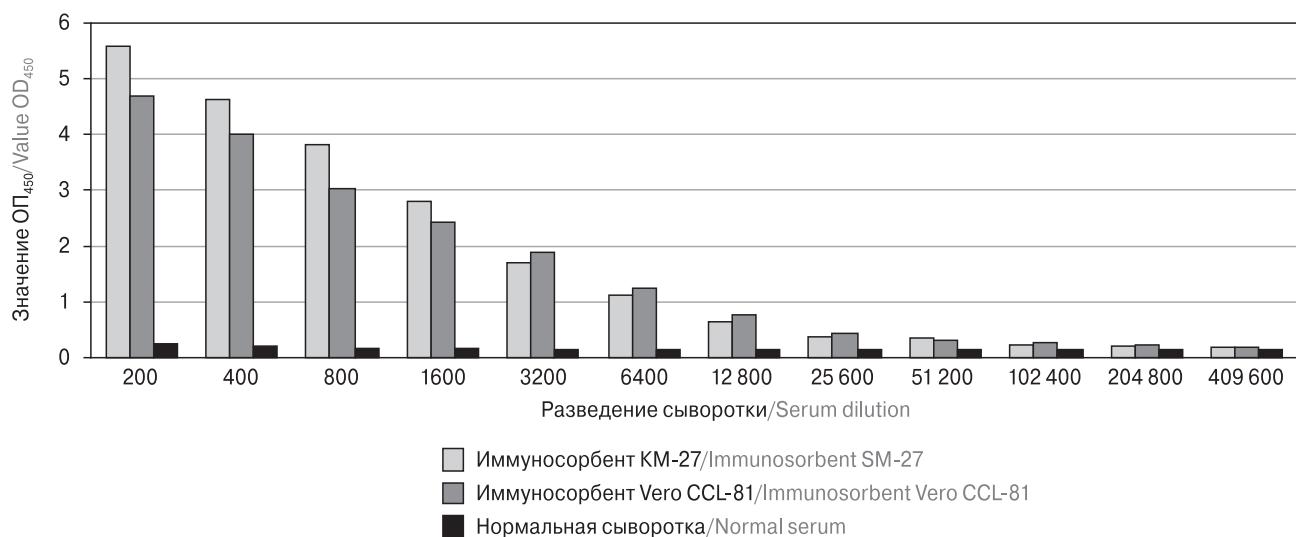


Рисунок 1. Иммуноферментный анализ: значения ОП_{450} анти-VZV специфичной мышиной сыворотки (SpF), исследованной на двух сорбентах

Figure 1. ELISA: OD_{450} values of anti-VZV specific mouse serum (SpF) tested on two sorbents

Примечание. Показатели оценены на фотометре Thermo Scientific Varioskan Flash.

Note. Indicators evaluated on a photometer Thermo Scientific Varioskan Flash.

ция иммунофлуоресценции, результаты которой представлены на рисунке 4.

С целью дифференцирования VZV вирусного штамма № 1 и вирусного штамма № 2 — альфафагерпесвирусов типа 3 от альфафагерпесвирусов типа 1 и типа 2, препараты из клеточной культуры ЛЭЧ-3, инфицированные VZV вирусным штаммом № 1 и вирусным штаммом № 2 на 12 пассажном уровне, окрасили иммунной сывороткой от переболевшего опоясывающим герпесом (рис. 4, III обложка, верхний и нижний снимки 1-го левого ряда), мышными МКА к вирусу гер-

песа 1 типа (МКА 1Н-110) к гликопротеиду gB (рис. 4, верхние и нижние снимки среднего ряда) и МКА к вирусу герпеса 2-го типа (МКА 2Н-208) к гликопротеиду gD (рис. 4, верхний и нижние снимки правого ряда). В качестве коньюгата использовали белок А-ФИТЦ (Sigma, США).

Как видно из полученных данных, диплодидные клетки ЛЭЧ-3, инфицированные VZV вирусными штаммами № 1 и № 2, вызывают флуоресценцию только в случае окрашивания иммунной сывороткой от переболевшего опоясывающим герпесом и не вызывают флуорес-

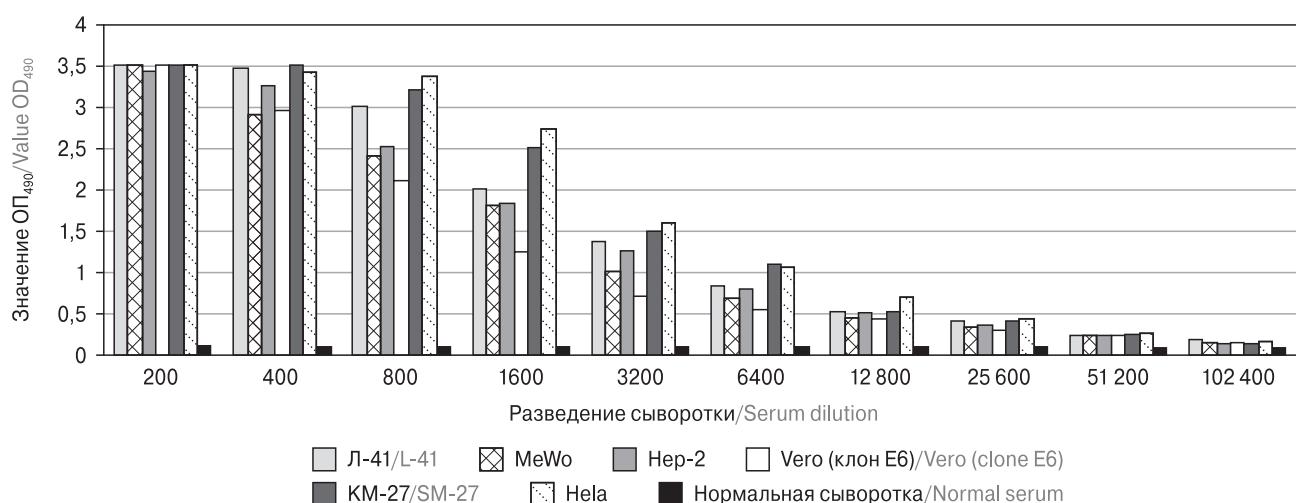


Рисунок 2. Иммуноферментный анализ: значения ОП_{490} анти-VZV-специфичной мышиной сыворотки (SpF), исследованной на шести сорбентах

Figure 2. ELISA: the values of the OP_{490} anti-VZV-specific mouse serum (SpF) tested on 6 sorbents

Примечание. Показатели оценены на фотометре Bio-Rad Model 680.

Note. Indicators evaluated on a photometer Bio-Rad Model 680.

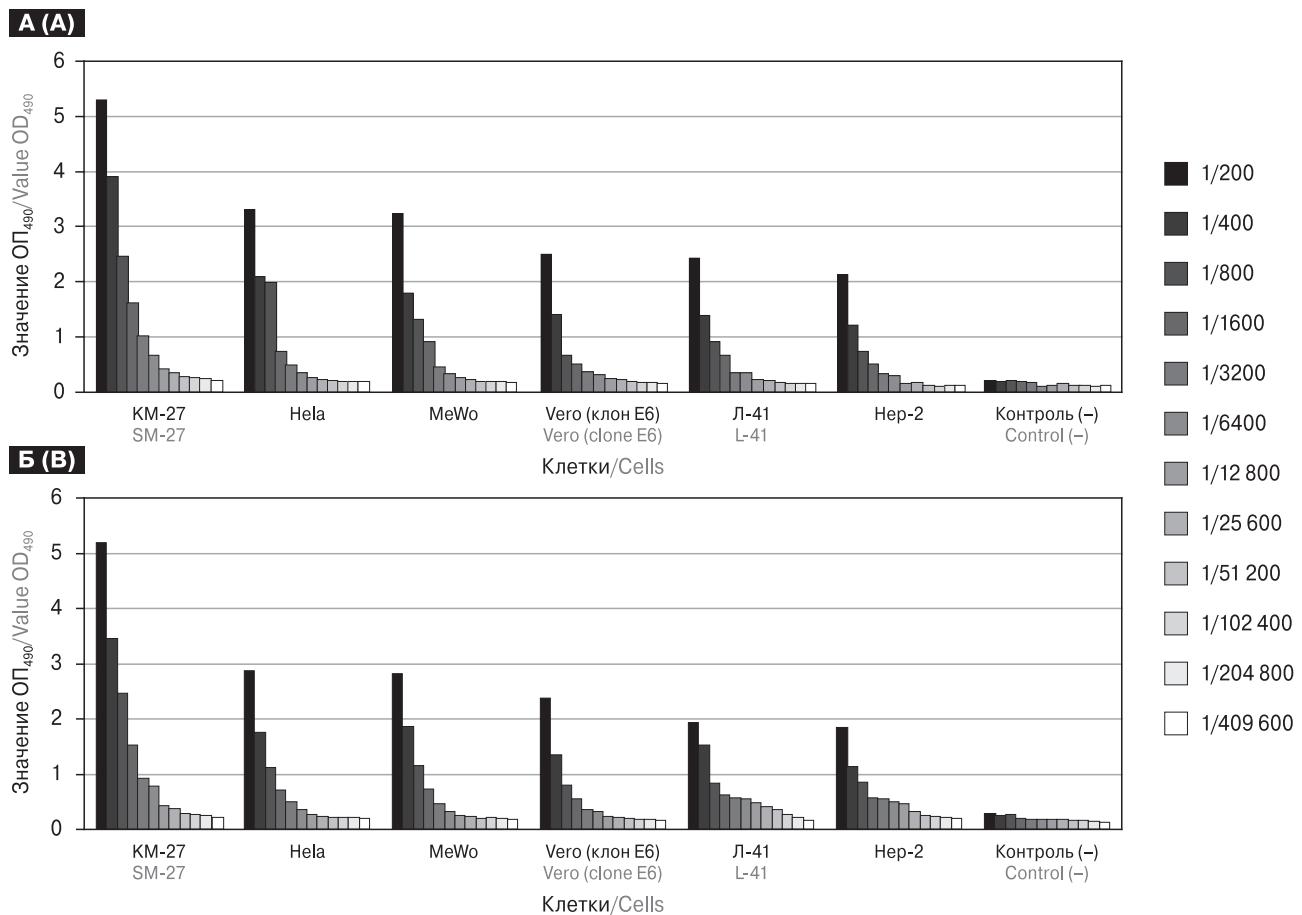


Рисунок 3. Титрование в ИФА сывороток от SpF мышей линии BALB/c, иммунизированных вирусосодержащими жидкостями от восьмого (А) и десятого (Б) пассажей на клетках ЛЭЧ-3

Figure 3. Titration in ELISA of serum from SpF of BALB/c mice, immunized with virus-containing fluids from the eighth (A) and tenth (B) passages on HEL-3 cells

ценции при окрашивании мышьями МКА к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, то есть мы наблюдаем отсутствие перекрестной реактивности между альфагерпесвирусами 1 и 2 типа и альфагерпесвирусом 3 типа.

Из литературы известно, что VZV в процессе репродукции тесно связывается с клеткой и, как считают исследователи, не выходит в культуральную среду. С целью опровержения этого утверждения был поставлен эксперимент по репродукции изолята VZV № 1 на диплоидных клетках ЛЭЧ-3 с ежедневным сбором культуральной среды и определением в ней инфекционного вируса в реакции гемадсорбции и непрямой иммунофлуоресценции. Культуру клеток ЛЭЧ-3 заражали с множественностью 0,02. Титрование индивидуальных вирусных сборов проводили на диплоидных клетках КМ-27. Из данных, представленных в таблице 4, становится ясно, что изолят VZV № 1 на клетках КМ-27 эффективно репродуцируется, и с первых суток с момента заражения вирус обнаруживается в культуральной среде. Ежедневный индивидуальный сбор позволял иметь ВСЖ с высокой инфекционной активностью. При этом необхо-

димо отметить, что наблюдалась прямая корреляция инфекционности в реакции гемадсорбции со взвесью эритроцитов морской свинки, с реакцией непрямой иммунофлуоресценции.

Обсуждение

В этом исследовании мы изучали характеристику клинических изолятов varicella-zoster, взятых от пациентов, заболевших ветряной оспой или опоясывающим герпесом. Были получены изоляты от 4-х категорий пациентов: 24 образца от военнослужащих 1-го года службы во время вспышки ветряной оспы в воинской части, 2 образца от пациентов, заболевших в детской клинике (внутрибольничная инфекция), один образец от здоровой школьницы шести лет, заболевшей ветряной оспой в домашних условиях и один образец от взрослого пациента 63 лет в момент реактивации рецидивирующего опоясывающего герпеса. Все 28 клинических изолятов были доставлены в лабораторию в жидком азоте в криопробирках с транспортной средой и представляли собой корочки от везикулярной сыпи, взятые до 18 дня от начала сыпи (табл. 2).

Таблица 4. Инфекционная активность индивидуальных вирусных сборов в различные временные интервалы

Table 4. Infectious activity of individual viral harvests during various times

Номер вирусного сбора Virus collection number	День после заражения Day after infection	Инфекционная активность в Ig гемоадсорбирующими единицами 50/0,5 мл Infectious activity in Ig hemoadsorption units 50/0,5 ml	Инфекционная активность в Ig нормализованных единицах иммунофлуоресценции 50/0,5 мл Infectious activity in Ig normalized immunofluorescent units 50/0,5 ml
1	1	4,0	4,0
2	2	5,0	5,0
3	3	6,0	6,0
4	6	6,0	6,0
5	9	7,0	7,0
6	12	7,0	7,0
7	15	8,0	8,0
8	19	7,5	8,0
9	23	8,0	8,0
10	26	8,0	8,0
Контроль: вакцина Varilrix Control: Varilrix vaccine		6,0	

Корочки до проведения экспериментов хранились в жидком азоте или при -70°C .

Корочки помещали на монослой диплоидных клеток ЛЭЧ-3 в ростовой питательной среде и культивировали при пониженной температуре. ЦПД вокруг корочек развивалось на клеточном монослое, начиная со вторых суток с момента инфицирования клеток. Все 28 образцов оказались положительными. Этот результат подтверждает известные данные литературы, что виремия при ветряной оспе может продолжаться не менее чем 18 суток [2]. Кроме того, полученные результаты четко демонстрировали, что эффективным клиническим материалом для изоляции VZV являлась не только везикулярная жидкость [12, 16], но и корочки, сформированные после исчезновения жидкости из везикул.

Нами экспериментально показано, что VZV обладал широким спектром чувствительных клеток (рис. 1, 2 и 3), активно репродуцировался в них и высвобождался в культуральную среду с первых суток с момента инфицирования клеток (табл. 4).

Однако необходимо отметить, что внеклеточный вирус не выявлялся методом бляшек, и для его обнаружения мы использовали методы гемадсорбции на чувствительных клетках или реакцию непрямой иммунофлуоресценции.

С первых суток с момента заражения клеточного монослоя внеклеточный вирус обнаруживался, как в реакции гемадсорбции, так и в реакции непрямой иммунофлуоресценции, и к 5-м суткам с момента инфицирования инфекционность увеличивалась и в дальнейшем

достигала максимальных величин. При этом необходимо отметить, что явного цитопатического действия на клеточном монослое не наблюдали. Наиболее чувствительной клеточной линией для репликации VZV окались клетки КМ-27 и MeWo. Однако неинфицированная клеточная линия MeWo обладала способностью связывать эритроциты морских свинок и человека и в связи с этим оказалась не пригодной для детекции инфекционной активности внеклеточного VZV.

В данном исследовании с помощью мышиных МКА к вирусам простого герпеса 1 и 2 типов и иммунной сыворотки от переболевшего опоясывающим герпесом в реакции непрямой иммунофлуоресценции (рис. 4) было показано отсутствие перекрестной реактивности между вышеуказанными альфа-герпесвирусами, несмотря на высокую гомологию их геномов [10].

Таким образом, нашими исследованиями мы четко продемонстрировали, что VZV и вирусы HZ обладали широким спектром клеточных культур, в которых они эффективно реплицировались. При этом нами показано, что внеклеточный VZV высвобождается в культуральную среду с первых суток с момента инфицирования. Кроме того, мы первыми предложили метод оценки инфекционной активности VZV по их гемадсорбирующей способности на клеточных культурах. Наиболее оптимальной клеточной линией для этих целей являлись клетки КМ-27 или любые клеточные линии из кожно-мышечной ткани эмбрионов человека или кожи взрослого человека.

Список литературы/References

1. Фам Х.Ф., Сидоров А.В., Милованова А.В., Антонова Т.П., Лисаков А.Н., Нагиева Ф.Г., Алатортцева Г.И., Свитич О.А., Казанова А.С., Лавров В.Ф., Зверев В.В. Новый подход к диагностике varicella-zoster-вирусной инфекции с использованием ПЦР в режиме реального времени // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15, № 5. С. 52–58. [Pham H.P., Sidorov A.V., Milovanova A.V., Antonova T.P., Lisakov A.N., Nagieva F.G., Alatortceva G.I., Svitich O.A., Kasanova A.C., Lavrov V.F., Zverev V.V. New approach for diagnostics of VZV infection by using real-time PCR. *Epidemiologiya i vaktsinoprotifilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2016, vol. 15, no. 5, pp. 52–58. doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-5-52-58 (In Russ.)]
2. Arvin A.M. Varicella-zoster virus. *Clin. Microb. Rev.*, 1996, vol. 9, no. 3, pp. 361–381.
3. Arvin A.M. Varicella vaccine: genesis, efficacy, and attenuation. *Virology*, 2001, vol. 284, no. 2, pp. 153–158. doi: 10.1006/viro.2001.0918
4. Baiker A., Fabel K., Cozzio A. Varicella-zoster virus infection of human neural cells in vivo. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, no. 29, pp. 10792–10797. doi: 10.1073/pnas.0404016101
5. Depledge D.P., Palser A.L., Watson S.J., Yi-Chun Lai I., Gray E.R., Grant P. Specific capture and whole-genome sequencing of viruses from clinical samples. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 11, pp. 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0027805
6. Gershon A.A. Varicella-zoster vaccines and their implications for development of HSV vaccines. *Virology*, 2013, vol. 435, no. 1, pp. 29–36. doi: 10.1016/j.virol.2012.10.006
7. Gershon A.A., Sherman D.L., Zhu Z., Gabel C.A., Ambron R.T., Gershon M.D. Intracellular transport or newly synthesized varicella-zoster virus: final envelopment in the trans-Colgi network. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, no. 10, pp. 6372–6390.
8. Gershon A.A., Steinberg S.P., Gelb L. Clinical reinfection with varicella-zoster virus. *J. Infect. Dis.*, 1984, vol. 149, no. 2, pp. 137–142. doi: 10.1093/infdis/149.2.137
9. Gilden D.H. Varicella-zoster virus vasculopathy and disseminated encephalomyelitis. *J. Neurol. Sci.*, 2002, vol. 195, no. 2, pp. 99–101. doi: 10.1016/S0022-510X(02)00021-7
10. Goaster J.L., Conzalo S., Bouree P., Tangy F., Haenni A.L. Efficacy of the anti-VZV (anti-HSV3) vaccine in HSV1 and HSV2 recurrent herpes simplex disease: a prospective study. *Open Access Journal of Clinical Trials*, 2012, vol. 4, pp. 51–58. doi: 10.2147/OAJCT.S33292
11. Gross C., Ng T.I. Intracellular synthesis of varicella-zoster virus. *J. Infect. Dis.*, 1992, vol. 166, pp. 7–12. doi: 10.1093/infdis/166.supplement_1.s7
12. Haberthur K., Messaoudi I. Animal models of varicella-zoster virus infection. *Pathogens*, 2013, vol. 2, no. 2, pp. 364–382. doi: 10.3390/pathogens2020364
13. Levin M.J., Levental S., Masters H.A. Factors influencing quantitative isolation of varicella-zoster virus. *J. Clin. Microbiol.*, 1984, vol. 19, no. 6, pp. 880–883.
14. Reik L.M., Maines S.L., Levin W., Bandirra S., Thomas P.E. A simple, non-chromatographic purification procedure for monoclonal antibodies. Isolation of monoclonal antibodies against cytochrome P450 isozymes. *J. Immunol. Methods*, 1987, vol. 100, no. 1–2, pp. 123–130.
15. Rice G.P., Casali P., Oldstone M.B. A new solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for specific antibodies to measles virus. *J. Infect. Dis.*, 1983, vol. 147, no. 6, pp. 1055–1059.
16. Sarkadi J. Varicella-zoster virus vaccine, successes and difficulties. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 2013, vol. 60, no. 4, pp. 379–396. doi: 10.1556/AMicr.60.2013.4.1
17. Silver B., Hua Zhu. Varicella-zoster virus vaccines: potential complications and possible improvements. *Virologica Sinica*, 2014, vol. 29, no. 5, pp. 265–273. doi: 10.1007/s12250-014-3516-9

Авторы:

Нагиева Ф.Г., д.м.н., зав. лабораторией гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Баркова Е.П., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Лисаков А.Н., научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Сидоров А.В., к.б.н., зав. лабораторией генетики ДНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Зверев В.В., д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель института ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Осокина О.В., к.м.н. зав. инновационным отделом ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Строева А.Д., младший научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Authors:

Nagieva F.G., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of the Laboratory of Hybrid Cell Cultures, Department of Virology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Barkova E.P., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Hybrid Cell Cultures, Department of Virology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Lisakov A.N., Junior Researcher, Laboratory of Hybrid Cell Cultures, Department of Virology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Sidorov A.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Genetics of DNA Containing Viruses, Virology Branch, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Zverev V.V., PhD, MD (Biology), Professor, RAS Full Member, Scientific Director, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Osokina O.V., PhD (Medicine), Head of Innovative Department, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Stroeva A.D., Junior Researcher, Laboratory of Hybrid Cell Cultures, Department of Virology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел **«Благодарности»** не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллекам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реагентов или оборудования, как правило, помещаются в разделе **«Материалы и методы»**.

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Клинов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.
Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. *Mycobacterium avium* in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.
Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, кДа и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенд должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы представляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором предоставленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.

2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:

1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):

- фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
- название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
- почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
- телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
- фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
- полное название статьи, направляемой в редакцию;
- количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
- раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
- дата отправления работы.

2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
- название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://iimmun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

Вы можете оформить подписку на журнал
«Инфекция и иммунитет» через отделения связи:

Каталог «Роспечать» — индекс 95001;

Объединенный каталог «Пресса России» и электронный каталог «Российская периодика»
в сети Internet на сайте www.arpk.org — индекс 41392.

Цена свободная.

Подписка на электронную версию журнала
на сайте www.elibrary.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абабий И.И.....	359	Князев Д.И.....	315
Абабий П.И.....	359	Колбин А.С.....	277
Акимкин В.Г.....	221	Костинос М.П.....	359
Акопова И.И.....	295	Кубарь О.И.....	287
Ахматова Н.К.....	295	Кузьмичева В.И.....	375
Баркова Е.П.....	387	Кулова Е.А.....	315
Бородина И.А.....	375	Лисаков А.Н.....	387
Гильмиярова Ф.Н.....	375	Малеев В.В.....	221
Гинда С.С.....	359	Манюк М.К.....	359
Гриценко В.А.....	338	Маркелова Е.В.....	329
Гусякова О.А.....	375	Маркушин С.Г.....	295
Давыдова Е.В.....	338	Нагиева Ф.Г.....	387
Данилов Л.А.....	359	Ненайкин С.С.....	375
Дедков В.Г.....	221	Осокина О.В.....	387
Добрынина М.А.....	338	Поддубиков А.В.....	359
Ерешенко А.А.....	375	Попова А.Ю.....	221
Жилинская И.Н.....	305	Преснякова Н.Б.....	315
Забков О.И.....	338	Пшеничная Н.Ю.....	210
Забокрицкий Н.А.....	338	Ртищев А.А.....	295
Зверев В.В.....	387	Рубис Л.В.....	381
Зурочка А.В.....	338	Сарапульцев А.П.....	338
Зурочка В.А.....	338	Сахарнов Н.А.....	315
Игнатова Н.К.....	375	Семенов А.В.....	210
Калиниченко Е.О.....	295	Сидоров А.В.....	387
Караулов А.В.....	329	Симакова А.И.....	329
Кныш С.В.....	329	Смирнов В.С.....	259
		Сонис А.Г.....	375
		Столникова В.Н.....	295
		Строева А.Д.....	387
		Топтыгина А.П.....	269
		Тотолян Арт.А.....	259
		Трофимчук М.Г.....	359
		Уткин О.В.....	315
		Филатова Е.Н.....	315
		Чукичев А.В.....	338
		Щелканов М.Ю.....	221
		Botezatu I.V.....	347
		Chudilova G.A.....	368
		Dubar E.....	347
		Dushenkina T.E.....	347
		Gurtsevitch V.E.....	347
		Hamad M.A.....	247
		Isihak F.A.....	247
		Khalturina E.O.....	368
		Kovaleva S.V.....	368
		Lichtenstein A.V.....	347
		Lubenskaya A.K.....	347
		Mitropanova M.N.....	368
		Mustafa N.G.....	247
		Nesterova I.V.....	368
		Petrov S.V.....	347
		Senyuta N.B.....	347
		Smirnova K.V.....	347

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

антивирусная активность	338	культура клеток.....	387
апоптоз.....	315	лейкоциты.....	315
аттенуация.....	295	лимфоциты.....	338
белки иммунной системы	305	лопинавир/ритонавир.....	277
вакцинация	359, 375, 381	медицинские работники.....	375
валиацикловир.....	338	микробная флора.....	359
ВГЧ-6 инфекция	315	мимикрия	305
вирус гриппа.....	295	моноклональные антитела	277, 387
вирусные белки	305	нейропептиды	329
вирусные инфекции	269	нормативное регулирование	287
внутриклеточный регуляторный каскад	259	опоясывающий лишай	329
врожденный иммунитет	259	пандемии	287
герпес	329	пневмококк.....	359
гетерологичный иммунитет	269	полимеразная цепная реакция	338
гидроксихлорохин	277	проточная цитометрия	338
глюкозаминилуронилдипептид	338	ПЦР в реальном времени	387
ДНК-микрочипы	315	реакция гемоадсорбции	387
иммунитет	375	ревакцинация	375
иммунный статус	338	ремдесивир	277
иммуногенность	295	репродукция вируса	387
иммуноглобулин G	375	сайт-специфические мутанты	295
иммунопатогенез	269	серологические исследования	381
иммуноферментный анализ	338	сигнальные пути	315
иммунофлуоресцентный анализ	387	стрептококк.....	359
индивидуальные вирусные сборы	387	субпопуляции лимфоцитов	295
интерфероны	259	таксономия	221
Китай	210	Т-клетки памяти	269
клинические испытания	277	тонзиллит	359
клинический изолят	387	тяжелая ВГЧ-6+ВЭБ+ЦМВ	315
коллективный иммунитет	381	микст-инфекция	315
контроль над эпидемией	210	фагоцитоз	295
коронавирус	210, 221, 259	хлорохин	277
коронавирусная инфекция	277	цитокины	259
корь	375, 381	чувствительность к антибиотикам	359
косметическое средство «Ацеграм»	338	экспрессия мРНК	315
кросс-реактивность Т-клеток	269	эпидемическая кривая	210
		Эпштейна–Барр вирусная инфекция	338
		этическая концепция	287
		2019-nCoV	221
		ACE2	247
		BDNF	329
		complex immunorehabilitation	368
		congenital cleft lip and palate	368
		Coronaviridae	221
		COVID-19	210, 221, 247, 277, 287
		epidemiology	247
		Epstein–Barr virus	347
		Epstein–Barr virus DNA copies	347
		ethnic tatars and slavs	347
		herpes zoster	387
		immunocompromised children	368
		immunotropotherapy	368
		latent membrane protein 1	347
		MERS-CoV	221, 259
		MPB	329
		mucosal immunity	368
		NGF	329
		Nidovirales	221
		NSE	329
		phylogenetic analysis	347
		real-time PCR	347
		recurrent respiratory infections	368
		S100	329
		SARS-CoV	221, 259
		SARS-CoV-2	210, 221, 247, 259
		sequence analysis	347
		spikes	247
		Toll-подобные рецепторы	295
		vaccination	247
		varicella-zoster	387
		virus structure	247

Иллюстрации к статье «COVID-19: обновленный взгляд» (авторы: Ф.А. Исихак, М.А. Хамад, Н.Г. Мустафа) (с. 247–258)

Illustrations for the article “COVID-19: an updated review” (authors: Isikhak F.A., Hamad M.A., Mustafa N.G.) (pp. 247–258)

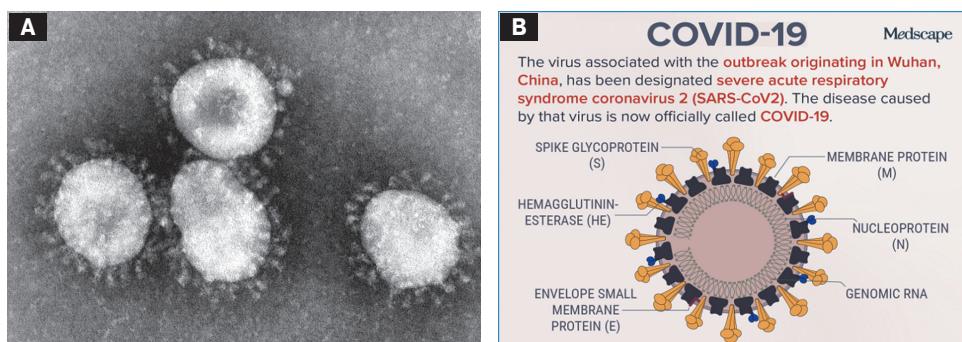


Figure 2. Human coronavirus. A) EM photo. B) Structure [13]

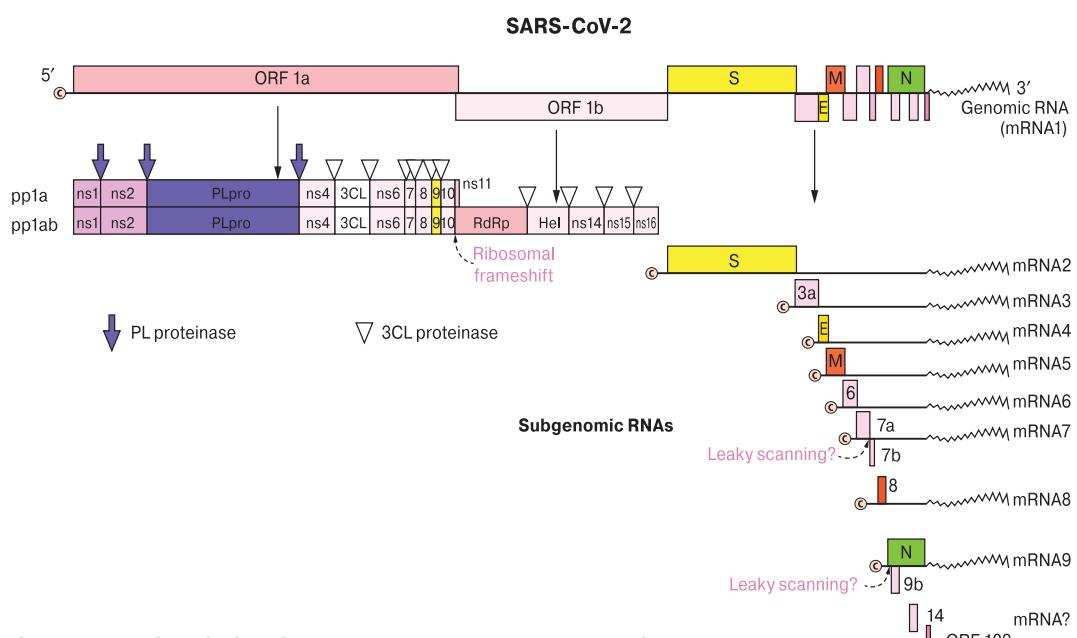


Figure 3. Genome of SARS-CoV2 [https://viralzone.expasy.org/785]

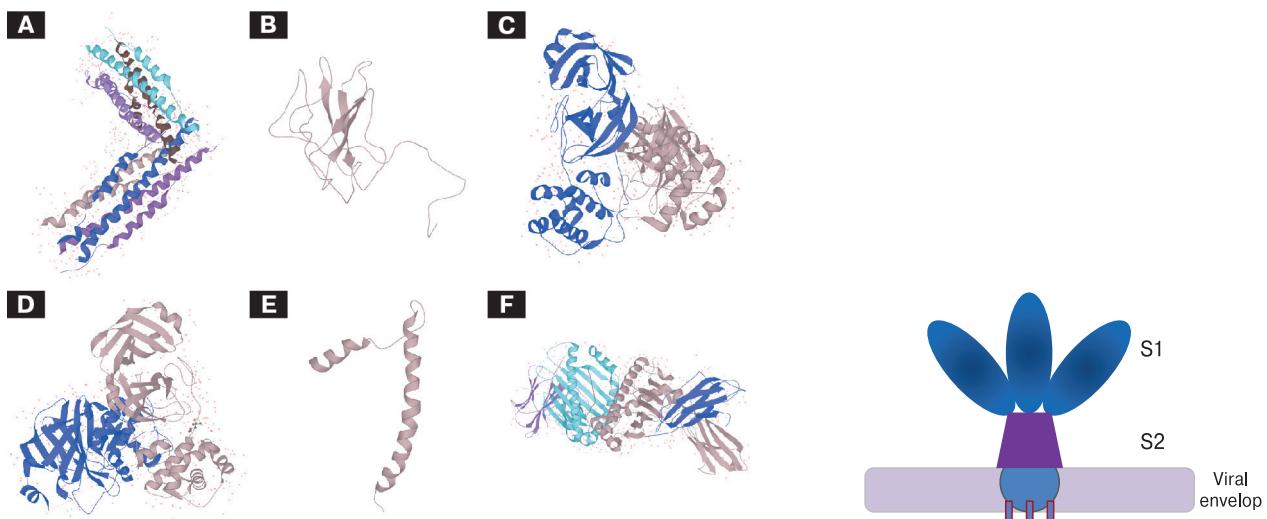
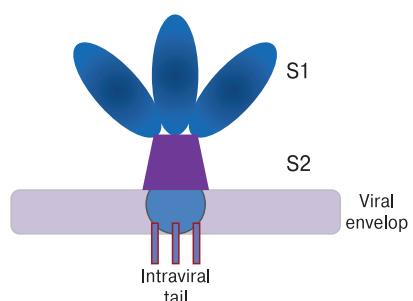


Figure 4. SARS-CoV proteins structure (A. Spike. B. Nucleoprotein. C. Replicase polyprotein 1a. D. Replicase polyprotein 1ab. E. Envelop small membrane protein. F. M protein)
[\[https://www.uniprot.org/uniprot/?query=human+sars+coronavirus\]](https://www.uniprot.org/uniprot/?query=human+sars+coronavirus)

Figure 5. Suggested structure of spike



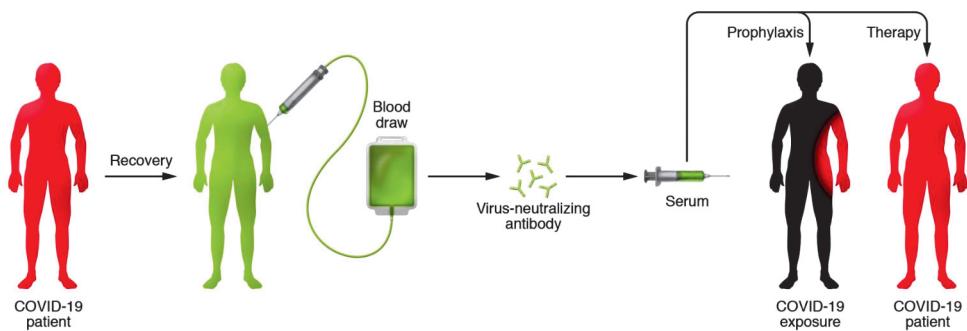


Figure 6. Graphic of convalescent sera used for containing COVID-19 [11]

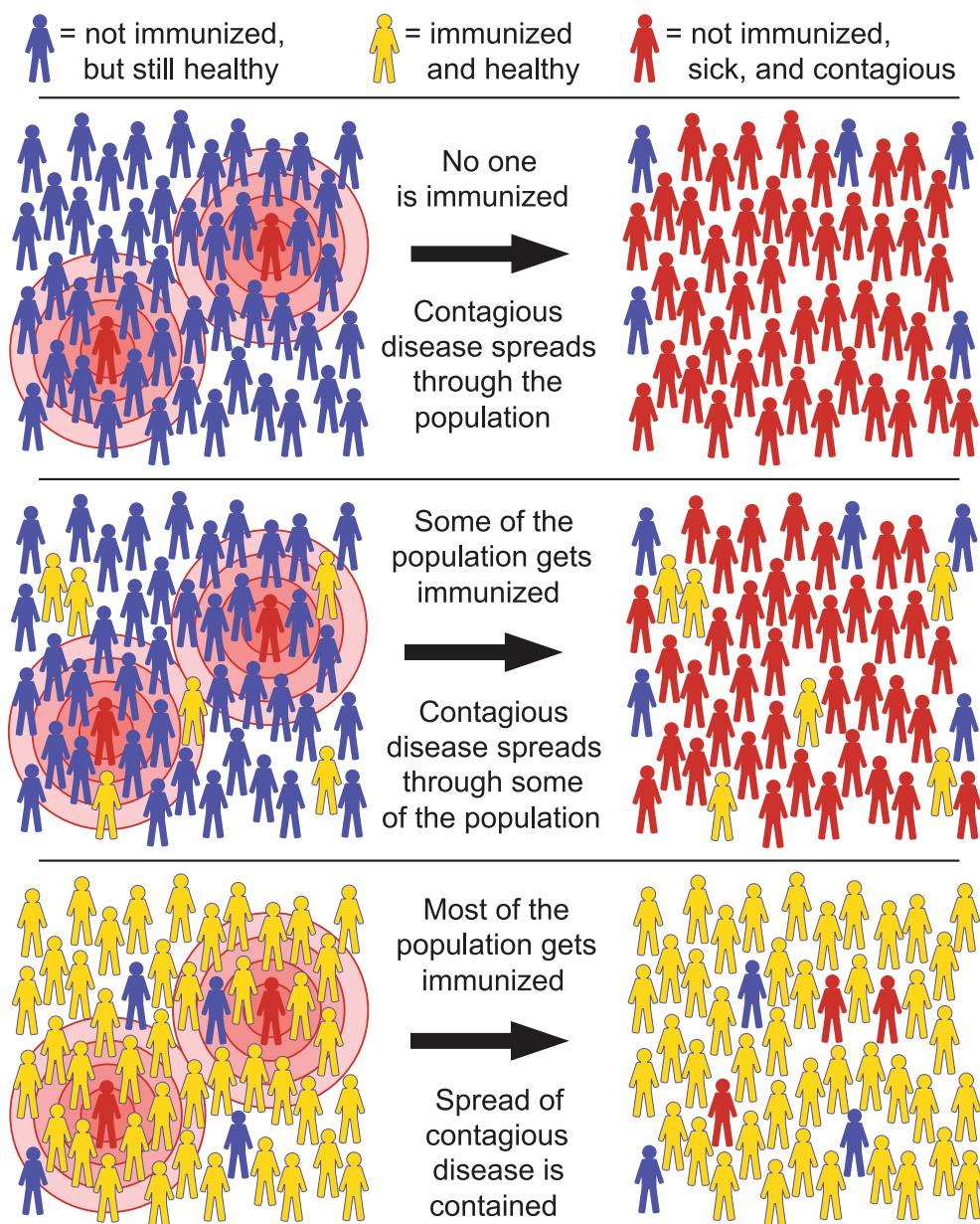


Figure 7. Herd immunity [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Community_Immunity.jpg]

Иллюстрации к статье «Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции»

(авторы: В.С. Смирнов, Арг А. Тотолян) (с. 259–268)

Illustrations for the article “Innate immunity in coronavirus infection” (authors: Smirnov V.S., Totolian Areg A.) (pp. 259–268)

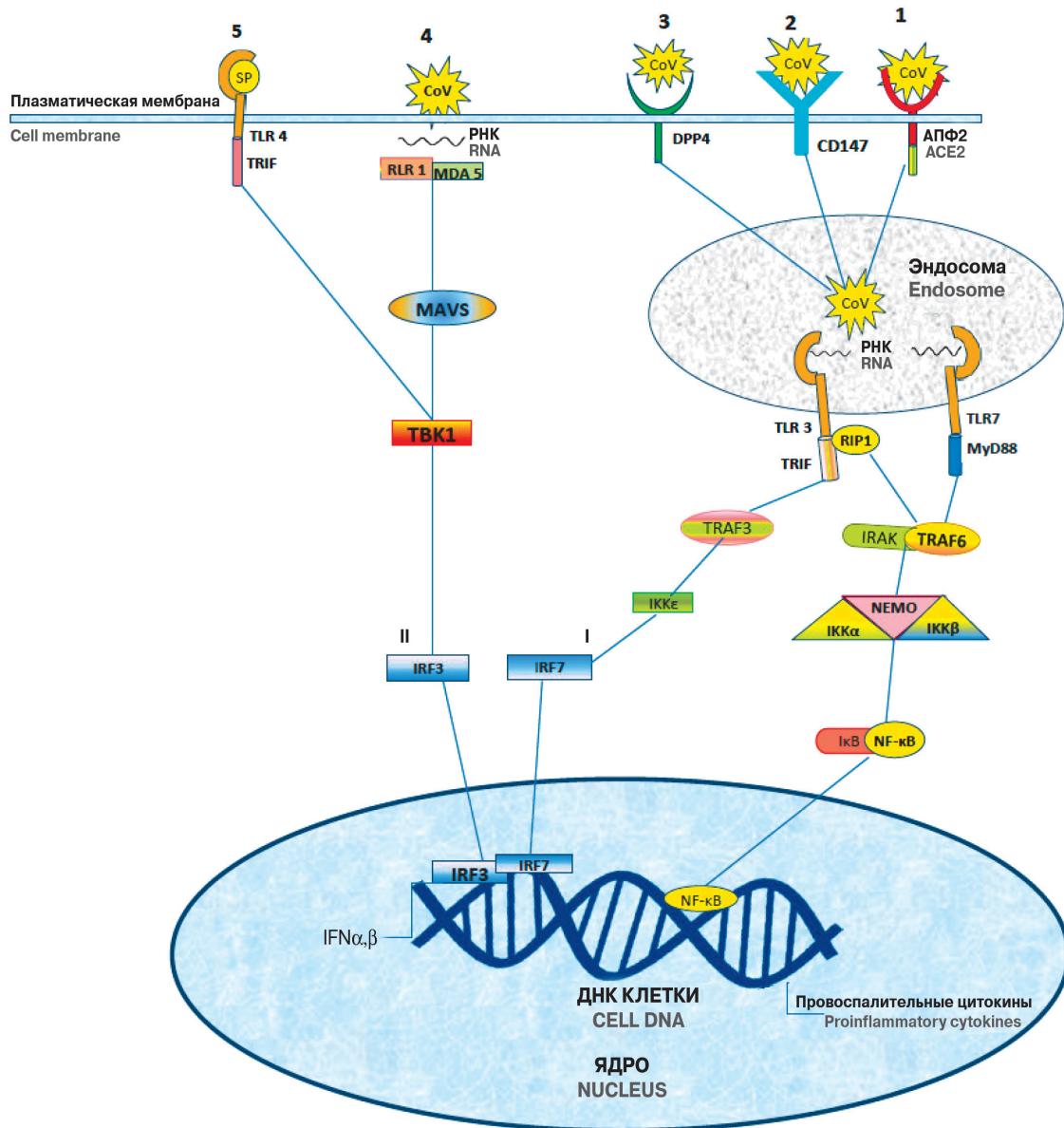


Рисунок 1. Пять путей переноса информации патогенного коронавируса в клетку хозяина

Figure 1. Five pathways for transferring pathogenic coronavirus information to the host cell

1. SARS-CoV, SARS-CoV-2 связываются с клеточным рецептором ACE2 и транспортируются в эндосому.
2. SARS-CoV, SARS-CoV-2 связываются с дополнительным клеточным рецептором CD147 и транспортируются в эндосому.
3. MERS-CoV связывается с клеточным рецептором DPP4 и также транспортируется в эндосому. В эндосоме CoV высвобождает PHK, которая распознается TLR3/7. Затем нисходящий сигнал трансдуцируется либо по пути TRIF→TRAF3→IRF3, который после фосфорилирования импортируется в ядро клетки-хозяина, где экспрессирует IFN. При распознавании TLR7 сигнал трансдуцируется по пути MyD88→TRAF6→I-κB→NF-κB. Трансляционный фактор импортируется в ядро и экспрессирует выработку провоспалительных цитокинов. В процессах синтеза провоспалительных цитокинов и IFN TLR3 и TLR7 могут действовать взаимозаменяющими (не показано).
4. Вирус проникает в клетку посредством пиноцитоза, где высвобождается PHK, которая распознается RIG-1/MDA5, далее сигнал транспортируется на TBK1-IRF3, последний импортируется в ядро, вызывая синтез IFN.
5. S-антитело вируса CoV распознается TLR4, который затем может транслироваться либо по пути TRIF→TBK1→IRF→IFN, либо через путь MyD88→TRAF6→NF-κB→провоспалительные цитокины (не показано).

Полужирными римскими цифрами обозначены два пути синтеза IFN:

- I — эндосомальный путь трансдукции сигнала от TLR3 до IRF3/7;
- II — цитоплазматический путь переноса сигнала от RLR1 до IRF3/7.

На приведенных схемах с целью упрощения опущены альтернативные пути трансдукции сигналов, часть адаптерных протеинов, участвующих в трансдукции сигналов, а также узлы фосфорилирования и убиквитинирования.

**Иллюстрации к статье «Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции»
(авторы: В.С. Смирнов, Арг А. Тотолян) (с. 259–268)**

Illustrations for the article “Innate immunity in coronavirus infection” (authors: Smirnov V.S., Totolian Areg A.) (pp. 259–268)

Comments for figure 1 from previous page:

1. SARS-CoV, SARS-CoV-2 binds to the ACE 2 receptor and is transported to the endosome.
 2. SARS-CoV, SARS-CoV-2 binds to the additional cellular receptor CD147 and is transported to the endosome.
 3. MERS-CoV binds to the DPP4 cell receptor and is also transported to the endosome.
- In the endosome, CoV releases RNA that is recognized by TLR3/7. Then the downstream signal is transduced either along the TRIF-TFAF3-IRF3 pathway, which, after phosphorylation, is imported into the nucleus of the host cell, where it expresses IFN. When TLR7 is recognized, the signal is transduced along the MyD88→TRAF6→I- κ B→NF- κ B path. The translational factor is imported into the nucleus and expresses the production of pro-inflammatory cytokines. In the synthesis of pro-inflammatory cytokines and IFNs, TLR3 and TLR7 may act interchangeably (not shown).
4. The virus enters the cell via pinocytosis, where it releases RNA, which is recognized by RIG-1/MDA5, then the signal is transported to TBK1-IRF3, the latter is imported into the nucleus, causing IFN synthesis.
 5. CoV virus S antigen is recognized by TLR4, which can then be transmitted either via the TRIF→TBK1→IRF→IFN pathway or through the MyD88→TRAF6→NF- κ B→ pro-inflammatory cytokines (not shown).

Bold Roman numerals indicate two pathways of IFN synthesis:

- I — endosomal signal transduction pathway from TLR3 to IRF3/7;
II — cytoplasmic pathway of signal transfer from RLR1 to IRF3/7.

In order to simplify the diagrams, the alternative ways of signal transduction, part of adapter proteins involved in signal transduction, as well as phosphorylation and ubiquitination sites are omitted.

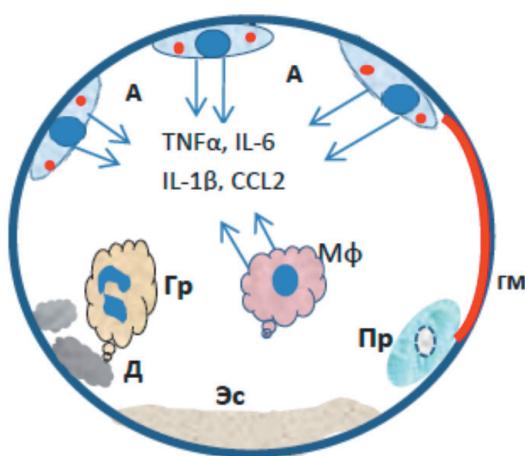


Рисунок 2. Упрощенная схема патологического процесса при фиксации патогенного CoV в альвеоле

Figure 2. A simplified diagram of the pathological process when fixing pathogenic CoV in alveol

Вирусы (частицы красного цвета) внедряются в пневмоциты II типа (A), где активируют синтез и высвобождение провоспалительных цитокинов и хемокинов TNF α , IL-6, IL-1 β , CCL2 и др. (отмечено синими стрелками). Одновременно в результате активации NLRP3 инфламмасомы и избыточного высвобождения TNF α часть клеток погибает в результате апоптоза и пироптоза (Пр). Как следствие, в альвеоле накапливается клеточный детрит (Д), способствующий притоку гранулоцитов (Гр) и макрофагов (Мф), которые дополнительно секретируют провоспалительные цитокины и хемокины. Одновременно развиваются нарушения легочной микроциркуляции, приводящие к экстравазации плазмы в альвеолу (Эс) и последующему формированию гиалиновых мембранны (ГМ) [По: 22, 52].

Viruses (red particles) are introduced into type II pneumocytes (A), where they activate the synthesis and release of pro-inflammatory cytokines and chemokines TNF α , IL-6, IL-1 β , CCL2, etc. (blue arrows). At the same time, as a result of the activation of the NLRP3 inflammasome and excessive release of TNF α , some of the cells die in apoptosis and pyroptosis (Пр). As a result, cellular detritus (Д) accumulates in the alveolus, which contributes to the recruiting of granulocytes (Гр) and macrophages (Мф), which additionally secrete pro-inflammatory cytokines and chemokines. At the same time, disturbances in pulmonary microcirculation develop, leading to extravasation of the plasma into the alveolus (Эс) and the subsequent formation of hyaline membranes (ГМ) [22, 52].

Иллюстрации к статье «Практические аспекты выявления, культивирования и характеристики изолятов вируса varicella-zoster» (авторы: Ф.Г. Нагиева, Е.П. Баркова, А.Н. Лисаков, А.В. Сидоров, В.В. Зверев, О.В. Осокина, А.Д. Строева) (с. 387–396)

Illustrations for the article “Practical aspects on identification, cultivation and characteristics of varicella-zoster virus isolates” (authors: Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V. V., Osokina O.V., Stroeva A.D.) (pp. 387–396)

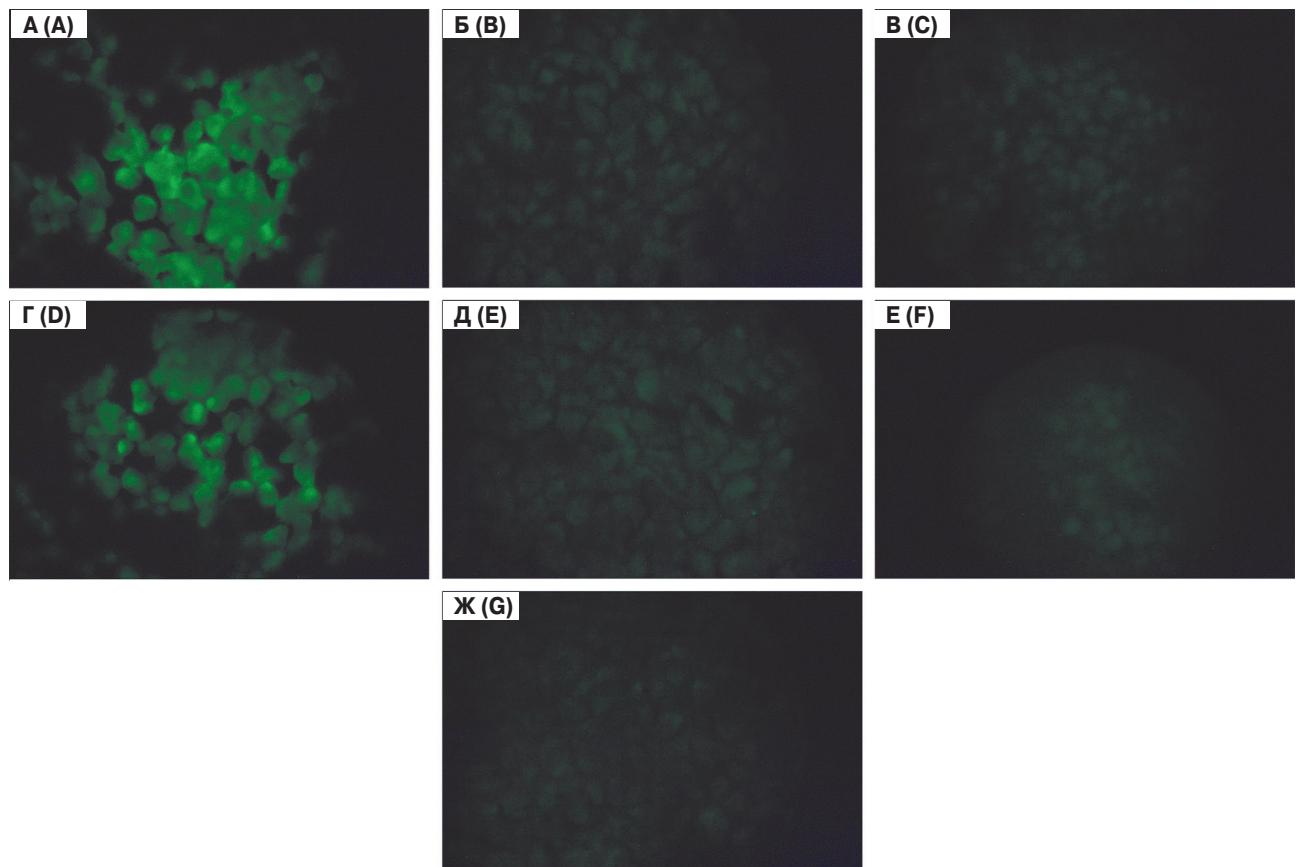


Рисунок 4. Реакция непрямой иммунофлуоресценции (x400)

Figure 4. The reaction of indirect immunofluorescence (x400)

А) VZV № 1, 12 пассаж + сыворотка пациента HZ; Б) VZV № 1, 12 пассаж + МКА HSV 1-1H 110; В) VZV № 1, 12 пассаж + МКА HSV 2 — 2H-208; Г) VZV № 2, 12 пассаж + сыворотка пациента HZ; Д) VZV № 2, 12 пассаж + МКА HSV 1-1H 110; Е) VZV № 2, 12 пассаж + МКА HSV 2 — 2H-208; Ж) Контроль, неинфицированные клетки ЛЭЧ-3.

А) VZV No. 1, 12 passage + patient serum HZ; B) VZV No. 1, 12 passage + Mab HSV 1-1H 110; C) VZV No. 1, 12 passage + Mab HSV 2 — 2H-208; D) VZV No. 2, 12 passage + patient serum HZ; E) VZV No. 2, 12 passage + Mab HSV 1-1H 110; F) VZV No. 2, 12 passage + Mab HSV 2 — 2H-208; G) Control, HEL-3.

Подписной индекс:
Роспечать – 95001
Прессы России – 41392

