



Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

5

Том 68 • 2023

Volume 68 • Issue 5 • 2023

Издатель:
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
www.crie.ru

Журнал «Вопросы вирусологии» знакомит читателей с достижениями российской и мировой вирусологии, помещает статьи, посвящённые изучению вирусов и вирусных болезней человека, животных и растений. Видное место в издании отводится публикации результатов экспериментальных работ по различным вопросам общей и частной вирусологии. В журнале печатаются материалы, способствующие внедрению в практику достижений вирусологической науки по ликвидации и снижению распространённости инфекционных заболеваний, а также их диагностике, профилактике и лечению.

В обзорных статьях обобщаются последние достижения в области вирусологии. Читатель найдет в журнале описание новых методов исследований, методических приёмов, новой аппаратуры и приспособлений.

Журнал рассчитан на вирусологов, эпидемиологов, паразитологов, фармакологов, биохимиков и других специалистов.

The Journal «Problems of virology» is focused on current advances in virology in Russia and the rest of the world. It covers research in virology and viral diseases of humans, animals, and plants. Emphasis is given to the original experimental studies on various aspects of general and special virology. The reviews of recent and historic developments in virology are regularly published.

The journal promotes the implementation of advances in virology aimed at treatment, reduction of the incidence and elimination of infectious diseases and enhancement of diagnostics, prevention, and treatment practices as well. The target audience of the journal are virologists (including medical and veterinary virologists, scientists and practitioners), epidemiologists, parasitologists, pharmacologists, biochemists and specialists in related medical disciplines.

Журнал входит в базу данных SCOPUS и рекомендованный ВАК «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальностям:

1.5.10 Вирусология (медицинские и биологические науки)

3.2.2 Эпидемиология (медицинские и биологические науки)

3.1.22 Инфекционные болезни (медицинские и биологические науки)

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (медицинские и биологические науки)

В соответствии с рекомендациями ВАК (письмо ВАК от 06.12.2022 № 02-1198), Журнал относится к категории K1, как издание, входящее в базы данных SCOPUS и RSCI.

The journal is indexed in the SCOPUS database and is included in the «List of peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the PhD degree and for the degree of Doctor of Science should be published» recommended by the Higher Attestation Commission for the following specialities:

1.5.10 Virology (medical and biological sciences)

3.2.2 Epidemiology (medical and biological sciences)

3.1.22 Infectious diseases (medical and biological sciences)

3.3.6 Pharmacology, clinical pharmacology (medical and biological sciences)

In accordance with the recommendations of the Higher Attestation Commission (letter of the Higher Attestation Commission dated December 06, 2022 No. 02-1198), the Journal belongs to the K1 category, as a journal included in the SCOPUS and RSCI databases.

Свидетельство о регистрации
ПИ № ФС77-77676 от 29 января 2020 г.
ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)
DOI prefix: 10.36233

Журнал представлен в международных базах данных и информационно-справочных системах: Russian Science Citation Index, Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, CrossRef, DOAJ, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts, ROAD, HYPERLINK, OPENALEX, FATCAT, ZEITSCHRIFTEN DATENBANK

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.

Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

Статьи иностранных авторов
и отдельные статьи, рекомендованные
Редакционной коллегией журнала,
публикуются на русском и английском
языках под единым DOI.

Полные тексты статей журнала
доступны на сайтах:

<https://www.virusjour.crie.ru>;
<https://www.elibrary.ru>;
<https://www.cyberleninka.ru>;
<https://www.rucont.ru>;
<https://www.ebsco.com>;
<https://www.doaj.org>;
<https://www.elsevier.com>

ИЗДАТЕЛЬ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(925) 011-87-79
E-mail: publisher@crie.ru

РЕДАКЦИЯ:

Редакция расположена по адресу
Издателя

E-mail: vopr.virusol@crie.ru

Начальник редакционно-
издательского отдела:
Осокина Ольга Владимировна

Заведующая редакцией:
Неверова Анна Леонидовна

Редакция не несёт ответственности за
содержание рекламных материалов.

К публикации принимаются только
статьи, подготовленные в соответ-
ствии с правилами для авторов
(см. <https://www.virusjour.crie.ru>).

Направляя статью в редакцию,
авторы принимают условия договора
публичной оферты
(<https://www.virusjour.crie.ru>).

Подписано в печать 31.10.2023.
Формат 60×90^{1/8}.

Тираж 50 экз.

«Объединенный полиграфический
комплекс». 115114, Москва,
Дербеневская набережная, 7с2.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

16+

© ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2023

Учредители: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
Всероссийское научно-практическое общество
эпидемиологов, микробиологов и паразитологов

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

5

Том 68 · 2023

Редакционная коллегия

Главный редактор: **ЛЬВОВ Д.К.** (д.м.н., проф., акад. РАН)

Зам. главного редактора: **Гребенникова Т.В.** (д.б.н., проф.,
член-корр. РАН)

Ответственный секретарь: **Альховский С.В.** (д.б.н., член-корр. РАН)

Научный редактор: **Забережный А.Д.** (д.б.н., проф., член-корр. РАН)

Члены редколлегии:

Белоусова Р.В. (д.в.н., проф.)

Галегов Г.А. (д.б.н., проф.)

Гулюкин М.И. (д.в.н., проф., акад. РАН)

Гурцевич В.Э. (д.м.н., проф.)

Ершов Ф.И. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Жирнов О.П. (д.б.н., проф., член-корр. РАН)

Зверев В.В. (д.б.н., проф., акад. РАН)

Зуев В.А. (д.м.н., проф.)

Иванова О.Е. (д.м.н., проф.)

Карганова Г.Г. (д.б.н., проф.)

Колобухина Л.В. (д.м.н., проф.)

Лобзин Ю.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Малеев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Онищенко Г.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Попова А.Ю. (д.м.н., проф.)

Урываев Л.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН)

Юминова Н.В. (д.б.н., проф.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Акимкин В.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Алипер Т.И. (д.б.н., проф.; Москва, Россия)

Антонов В.А. (д.м.н., проф.; Волгоград, Россия)

Бовин Н.В. (д.х.н., проф.; Москва, Россия)

Борисевич С.В. (д.б.н., проф., акад. РАН; Сергиев Посад, Россия)

Брико Н.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Васин А.В. (д.б.н.; Санкт-Петербург, Россия)

Глотов А.Г. (д.в.н., проф.; пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия)

Глулов В.В. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Заседателев А.С. (д.ф.-м.н., проф.; Москва, Россия)

Злобин В.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Иркутск, Россия)

Иванов А.И. (Хабаровск, Россия)

Кузин А.А. (д.м.н.; Санкт-Петербург, Россия)

Кутырев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН; Саратов, Россия)

Леонова Г.Н. (д.м.н., проф.; Владивосток, Россия)

Локтев В.Б. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Лукашев А.Н. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Макаров В.В. (д.б.н., проф.; Москва, Россия)

Мальшев Н.А. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Манапова Э.Р. (д.м.н.; Казань, Россия)

Михайлов М.И. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Негёсов С.В. (д.б.н., проф., акад. РАН; Новосибирск, Россия)

Никифоров В.В. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Панин А.Н. (д.в.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Покровский А.Г. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Новосибирск, Россия)

Резник В.И. (к.м.н.; Хабаровск, Россия)

Романенко В.В. (д.м.н.; Екатеринбург, Россия)

Савельев С.И. (д.м.н., проф.; Липецк, Россия)

Сметанина С.В. (к.м.н.; Москва, Россия)

Степанова Т.Ф. (д.м.н., проф.; Тюмень, Россия)

Тутельян А.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Чвала И.А. (к.в.н.; Владимир, Россия)

Чумаков П.М. (д.б.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Чучалин А.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Шестопалов А.М. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Щелканов М.Ю. (д.б.н., проф.; Владивосток, Россия)

Яшкульов К.Б. (к.м.н., Элиста, Россия)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Becker J. (PhD, MD, Prof.; Jerusalem, Israel)

Compans R.W. (PhD, Prof.; Atlanta, USA)

Fouchier R.A.M. (PhD, Prof.; Rotterdam, Netherlands)

Goujgoulova G. (PhD; Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. (PhD; Greifswald – Insel Riems, Germany)

Kawaoka Y. (PhD, Prof.; Tokyo, Japan)

Kuhn J.H. (MD, PhD, PhD, M.Sc.; Frederick, USA)

Liu W.J. (PhD, Prof.; Beijing, P.R. China)

Mackenzie J. (PhD, Prof.; Brisbane, Australia)

Nymadawa P. (PhD, MD, DSc, Prof.; Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. (DSc; London, UK)

Sakoda Y. (PhD, Assoc. Prof.; Sapporo, Japan)

Suarez D.L. (D.V.M., PhD, A.C.V.M.; Athens, USA)

Tashiro M. (PhD, MD; Tokyo, Japan)

Titov L.P. (MD, PhD, Dr. Sci., Prof., RAS Full Member Minsk, Republic of Belarus)

Turan K. (PhD, Prof.; Istanbul, Turkey)

Vaheri A. (PhD, MD, Prof.; Helsinki, Finland)

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

Yuelong Shu (PhD; Beijing, P.R. China)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration PI no. FS77-77676
ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)
DOI prefix: 10.36233

The Journal is indexed by the following abstracting and indexing services:

Russian Science Citation Index, Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, CrossRef, DOAJ, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts, ROAD, HYPERLINK, OPENALEX, FATCAT, ZEITSCHRIFTEN DATENBANK

The journal is a Platinum Open Access peer-reviewed scholarly journal, which does not charge author fees.

The content is licensed under Commons Attribution International 4.0 CC-BY.

Articles by foreign authors, as well as Russian-language articles specially recommended by the Editorial Board, are published in Russian and English under the same DOI.

Full texts of issues of the journal are available on:

<https://www.virusjour.crie.ru/>;
<https://www.elibrary.ru/>;
<https://www.cyberleninka.ru/>;
<https://www.rucont.ru/>;
<https://www.ebsco.com>
<https://www.doaj.org/>;
<https://www.elsevier.com>

PUBLISHER:

Central Research Institute for Epidemiology,
111123, 3A, Novogireevskaya St.,
Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79.
E-mail: publisher@crie.ru

Head of the Editorial and Publishing Department: *Olga V. Osokina*

EDITORIAL OFFICE:

111123, 3A, Novogireevskaya St.,
Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79
E-mail: vopr.virusol@crie.ru

Head of Editorial Office:
Anna L. Neverova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (<https://www.virusjour.crie.ru/>) are rejected without further consideration.

When the author submits an article to the Editorial Board, he/she accepts the terms and conditions of the public offer agreement (<https://www.virusjour.crie.ru/>).

Signed to the press on October 31, 2023.
Print format 60 × 90^{1/8}.
Circulation 50 copies.

Produced at the «United Printing Complex», 115114, 7b2 Derbenevskaya embankment, Moscow, Russia.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

16+

© Central Research Institute for Epidemiology, 2023

**Founders: Central Research Institute for Epidemiology,
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists**

PROBLEMS OF VIROLOGY

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

SCIENTIFIC THEORETICAL JOURNAL ISSUED
ONCE IN TWO MONTHS

Published since 1956

5

Volume 68 • 2023

EDITORIAL BOARD

**Editor-in-Chief: LVOV D.K., RAS Full Member,
Professor, Dr. Sci. (Medicine)**

Assistant editor in chief: **Grebennikova T.V.**, RAS Corr. Member,
Professor, Dr. Sci. (Biology)

Executive secretary: **Alkhovskiy S.V.**, RAS Corr. Member, Dr. Sci. (Biology)

Scientific editor: **Zaberezhny A.D.**, RAS Corr. Member, Professor,
Dr. Sci. (Biology)

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Belousova R.V. – Professor, Dr. Sci. (Veterinary)

Galegov G.A. – Professor, Dr. Sci. (Biology)

Gulyukin M.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Veterinary)

Gurtsevich V.E. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Ershov F.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Zhirnov O.P. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)

Zverev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)

Zuev V.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Ivanova O.E. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Karganova G.G. – Professor, Dr. Sci. (Biology)

Kolobukhina L.V. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Lobzin Yu.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Maleev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Onishchenko G.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Popova A.Yu. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Uryvaev L.V. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Yuminova N.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology)

EDITORIAL COUNCIL

Akimkin V.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Aliper T.I. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Antonov V.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Volgograd, Russia)

Bovin N.V. – Professor, Dr. Sci. (Chemistry) (Moscow, Russia)

Borisevich S.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Sergiev Posad, Russia)

Briko N.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Vasin A.V. – Dr. Sci. (Biology), (St. Petersburg, Russia)

Glotov A.G. – Professor, Dr. Sci. (Veterinary) (Krasnoobsk, Russia)

Glupov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Zasedatelev A.S. – Professor, Dr. Sci. (Physics and Mathematics) (Moscow, Russia)

Zlobin V.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Irkutsk, Russia)

Ivanov L.I. – MD (Khabarovsk, Russia)

Kuzin A.A. – Dr. Sci. (Medicine) (St. Petersburg, Russia)

Kutyrev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Saratov, Russia)

Leonova G.N. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Vladivostok, Russia)

Loktev V.B. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Lukashev A.N. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Makarov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Malyshev N.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Manapova E.R. – Dr. Sci. (Medicine) (Kazan', Russia)

Mikhailov M.I. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Netesov S.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Nikiforov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Panin A.N. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Veterinary) (Moscow, Russia)

Pokrovskiy A.G. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Novosibirsk, Russia)

Reznik V.I. – MD, PhD (Khabarovsk, Russia)

Romanenko V.V. – Dr. Sci. (Medicine) (Ekaterinburg, Russia)

Savel'ev S.I. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Lipetsk, Russia)

Smetanina S.V. – PhD (Moscow, Russia)

Stepanova T.F. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Tyumen', Russia)

Tutel'yan A.V. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Chvala I.A. – PhD (Vladimir, Russia)

Chumakov P.M. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Chuchalin A.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Shestopalov A.M. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Shchelkanov M.Yu. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Vladivostok, Russia)

Yashkulov K.B. – MD, PhD (Elista, Russia)

INTERNATIONAL EDITORIAL COUNCIL

Becker J. (PhD, MD, Prof.; Jerusalem, Israel)

Compans R.W. (PhD, Prof.; Atlanta, USA)

Fouchier R.A.M. (PhD, Prof.; Rotterdam, Netherlands)

Goujgoulova G. (PhD; Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. (PhD; Greifswald – Insel Riems, Germany)

Kawaoka Y. (PhD, Prof.; Tokyo, Japan)

Kuhn J.H. (MD, PhD, M.Sc.; Frederick, USA)

Liu W.J. (PhD, Prof.; Beijing, P.R. China)

Mackenzie J. (PhD, Prof.; Brisbane, Australia)

Nymadawa P. (PhD, MD, DSc, Prof.; Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. (DSc; London, UK)

Sakoda Y. (PhD, Assoc. Prof.; Sapporo, Japan)

Suarez D.L. (D.V.M., PhD, A.C.V.M.; Athens, USA)

Tashiro M. (PhD, MD; Tokyo, Japan)

Titov L.P. (MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; Minsk, Republic of Belarus)

Turan K. (PhD, Prof.; Istanbul, Turkey)

Vaheri A. (PhD, MD, Prof.; Helsinki, Finland)

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

Yuelong Shu (PhD; Beijing, P.R. China)

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Рубальская Т.С., Ерохов Д.В., Жердева П.Е., Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т.

Глобальное генетическое разнообразие вируса кори (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*): исторические аспекты и современное состояние* 361

Ковыршина А.В., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Должикова И.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л.

Вакцины против болезни, вызванной вирусом Эбола: актуальные проблемы и перспективы 372

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Emami A., Pirbonyeh N., Moattari A., Javanmardi F.

Генетическое разнообразие вируса гриппа В, циркулирующего в Иране в течение десятилетия (2010-2019 гг.): отличие от рекомендованных ВОЗ вакцинных штаммов 385

Догадов Д.И., Кюрегян К.К., Гончаренко А.М., Миносян А.А., Кочконян А.А., Карлсен А.А., Вышемирский О.И., Карал-оглы Д.Д., Михайлов М.И.

Маркеры антропонозных вирусных инфекций у зеленых марштышек, поступивших из мест естественного обитания (Танзания)* 394

Власенко Н.В., Чанышев М.Д., Дубоделов Д.В., Серков А.А., Солопова Г.Г., Сацук А.В., Сницарь А.В., Семенов Т.А., Кузин С. Н., Акимкин В.Г.

Распределение частот аллелей полиморфизмов генов человека, связанных с вирусными инфекциями* 404

Костина Л.В., Филатов И.Е., Елисеева О.В., Латышев О.Е., Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Леснова Е.И., Хаметова К.М., Черепушкин С.А., Савочкина Т.А., Цибезов В.В., Крышень К.Л., Алексеева Л.И., Гребенникова Т.В.

Исследование безопасности и иммуногенности вакцины на основе VLP для профилактики ротавирусной инфекции на модели новорожденных карликовых свиней 415

Ивин Ю.Ю., Бутусова А.А., Гладнева Е.Е., Коломийцева Г.Я., Хапчаев Ю.Х., Ишмухаметов А.А.

Роль белков L и 2A вируса энцефаломиокардита типа 1 в ингибировании синтеза клеточных белков и накоплении вирусных белков при инфекции 428

Николаева Л.И., Стучинская М.Д., Дедова А.В., Шевченко Н.Г., Хлопова И.Н., Кружкова И.С., Меркулова Л.Н., Кистенева Л.Б., Колобухина Л.В., Мукашева Е.А., Краснослободцев К.Г., Трушакова С.В., Крепкая А.С., Куприянов В.В., Никитенко Н.А., Хадорич Е.А., Бурмистров Е.М., Тюрин И.Н., Антипят Н.А., Бурцева Е.И.

Ассоциация полиморфных вариантов генов системы гемостаза с течением COVID-19 445

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

К 90-летию Н.В. Каверина 454

НЕКРОЛОГИ

Наталья Николаевна Беседнова 455

ИНФОРМАЦИЯ

Выход книги History of Arbovirology: Memories from the Field 457

Обновленные наукометрические показатели журнала «Вопросы вирусологии» 458

*Статьи опубликованы на русском и английском языках на сайте журнала: <https://virusjour.crie.ru/jour>

CONTENTS

REVIEWS

- Rubalskaia T.S., Erokhov D.V., Zherdeva P.E., Mamaeva T.A., Tikhonova N.T.**
Global genetic diversity of measles virus (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*):
historical aspects and current state* 361
- Kovyrshina A.V., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V., Dolzhikova I.V., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L.**
Vaccines to prevent Ebola virus disease: current challenges and perspectives 372

ORIGINAL RESEARCHES

- Emami A., Pirbonyeh N., Moattari A., Javanmardi F.**
A decade genetic diversity in Circulating Flu B virus in Iran (2010–2019):
Divergence from WHO-recommended vaccine strains 385
- Dogadov D.I., Kyuregyan K.K., Goncharenko A.M., Minosyan A.A., Kochkonyan A.A., Karlsen A.A., Vyshemirsky O.I., Karal-Ogly D.D., Mikhailov M.I.**
Markers of antroponotic viral infections in vervet monkeys arrived from their natural habitat (Tanzania)* 394
- Vlasenko N.V., Chany`shev M.D., Dubodelov D.V., Serkov A.A., Solopova G.G., Saczuk A.V., Sniczar` A.V., Semenenko T.A., Kuzin S.N., Akimkin V.G.**
Distribution of human gene polymorphisms allele frequencies associated with viral infections* 404
- Kostina L.V., Filatov I.E., Eliseeva O.V., Latyshev O.E., Chernoryzh Ya.Yu., Yurlov K.I., Lesnova E.I., Khametova K.M., Cherepushkin S.A., Savochkina T.E., Tsibezov V.V., Kryshen K.L., Alekseeva L.I., Grebennikova T.V.**
Study of the safety and immunogenicity of VLP-based vaccine for the prevention
of rotavirus infection in neonatal minipig model. 415
- Ivin Yu. Yu., Butusova A.A., Gladneva E.E., Kolomijtseva G.Ya., Khapchaev Yu.K., Ishmukhametov A.A.**
The role of the encephalomyocarditis virus type 1 proteins L and 2A in the inhibition
of the synthesis of cellular proteins and the accumulation of viral proteins during infection 428
- Nikolaeva L.I., Stuchinskaya M.D., Dedova A.V., Shevchenko N.G., Khlopova I.N., Kruzhkova I.S., Merkulova L.N., Kisteneva L.B., Kolobukhina L.V., Mukasheva E.A., Krasnoslobodtsev K.G., Trushakova S.V., Krepkaya A.S., Kuprianov V.V., Nikitenko N.A., Hadorich E.A., Burmistrov E.M., Tyurin I.N., Antipyat N.A., Burtseva E.I.**
Association of polymorphic variants of hemostatic system genes with the course of COVID-19 445

ANNIVERSARY DATES

- To the 90th anniversary of N.V. Kaverin 454

OBITUARY

- Natalia N. Besednova 455

INFORMATION

- Release of the book «History of Arbovirology: Memories from the Field». 457
- Updated scientometric indicators of the journal «Problems of Virology» 458

ОБЗОРЫ

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-187>

© РУБАЛЬСКАЯ Т.С., ЕРОХОВ Д.В., ЖЕРДЕВА П.Е., МАМАЕВА Т.А., ТИХОНОВА Н.Т., 2023



Глобальное генетическое разнообразие вируса кори (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*): исторические аспекты и современное состояние

Рубальская Т.С.✉, Ерохов Д.В., Жердева П.Е., Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т.

ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, Россия

Резюме

Мониторинг циркуляции вируса кори и изучение его генетического разнообразия является важным компонентом программы элиминации кори. Методический подход к молекулярно-генетическим исследованиям и их интерпретации с целью надзора за корью был разработан в начале 2000-х гг. В период его разработки были установлены четкие ареалы циркуляции каждого генотипа вируса, в связи с чем определение генотипов выделенных вирусов было предложено для мониторинга их циркуляции и выявления путей передачи. Однако в дальнейшем, по причине значительного снижения количества активных генотипов вируса, был предложен подход, основанный на субгенотипировании: определении не только генотипа вируса, но и его генетической линии/генетического варианта. Глобальная сеть лабораторий по кори и краснухе (GMRLN) проводит систематический мониторинг циркуляции вируса кори на субгенотипическом уровне, депонируя результаты в специализированную базу данных MeaNS2, которая является наиболее полным и достоверным источником сведений о генетической характеристике вирусов кори. В настоящем обзоре представлены как исторические сведения, так и последняя информация о глобальном генетическом разнообразии вируса кори.

Ключевые слова: обзор; вирус кори; корь; генотип; генетическая линия; генетический вариант; генотипирование

Для цитирования: Рубальская Т.С., Ерохов Д.В., Жердева П.Е., Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т. Глобальное генетическое разнообразие вируса кори (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*): исторические аспекты и современное состояние. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 361–371. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-187> EDN: <https://elibrary.ru/bfzbei>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-187>

Global genetic diversity of measles virus (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*): historical aspects and current state

Tatiana S. Rubalskaia✉, Denis V. Erokhov, Polina E. Zherdeva, Tamara A. Mamaeva, Nina T. Tikhonova

G.N. Gabrichevsky Moscow research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 125212, Moscow, Russia

Abstract

Monitoring the circulation of the measles virus and studying its genetic diversity is an important component of the measles elimination program. A methodological approach to molecular genetic studies and their interpretation in the measles surveillance was developed in the early 2000s. During its development, clear areas of circulation of each

genotype of the virus were identified, therefore, the determination of viruses' genotypes was proposed to monitor circulation and identify transmission pathways. However, in the future, due to a significant decrease in the number of active genotypes, an approach based on sub-genotyping was proposed: determining not only the genotype of the virus, but also its genetic lineage/genetic variant. The Global Measles and Rubella Laboratory Network (GMRLN) systematically monitors the circulation of the measles virus at the sub-genotypic level, depositing the results in a specialized database MeaNS2. It is this database that is the most complete and reliable source of information about the genetic characteristic of measles viruses.

This review presents both historical information and the latest data on the global genetic diversity of the measles virus.

Keywords: review; measles virus; measles; genotype; genetic line; genetic variant; genotyping

For citation: Rubalskaia T.S., Erokhov D.V., Zherdeva P.E., Mamaeva T.A., Tikhonova N.T. Global genetic diversity of measles virus (Paramyxoviridae: *Morbillivirus: Morbillivirus hominis*): historical aspects and current state (In Russ.). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 361–371. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-187> EDN: <https://elibrary.ru/bfzbei>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

Генотипирование штаммов вируса кори, определение времени их циркуляции и географического распространения является одним из неотъемлемых компонентов качественного эпидемиологического надзора за корью, который должен быть обеспечен во всех странах, принявших программу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по контролю и элиминации кори [1].

Установление принадлежности вируса кори к одному из 24 известных генотипов, а также определение генетической линии или варианта выделенных штаммов возбудителя – одна из задач лабораторий, входящих в глобальную сеть лабораторий ВОЗ по кори и краснухе (WHO Global measles and rubella laboratory network, WHO GMRLN). WHO GMRLN основана в 2000 г. с целью надлежащего обеспечения лабораторной диагностики и мониторинга циркуляции возбудителей. Она охватывает 191 страну и состоит из трех глобальных специализированных лабораторий, 14 региональных референс-лабораторий, 180 национальных и 506 субнациональных лабораторий [2]. В Российской Федерации функция национальной лаборатории, а также референс-лаборатории для СНГ возложена на Национальный научно-методический центр по надзору за корью и краснухой на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.

Лабораторный консорциум WHO GMRLN осуществляет мониторинг циркуляции вируса кори на постоянной основе. Стандартным подходом к определению генотипа возбудителя в настоящее время является секвенирование 450 нуклеотидов (нт), кодирующих 150 аминокислот СООН-концевого участка нуклеопротеина вируса (так называемое «окно секвенирования») – N-450 [3, 4]. Дополнительно в странах, достигших элиминации кори или близких к этому, допустимо использование расширенных участков генома вируса для анализа, к которым относятся полная нуклеотидная последовательность гена *H* (1854 нт), некодирующий участок 1018 нт между генами *M* и *F* (MF-NCR); кроме этого, возможно полногеномное секвенирование вируса [5]. Использование расширенных участков для генетического мониторинга показывает хорошие ре-

зультаты в научных исследованиях, однако их глобальное внедрение в лабораторную сеть невозможно в силу отсутствия на сегодняшний день стандартизированных методик анализа и интерпретации результатов [5].

Известно о попытках создания и внедрения генотип-специфической полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в работу лабораторий WHO GMRLN [6]. Предполагалось, что методика станет альтернативой секвенированию, однако она не получила распространения, поскольку не позволяет выявлять мутации и отслеживать цепочки передачи генетических линий и вариантов. Генотип-специфическая ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени применяется исключительно для дифференцировки вакцинных и диких штаммов у больных с недавней вакцинацией в анамнезе [7, 8].

Результаты генотипирования всех выделенных в ходе мониторинга вирусов депонируют в специализированную базу данных MeaNS2 (Measles virus nucleotide surveillance; <https://who-gmrln.org/means2>), созданную и поддерживаемую WHO GMRLN. Репозиторий MeaNS2 – усовершенствованная версия предыдущей базы данных MeaNS, действовавшей до 2021 г. На протяжении почти 10 лет мониторинг циркуляции вируса кори основан не только на генотипировании, но и на субгенотипировании: определении генетической линии и генетического варианта выделенных штаммов. Данные субгенотипирования также должны быть депонированы [3]. База данных MeaNS2 на сегодняшний день содержит 59 176 нуклеотидных последовательностей «окна секвенирования» вируса кори, 256 последовательностей MF-NCR, 169 последовательностей гена *H*, 167 полногеномных последовательностей вируса кори; кроме того, согласно информации, содержащейся в репозитории, за весь период мониторинга было выделено 70 генетических линий и 5,5 тыс. генетических вариантов [9].

Именно информация о генетической характеристике вирусов кори, депонированная в MeaNS2, является наиболее полной и достоверной и используется для мониторинга циркуляции патогена, поскольку регулярно дополняется всеми лабораториями, осу-

ществляющими исследования в рамках деятельности WHO GMRLN.

Цель настоящего обзора – представление актуальной информации о современной номенклатуре и глобальном генетическом разнообразии вируса кори на основании данных литературы и базы данных MeaNS2.

Характеристика вируса

По классификации Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) вирус кори относится к семейству Paramyxoviridae, роду *Morbillivirus*, виду *Morbillivirus hominis* [10]. Геном вируса представлен одноцепочечной несегментированной (–)РНК, имеет длину порядка 15,8 тыс. нт и кодирует 8 белков. Шесть неперекрывающихся структурных генов расположены линейно и кодируют 6 структурных белков: нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), фузионный белок (F), гемагглютинин (H), полимеразу («большой» белок L). Ген P кодирует дополнительно два неструктурных белка, C и V [11]. Наиболее значимыми с иммунологической точки зрения являются трансмембранные вирусные белки – H и F, и белок N, формирующий рибонуклеопротеиновый комплекс, участвующий в транскрипции и трансляции РНК. Антитела к N-белку появляются на самом раннем этапе инфекционного процесса, однако длительный иммунитет связан с трансмембранными белками вируса кори. Показано, что H-белок участвует в связывании вирусной частицы с клеточными рецепторами (CD150, нектин-4), F-белок обеспечивает слияние мембран и проникновение вирусного генома в клетку. Гемагглютинин провоцирует сильный иммунный ответ в виде образования нейтрализующих антител, за счет которых преимущественно формируется постинфекционный и поствакцинальный иммунитет [12, 13].

Установлено, что C-концевой участок 150 аминокислот белка N является наиболее вариабельным для морбилливирусов [14]. В иммунологическом отношении не выявлено отличий между вирусами, принадлежащими к разным генотипам, генетическим линиям или вариантам [15, 16].

Исторические представления о генетическом разнообразии вируса кори

Изучение генетического разнообразия вируса кори началось еще в 80-е годы прошлого века. Накопленные данные послужили основой для создания в 1998 г. стандартизированной номенклатуры вируса, основанной на географических характеристиках и филогенетических взаимоотношениях возбудителя. На совещании экспертной комиссии ВОЗ по вопросам реализации программы элиминации кори впервые был предложен единый подход к методике определения генотипа вируса кори с целью внедрения молекулярно-генетического мониторинга в стандарты эпидемиологического надзора [4].

На этапе разработки и внедрения универсальных подходов к глобальным молекулярно-эпидемиологи-

ческим исследованиям вируса кори в конце 1990-х гг. было установлено, что в разных частях света преимущественно циркулировали вирусы разных генотипов. Согласно данным, имеющимся на 1998–2001 гг., генетическое разнообразие вируса кори в мире было представлено восемьюкладами (каждая клада обозначается буквой латинского алфавита: с А до Н), включающими в себя 15 субклад-генотипов, из которых 11 были классифицированы как активные [4, 17]. Неактивные генотипы на момент подготовки первой унифицированной номенклатуры вируса кори в 2001 г. были представлены генотипами F, D1, E и G. Понятие «неактивный» («вымерший») генотип подразумевает под собой генотип, глобально не встречавшийся в ходе мониторинга 10 лет и более [4].

В опубликованных в 2001 г. рекомендациях было не только впервые систематизировано и описано генетическое разнообразие вируса кори в разных частях света, но и предложено унифицированное наименование выделенных вирусов, которое применяется до настоящего времени во всех странах, осуществляющих надзор за корью [17, 18].

Стандартное наименование вирусов кори и их нуклеотидных последовательностей осуществляется по следующим правилам на английском языке [17]:

1. Источник последовательности – изолят на культуре клеток (MVi) или образец биологической жидкости от больного корью (MVs).
2. Географическая локация, в которой зарегистрирован случай кори. При наименовании штаммов, выделенных в России, традиционно указывается центр соответствующего субъекта.
3. Трехбуквенный код страны в формате ISO-3166.
4. Порядковый номер недели, на которой зарегистрирован случай, а также год.
5. В случае описания нескольких последовательностей, выделенных в течение одной недели, указывается порядковый номер последовательности. Кроме того, может быть сделано отдельное обозначение для случаев, выделенных от больных с подострым склерозирующим панэнцефалитом (ПСПЭ); может быть указан источник импортирования.

Информация, представленная в пунктах 1–4, является обязательной и позволяет однозначно идентифицировать вирус. Например, запись MVi/Perm. RUS/12.09 означает, что описываемая последовательность получена из изолята вируса в г. Перми в России на 12-й неделе 2009 г.

Второй пересмотр номенклатуры вируса кори состоялся в 2003 г. Увеличение количества данных о генетической принадлежности вирусов, выделенных в разных странах, позволило расширить список генотипов. В составе восьми клад были выделены следующие генотипы: A, B1–B3, C1–C2, D1–D9, E, F, G1–G3, H1–H2. Из 22 известных генотипов активными в 2003 г. были признаны 16, список инактивированных генотипов пополнился еще двумя – B1 и B2 [19].

Следующее обновление произошло в 2005–2006 гг.; к 22 уже известным генотипам вируса кори был добавлен еще один – D10, а генотип B2, вновь выде-

ленный в странах Западной Африки, был исключен из списка неактивных генотипов [20, 21].

Современные представления о генетическом разнообразии вируса опубликованы в 2012 г., при этом были добавлены сведения о генотипе D11 – последнем, 24-м известном генотипе [3]. Последнее опубликованное обновление номенклатуры вируса кори датируется 2015 г. (таблица). Согласно обновлению, из всех известных генотипов вируса глобально активны только 6: B3, D4, D8, D9, G3, H1. С учетом того, что вирусологический надзор и мониторинг циркуляции вируса кори к моменту публикации последних обновленных сведений о глобальном генетическом разнообразии вируса проводились на регулярной основе в 135 странах – членах ВОЗ, то весьма вероятно, что научное сообщество располагало исчерпывающими данными для того, чтобы отнести остальные генотипы вирусов дикого типа к вымершим [3, 22].

Теоретически даже в настоящее время возможно появление новых генотипов. Согласно номенклатуре вируса кори, введенной ВОЗ в 2012 г., для нового генотипа необходимо наличие последовательностей N-450 и гена *H*, полученных на основе данных от разных случаев, при этом должен быть доступен хотя бы один вирусный изолят; новый генотип должен быть эпидемиологически значимым; должен быть проведен филогенетический анализ с учетом всех доступных последовательностей участка N-450 и гена *H*, а не только референсных последовательностей; предполагаемый генотип не должен образовывать кластер с внутренним предковым узлом в пределах существующего генотипа; ветвь, относящаяся к предполагаемому генотипу, должна иметь бутстреп-поддержку более 90% при совпадении топологии филогенетических деревьев, построенных на основе последовательностей участка N-450 и гена *H* [3, 9, 22].

Таблица. Генотипы вируса кори, действующая номенклатура [9, 22]

Table. Genotypes of measles virus, current nomenclature [9, 22]

Генотип Genotype	Референс-штамм Reference strain	Последняя изоляция, год, страна Last detected, year, country	Статус (активный/неактивный) Status (active/inactive)
A (VAC)	MVi/Maryland.USA/0.54	2022 г. / 2022	Активный / Active
B1	MVi/Yaounde.CMR/12.83	2008 г., Франция / 2008, France	Неактивный / Inactive
B2	MVi/Libreville.GAB/0.84	2011 г., Франция / 2011, France	Неактивный / Inactive
B3	MVi/New York.USA/0.94 MVi/Ibadan.NGA/0.97/1	Глобальная циркуляция с середины 2000-х гг. / Circulates globally since 2000s	Активный / Active
C1	MVi/Tokyo.JPN/0.84	Начало 1990-х гг. / Early 1990s	Неактивный / Inactive
C2	MVi/Maryland.USA/0.77 MVi/Erlangen.DEU/0.90	2004 г., Великобритания / 2004, United Kingdom	Неактивный / Inactive
D1	MVi/Bristol.GBR/0.74	1986 г., Япония / 1986, Japan	Неактивный / Inactive
D2	MVi/Johannesburg.ZAF/0.88/1	2005 г., Демократическая Республика Конго / 2005, Democratic Republic of the Congo	Неактивный / Inactive
D3	MVi/Illinois.USA/0.89/1	2013 г., США / 2013, USA	Неактивный / Inactive
D4	MVi/Montreal.CAN/0.89	2020 г., Индия / 2020, India	Активный / Active
D5	MVi/Palau.PLW/0.93 MVi/Bangkok.THA/12.93/1	2015 г., Китай / 2015, China	Активный / Active
D6	MVi/New Jersey.USA/0.94/1	2007 г., Казахстан / 2007, Kazakhstan	Неактивный / Inactive
D7	MVi/Victoria.AUS/16.85 MVi/Illinois.USA/50.99	2003 г., Великобритания / 2003, United Kingdom	Неактивный / Inactive
D8	MVi/Manchester.GBR/30.94	Глобальная циркуляция с середины 2000-х гг. / Circulates globally since 2000s	Активный / Active
D9	MVi/Victoria.AUS/12.99	2019 г., Швейцария / 2019, Switzerland	Активный / Active
D10	MVi/Kampala.UGA/51.00/1	2005 г., Демократическая Республика Конго / 2005, Democratic Republic of the Congo	Неактивный / Inactive
D11	MVi/Menglian.Yunnan.CHN/47.09	2010 г., Китай / 2010, China	Неактивный / Inactive
E	MVi/Goettingen.DEU/0.71	1987 г., Германия / 1987, Germany	Неактивный / Inactive
F	MVs/Madrid.ESP/0.94 [SSPE]	1994 г., Испания / 1994, Spain	Неактивный / Inactive
G1	MVi/Berkeley.USA/0.83	1984 г., США / 1984, USA	Неактивный / Inactive
G2	MVi/Amsterdam.NLD/49.97	2001 г., Таиланд / 2001, Thailand	Неактивный / Inactive
G3	MVi/Gresik.IDN/18.02	2014 г., Израиль / 2014, Israel	Неактивный / Inactive
H1	MVi/Hunan.CHN/0.93/7	2019 г., Китай / 2019, China	Активный / Active
H2	MVi/Beijing.CHN/0.94/1	2003 г., Вьетнам / 2003, Vietnam	Неактивный / Inactive

Субгенотипирование вируса кори для повышения чувствительности эпиднадзора

Методики субгенотипирования – определение генетической линии и генетического варианта, без которых в настоящее время не обходится качественный эпидемиологический надзор, впервые были внедрены в 2012 г. Подход субгенотипирования первоначально был применен для генотипов, широко распространенных географически и доминирующих в структуре вирусной популяции длительное время. Использование методик субгенотипирования в эпидемиологическом надзоре впервые было описано для генотипов D4 (страны Европы, 2007–2011 гг.) и B3 (страны Африки, 2009–2011 гг.) [3]. В дальнейшем были выделены генетические линии и для других генотипов вируса; по состоянию на 2023 г. определены 23 линии генотипа B3, 10 линий генотипа D4, 1 линия генотипа D5, 2 линии генотипа D6, 26 линий генотипа D8, 2 линии генотипа D9, 6 линий генотипа H1 [9].

Генетические линии вируса кори и их генетические варианты – более мелкие таксономические единицы, нежели генотипы. Генетический вариант – последовательность, отличающаяся на 1 нт и более от исходного генотипа или генетической линии. При циркуляции вирусов, принадлежащих одному генетическому варианту, на территории нескольких стран в течение более 2 лет, возможно выделение геноварианта в самостоятельную линию. Каждая генетическая линия имеет репрезентативный «наименованный штамм», который, как правило, совпадает с наименованием первого глобально выделенного штамма [22].

Внедрение методик субгенотипирования направлено исключительно на повышение чувствительности вирусологического мониторинга в эпидемиологическом надзоре. Субгенотипирование вируса кори на практике позволяет ретроспективно уточнить и при необходимости откорректировать связи в эпидемической цепочке. Нередки случаи социркуляции нескольких генетических вариантов вируса кори на одной территории в одно время; в подобных ситуациях определение генетической принадлежности возбудителей к разным геновариантам позволяет дифференцировать цепочки передачи инфекции. И напротив: выявление идентичных генетических вариантов возбудителя у единичных случаев может стать основанием для объединения их в одну вспышку (цепочку), при условии, что цепочка ограничена одним максимальным инкубационным периодом (21 день). В масштабах страны ежегодно проводится анализ заболеваемости корью с учетом данных о генетической принадлежности выделенных штаммов вируса, что является одним из ключевых аспектов доказательства достижения элиминации кори или продолжения ее эндемичной передачи.

Современные данные о географическом распространении генотипов вируса кори

Вирусы клады А

К кладе А были отнесены вакцинные штаммы: это касается не только штаммов, полученных

из оригинального изолята Edmonston в 1954 г. (штаммы Moraten, Schwarz, Edmonston-Zagreb, АИК-С), но и штаммов, происходящих от диких вирусов (Shanghai-191, Chanchun-47, САМ-70, Ленинград-16) [23–25]. Тот факт, что штаммы, используемые для изготовления вакцин, были в большинстве выделены в середине прошлого столетия, может косвенно указывать на широкое распространение генотипа А в довакцинальную эру. Однако имеющиеся в распоряжении в период разработки унифицированной номенклатуры данные о генетической принадлежности вируса кори позволили сделать вывод о том, что все случаи выделения вирусов генотипа А у больных были связаны с недавней вакцинацией, а не с трансмиссией диких вирусов [4, 9, 17].

Вирусы клады В

Вирусы клады В исходно были распространены в странах Африки. Для вирусов генотипов В1 и В2 были определены узкие ареалы циркуляции: вирус генотипа В1 были отмечены только в Камеруне, генотипа В2 – в Габоне. Все представленные на тот момент образцы, относящиеся к генотипам В1 и В2, были выделены в 1980-е гг. Для вирусов генотипа В3 была описана циркуляция не только в Центральной Африке, но и в Западной (Гамбия, Гана, Нигерия) и Восточной (Кения, Судан) [4, 17].

Считается, что генотипы В1 и В2 являются вымершими. Последний выделенный глобально вирус генотипа В1 был обнаружен во Франции в 2008 г., после чего не было сообщений о продолжении его трансмиссии [26]. Также во Франции в 2011 г. был отмечен последний штамм, принадлежащий генотипу В2 [27].

Генотип В3 был широко распространен по всему африканскому континенту, до середины 2000-х гг. генотип описывался как эндемичный для стран Африки [20, 28, 29]. В дальнейшем вирусы генотипа В3 широко распространились в мире, в настоящее время активно циркулируют практически во всех странах; количество записей о нуклеотидных последовательностях вирусов генотипа составляет 15 487. Генотип В3 – единственный генотип в кладе В, для которого выделены генетические линии. Формирование столь большого количества линий (23 линии) связано именно с длительной циркуляцией генотипа на разных географических территориях. Согласно информации в базе MeaNS2 по состоянию на 2023 г., в мире циркулирует генетическая линия генотипа В3 MVs/Quetta.РАК/44.20, а также геноварианты иных генетических линий [9].

Вирусы клады С

Вирусы кори клады С представлены двумя генотипами – С1 и С2. Генотип С1 был распространен в Японии до начала 90-х гг. [30], а также в Испании [31]. Из-за отсутствия систематического мониторинга вируса кори до середины 2000-х гг. мы не располагаем информацией об изоляции вирусов данного генотипа в других регионах. Вирусы кори, относящиеся к генотипу С2, были распространены в странах Европы до середины 2000-х гг. [9, 17, 31–33]. Последний

вирус дикого типа, принадлежащий генотипу С2, был выделен в Великобритании в 2004 г. [34], также сообщалось об изоляции штамма кори С1 от больного ПСПЭ в 2019 г. в Германии [35]. Клада С в настоящее время признана неактивной.

Вирусы клады D

Самая многочисленная и генетически разнородная клада вирусов кори D включает в себя 11 генотипов. Семь генотипов клады в настоящее время не циркулируют, их передача либо не была задокументирована, в связи с чем вирусы некоторых генотипов известны только ретроспективно (генотип D1), либо была прервана (генотипы D2, D3, D7, D10, D11).

За период активного мониторинга передачи вируса кори нет данных об инфицировании вирусами генотипа D1. Штаммы D1 – самого древнего генотипа в кладе – были выделены только от случаев ПСПЭ; все заболевшие перенесли корь в период 1960–1970 гг., что указывает на активность генотипа в этот период [22, 36]. Вирусы, принадлежащие генотипу D2, были зарегистрированы в Южной Африке, где циркулировали по меньшей мере до 2005 г.; их трансмиссия в африканском регионе сопровождалась периодическим импортированием вирусов генотипа в страны Европы [17, 22, 37]. Генотип D3 считался эндемичным для стран Восточной Азии до 2003 г.; вирусы были выделены преимущественно в Японии и Китае [17, 30, 38]. Вирусы генотипа D7, ранее распространенного в странах Европейского региона, глобально не циркулируют с 2003 г. [9, 17, 39]. Известно, что генотипы D10 и D11 вируса кори не циркулируют уже достаточно продолжительное время. Единичные случаи, связанные с генотипом D10, зарегистрированы в Уганде, Демократической Республике Конго и Великобритании в течение 2000–2005 гг. [9, 40]. Генотип D11 вызвал вспышку кори в Китае в 2009–2010 гг. [41].

Генотипы вируса кори, представители которых не были зарегистрированы в ходе глобального мониторинга более 10 лет, могут быть классифицированы как «вымершие». Однако некоторые генотипы хоть и не были изолированы достаточно давно, все еще формально относятся к активным, не преодолев 10-летний перерыв в циркуляции. Например, эндемичный для Японии и, возможно, для некоторых других стран Восточной и Юго-Восточной Азии генотип D5, представленный одной генетической линией, MVs/Okinawa.JPN/37.06, был активен до 2015 г., после чего его глобальная трансмиссия прервалась [9, 30, 42, 43]. Генотип D9, распространенный в мире с 2002 г., представлен двумя генетическими линиями: MVs/Bristol.GBR/13.05 и MVs/Yamanashi.JPN/51.12. Обе линии циркулировали преимущественно в странах Европы; линия MVs/Bristol.GBR/13.05 и ее геноварианты были активны до 2014 г., вирусы, относящиеся к линии MVs/Yamanashi.JPN/51.12, – до 2019 г. [9].

Генотип D4 уже на момент создания первой унифицированной номенклатуры вируса кори характеризовался широким распространением в мире. В не-

которых странах, в том числе на территории России, вирусы кори генотипа D4 циркулировали длительное время [17, 31, 44–48]. Результатом длительной и активной глобальной передачи генотипа стала его дивергенция на 10 генетических линий. Последние штаммы генотипа, принадлежавшие генетической линии MVs/Manchester.GBR/10.09, были выделены в ходе глобального мониторинга в 2020 г. на территории Индии [9].

Наиболее активной глобальной циркуляцией в настоящее время характеризуется генотип D8. Первые штаммы генотипа зарегистрированы в конце 1990-х гг., первоначально генотип был определен как эндемичный для стран Африки и Индии [17]. Однако в дальнейшем вирусы генотипа широко распространились в мире, наряду с генотипом B3 доминируя в структуре глобальной заболеваемости на сегодняшний день. За счет активной передачи генотипа с течением времени внутри него сформировалось 26 генетических линий. По данным репозитория MeaNS2, в 2023 г. циркулируют две генетические линии D8: MVs/Patan.IND/16.19 и MVs/Victoria.AUS/6.11, и их генетические варианты. Кроме того, для некоторых стран эпидемиологическую значимость имеют геноварианты иных линий [9].

Вирусы клады E и F

В течение активного глобального молекулярно-генетического мониторинга вируса кори не было выделено вирусов дикого типа, относящихся к кладам E и F; клады выделены на основании вирусов, полученных от больных ПСПЭ [9, 17, 22, 44].

Вирусы клады G

Клада G представлена тремя генотипами, из которых вирусы генотипов G1 и G2 не циркулировали с 2001 г. Ранее вирусы генотипа G1 были выделены в США, вирусы генотипа G2 были эндемичными для Юго-Восточной Азии (Индонезия, Малайзия, Таиланд), а также непродолжительное время циркулировали в Европе (Германия, Нидерланды) [9, 17, 43, 49].

Генотип G3, впервые выделенный при случаях кори в Юго-Восточной Азии в 2002 г., циркулировал на низком эпидемиологическом уровне в странах Западно-Тихоокеанского региона, США и Западной Европе до 2014 г. [9].

Клада G вирусов кори в настоящее время не циркулирует, вероятно она будет определена как вымершая.

Вирусы клады H

Эндемичной для стран Восточной Азии, в первую очередь для Китая, признана клада H, включающая в себя два генотипа [17]. Оба генотипа – H1 и H2 – были распространены в Китае, Вьетнаме, Южной Корее, откуда активно импортировались в другие страны [9, 17, 46, 50–53]. Для генотипа H1 выделено 6 генетических линий, одна из которых – линия MVs/Henan.CHN/9.16/7 – была активна до 2019 г. Отсутствуют данные о случаях кори, связанных с генотипами клады H, после 2019 г.; заболеваемость в ра-

нее эндемичных по генотипу странах с 2020 г. связана с генотипами D8 и B3 [9].

Глобальная субгенотипическая характеристика вируса кори

После периода низкой заболеваемости корью в мире на фоне ограничительных мероприятий, направленных на борьбу с новой коронавирусной инфекцией, наблюдается глобальный подъем заболеваемости корью. По данным ВОЗ, в Европейском регионе в 2021 г. было зарегистрировано всего 116 случаев кори [54], в 2022 г. – 903 случая [55], а за 4 месяца 2023 г. – уже 3832 случая [56].

На протяжении нескольких лет отмечается устойчивая тенденция к глобализации циркуляции вирусов кори двух генотипов: B3 и D8. Так, все зарегистрированные случаи заболевания в 2021–2023 гг. были связаны с вирусами этих генотипов [9]. Для описания глобального генетического разнообразия в условиях циркуляции только двух генотипов нельзя обойтись без субгенотипической характеристики вирусов, выделенных в мире, поскольку на основании определения только генотипа не представляется возможным проведение молекулярно-эпидемиологических исследований.

Широкомасштабные мероприятия по контролю инфекции и достижение многими странами элиминации кори привели к существенным изменениям в генетическом пейзаже вируса. Если ранние представления о географии вируса основывались на четком разделении ареалов циркуляции разных генотипов, то с течением времени произошло серьезное сокращение генетического разнообразия вируса кори как закономерное следствие усилий мирового медицинского сообщества по контролю и элиминации заболевания.

Современные представления о генетическом разнообразии вируса кори включают в себя не только генотипы, но и генетические линии внутри генотипов, а также генетические варианты этих линий. Линии и варианты вируса кори – оперативные таксономические единицы, применяемые для характеристики циркуляции вируса при эпидемиологическом надзоре с 2012 г., пришедшие на место генотипам [3]. На сегодняшний день репозиторий MeaNS2 содержит информацию о 70 генетических линиях и 5,5 тыс. геновариантов вируса кори. Подобное генетическое разнообразие связано с тем, что в условиях эпидемиологического надзора за корью и обязательного лабораторного подтверждения заболевания, каждый генетический вариант вируса должен быть зафиксирован, после чего каждому новому варианту базой MeaNS2 должен быть присвоен уникальный номер – DSid (distinct sequence id).

Заболеваемость корью в мире в 2021–2023 гг. была обусловлена вирусами, принадлежащими генотипам D8 и B3. По имеющимся данным, к генотипу D8 относятся 1411, к генотипу B3 – 1469 штаммов. Если в количественном отношении распределение случаев между генотипами примерно одинаковое, то сте-

пень дивергенции существенно выше у генотипа B3, который был представлен 5 генетическими линиями и 319 геновариантами. К генотипу D8 принадлежит 6 генетических линий и 136 генетических вариантов вируса.

Наибольшее эпидемиологическое значение по времени циркуляции и количеству выделенных штаммов в 2021–2023 гг. имеют линии D8 MVs/Patan.IND/16.19, MVs/Victoria.AUS/6.11 и MVs/Gir Somnath.IND/42.16. За счет активной трансмиссии в Индии вирусы линий MVs/Patan.IND/16.19 и MVs/Victoria.AUS/6.11 были неоднократно экспортированы, вызвав вспышки кори во многих странах, которые продолжаются в настоящее время. Передача вирусов линии MVs/Gir Somnath.IND/42.16 прервалась в середине 2021 г., последняя зарегистрированная крупная вспышка кори, связанная с линией, зафиксирована в Бразилии.

Из 228 генетических вариантов вирусов кори, принадлежащих генотипу D8, значимый вклад в структуру заболеваемости имели только 6. Длительная передача и широкий географический ареал распространения в целом не характерны для генетических вариантов вируса, однако возможны при условии множественного импортирования. Установлено, что родственной линии MVs/Patan.IND/16.19 геновариант 8248 был впервые выделен во время вспышки кори в Таджикистане, начавшейся в 2021 г. Результатом импортирования из Таджикистана стало появление геноварианта на территории России, где в 2022–2023 гг. наблюдается существенный подъем заболеваемости корью, связанный преимущественно с геновариантом 8248. Во многом поддержание циркуляции указанного варианта в России осуществляется за счет продолжающихся завозов кори из Таджикистана. Кроме того, в 2023 г. зарегистрированы единичные случаи кори, связанные с этим вариантом, в Казахстане, Чехии, Великобритании и США.

Другой генетический вариант линии D8 MVs/Patan.IND/16.19 – 8348 – на протяжении 2022 г. циркулировал в Индии, а впоследствии был выделен также от больных корью в Швеции и Новой Зеландии. Кроме того, преимущественно в Индии отмечены длительно циркулирующие геноварианты, родственные иным линиям. Вариант 8278 – родственной линии D8 MVi/Hulu Langat.MYS/26.11, вариант 8318 – MVi/Delhi.IND/01.14/06, вариант 8350 – MVs/London.GBR/21.16/2. Длительно сохраняющаяся местная передача геновариантов послужила причиной их диссеминации в другие регионы, преимущественно в западноевропейские страны и страны Северной Америки.

Вирусы генетической линии B3 MVs/Quetta.PAK/44.20, впервые появившейся в 2020 г., доминируют в генетической структуре генотипа и распространены преимущественно в странах Южной (Пакистан, Афганистан) и Западной Азии (Саудовская Аравия, Иран, ОАЭ). Результатом активной передачи линии MVs/Quetta.PAK/44.20 стало появление и закрепление в популяции ее геновариантов 6382, 6464, 6493. Вирусы указанных вариантов на протяжении более года

циркулировали в регионах с широким распространением предковой линии.

На протяжении 2020–2023 гг. существенный вклад в заболеваемость корью в ряде стран имеет генетический вариант 5631, происходящий от линии В3 MVs/Kansas.USA/1.12. Преимущественным ареалом циркуляции варианта являются Индонезия и Саудовская Аравия, единичные импортированные случаи кори зарегистрированы в Турции и Нидерландах.

Заключение

Усилия мирового медицинского сообщества, направленные на контроль и элиминацию кори, привели к постепенному сокращению генетического разнообразия вируса. Глобальный генетический пейзаж патогена с 2021 г. представлен исключительно вирусами, принадлежащими генотипам В3 и D8; в настоящее время невозможна четкая филогеографическая кластеризация генотипов кори, как это было ранее. В условиях снижения разнообразия в плане количества генотипов, с одной стороны, и увеличения количества генетических вариантов внутри циркулирующих генотипов – с другой, появилась необходимость применения при молекулярно-эпидемиологическом надзоре субгенотипического подхода. Определение последовательности 450 нт гена *N* вируса кори и филогенетический анализ полученных данных с использованием базы данных MeaNS2 позволяют WHO GMRLN осуществлять мониторинг циркуляции вируса и определять ареалы циркуляции генетических линий и геновариантов вируса. Выявление новых линий и их генетических вариантов имеет значение в первую очередь в эпидемиологическом надзоре и в определении статуса элиминации кори.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Measles: Vaccine Preventable Diseases Surveillance Standards. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/vaccine-preventable-diseases-surveillance-standards-measles>
2. Mulders M.N., Rota P.A., Icenogle J.P., Brown K.E., Takeda M., Rey G.J., Ben Mamou M.C., Dosseh A.R., Byabamazima C.R., Ahmed H.J., Pattamadilok S., Zhang Y., Gacic-Dobo M., Strebel P.M., Goodson J.L. Global Measles and Rubella Laboratory Network Support for Elimination Goals, 2010–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016 May 6; 65(17):438–42. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6517a3>
3. Measles virus nomenclature update: 2012. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012 Mar 2; 87(9): 73–81. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8709>
4. Expanded Programme on Immunization (EPI). Standardization of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses. *Wkly Epidemiol Rec.* 1998 Aug 28; 73(35): 265–9. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7335>
5. The role of extended and whole genome sequencing for tracking transmission of measles and rubella viruses: report from the Global Measles and Rubella laboratory Network meeting, 2017. *Weekly Epidemiological Record.* 2018; 93(6): 55–59. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER9306>
6. Kremer J.R., Fack F., Olinger C.M., Mulders M.N., Muller C.P. Measles virus genotyping by nucleotide-specific multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004 Jul; 42(7): 3017–22. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.3017-3022.2004>
7. Tran T., Kostecki R., Catton M., Druce J. Utility of a Stressed Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Real-Time PCR Assay for Rapid Identification of Measles Vaccine Strains in Patient Samples. *J Clin Microbiol.* 2018 Jul 26; 56(8): e00360-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00360-18>
8. Roy F., Mendoza L., Hiebert J., McNall R.J., Bankamp B., Connolly S., Lüdde A., Friedrich N., Mankertz A., Rota P.A., Severini A. Rapid Identification of Measles Virus Vaccine Genotype by Real-Time PCR. *J Clin Microbiol.* 2017 Mar; 55(3): 735–743. <https://doi.org/10.1128/JCM.01879-16>
9. MeaNS2: Measles Virus Nucleotide Surveillance. Available at: <https://who-gmrln.org/means2>
10. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. Official Taxonomic Resources. Available at: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202201616
11. ViralZone: a knowledge resource to understand virus diversity. Hulo C, de Castro E, Masson P, Bougueleret L, Bairoch A, Xenarios I, Le Mercier P. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jan; 39: D576–82. Available at: <https://viralzone.expasy.org/>
12. de Swart R.L., Yüksel S., Osterhaus A.D. Relative contributions of measles virus hemagglutinin- and fusion protein-specific serum antibodies to virus neutralization. *J Virol.* 2005 Sep; 79(17): 11547–51. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.17.11547-11551.2005>
13. WHO immunological basis for immunization series: module 7: measles: update 2020. Available at: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241516655>
14. Shu Y., Habchi J., Costanzo S., Padilla A., Brunel J., Gerlier D., Oglesbee M., Longhi S. Plasticity in structural and functional interactions between the phosphoprotein and nucleoprotein of measles virus. *J Biol Chem.* 2012 Apr 6; 287(15): 11951–67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.333088>
15. Riddell M.A., Rota J.S., Rota P.A. Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine eras. *Viral J.* 2005 Nov 22; 2: 87. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-87>
16. Kühne M., Brown D.W., Jin L. Genetic variability of measles virus in acute and persistent infections. *Infect Genet Evol.* 2006 Jul; 6(4): 269–76. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2005.08.003>
17. Nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses (update). *Wkly Epidemiol Rec.* 2001 Aug 17; 76(33): 249–51. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7633>
18. Шульга С.В., Цвиркун О.В., Тихонова Н.Т., Чехляева Т.С., Герасимова А.Г., Мамаева Т.А., и др. Методические рекомендации МР 3.1.2.0135–18. Генетический мониторинг циркуляции вирусов кори и краснухи. М.; 2019. Available at: <https://pdf.standart-gost.ru/catalog/Data2/1/4293730/4293730377.pdf>
19. Update of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses: new genotypes and reference strains. *Wkly Epidemiol Rec.* 2003 Jul 4; 78(27): 229–32. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7827>
20. WHO. New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotypes. *Wkly Epidemiol Rec.* 2005 Oct 7; 80(40): 347–51. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8040>
21. Global distribution of measles and rubella genotypes--update. *Wkly Epidemiol Rec.* 2006 Dec 15; 81(51/52): 474–9. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8151>
22. Genetic diversity of wild-type measles viruses and the global measles nucleotide surveillance database (MeaNS). *Wkly Epidemiol Rec.* 2015 Jul 24; 90(30): 373–80. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER9030>
23. Игнатьев Г.М., Отрашевская Е.В., Суханова Л.Л. и др. Молекулярно-генетическое исследование штамма Ленинград-16, используемого для производства вакцины кори. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2020; 97(2): 182–189. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-182-189>
24. Parks C.L., Lerch R.A., Walpita P., Wang H.P., Sidhu M.S., Udem S.A. Analysis of the noncoding regions of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol.* 2001 Jan; 75(2): 921–33. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.921-933.2001>
25. Parks C.L., Lerch R.A., Walpita P., Wang H.P., Sidhu M.S., Udem S.A. Comparison of predicted amino acid sequences of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol.* 2001 Jan; 75(2): 910–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.910-920.2001>
26. Waku-Koumou D., Freymuth F., du Châtelet I.P., Wild T.F., Horvat B. Co-circulation of multiple measles virus genotypes during an ep-

- idemic in France in 2008. *J Med Virol.* 2010 May; 82(6): 1033–43. <https://doi.org/10.1002/jmv.21766>
27. Mortamet G., Dina J., Freymuth F., Guillois B., Vabret A. Measles in France. *Arch. Pediatr.* 2012; 19(11): 1269–72. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2012.08.006> (in French)
 28. Koumou D.W., Nerrienet E., Mfoupouendoun J., Tene G., Whitte H., Wild T.F. Measles virus strains circulating in Central and West Africa: Geographical distribution of two B3 genotypes. *J Med Virol.* 2002 Nov; 68(3): 433–40. <https://doi.org/10.1002/jmv.10222>
 29. Haddad-Boubaker S., Rezzq M., Smeo M.N., Ben Yahia A., Abudher A., Slim A., Ben Ghorbel M., Ahmed H., Rota P., Triki H. Genetic characterization of clade B measles viruses isolated in Tunisia and Libya 2002–2009 and a proposed new subtype within the B3 genotype. *Virus Res.* 2010 Nov; 153(2): 258–64. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.08.011>
 30. Takahashi M., Nakayama T., Kashiwagi Y., Takami T., Sonoda S., Yamanaka T., Ochiai H., Ihara T., Tajima T. Single genotype of measles virus is dominant whereas several genotypes of mumps virus are co-circulating. *J Med Virol.* 2000 Oct; 62(2): 278–85.
 31. Mosquera M.M., Ory F., Echevarria J.E. Measles virus genotype circulation in Spain after implementation of the national measles elimination plan 2001–2003. *J Med Virol.* 2005 Jan; 75(1): 137–46. <https://doi.org/10.1002/jmv.20248>
 32. de Swart R.L., Yüksel S., Langerijs C.N., Muller C.P., Osterhaus A. Depletion of measles virus glycoprotein-specific antibodies from human sera reveals genotype-specific neutralizing antibodies. *J Gen Virol.* 2009 Dec; 90(Pt 12): 2982–2989. <https://doi.org/10.1099/vir.0.014944-0>
 33. Santibanez S., Heider A., Gerike E., Agafonov A., Schreier E. Genotyping of measles virus isolates from central Europe and Russia. *J Med Virol.* 1999 Jul; 58(3): 313–20
 34. Lam T., Ranjan R., Newark K., Surana S., Bhangu N., Lazenbury A., et al. A recent surge of fulminant and early onset subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in the United Kingdom: An emergence in a time of measles. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2021; 34: 4–49. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2021.07.006>
 35. Junker A., Wozniak J., Voigt D., Scheidt U., Antel J., Wegner C., et al. Extensive subpial cortical demyelination is specific to multiple sclerosis. *Brain Pathol.* 2020; 30(3): 641–52. <https://doi.org/10.1111/bpa.12813>
 36. Jin L., Beard S., Hunjan R., Brown D.W., Miller E. Characterization of measles virus strains causing SSPE: a study of 11 cases. *J Neurovirol.* 2002 Aug; 8(4): 335–44. <https://doi.org/10.1080/13550280290100752>
 37. Riddell M.A., Moss W.J., Hauer D., Monze M., Griffin D.E. Slow clearance of measles virus RNA after acute infection. *J Clin Virol.* 2007 Aug; 39(4): 312–7. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.05.006>
 38. Cheng W.Y., Lee L., Rota P.A., Yang D.C. Molecular evolution of measles viruses circulated in Taiwan 1992–2008. *Virol J.* 2009 Dec 10; 6: 219. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-219>
 39. Atrasheuskaya A.V., Kulak M.V., Neverov A.A., Rubin S., Ignatyev G.M. Measles cases in highly vaccinated population of Novosibirsk, Russia, 2000–2005. *Vaccine.* 2008 Apr 16; 26(17): 2111–8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.02.028>
 40. Riddell M.A., Rota J.S., Rota P.A. Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine eras. *Virol J.* 2005 Nov 22; 2: 87. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-87>
 41. Zhang Y., Ding Z., Wang H., Li L., Pang Y., Brown K.E., Xu S., Zhu Z., Rota P.A., Featherstone D., Xu W. New measles virus genotype associated with outbreak, China. *Emerg Infect Dis.* 2010 Jun; 16(6): 943–7. <https://doi.org/10.3201/eid1606.100089>
 42. Horn S.V., Dumas C., Svay S., Feldon K., Reynes J.M. Genetic characterization of wild-type measles viruses in Cambodia. *Virus Res.* 2003 Nov; 97(1): 31–7. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(03\)00219-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(03)00219-3)
 43. Pattamadilok S., Incomserb P., Primsirikunawut A., Lukebua A., Rota P.A., Sawanpanyalert P. Genetic characterization of measles viruses that circulated in Thailand from 1998 to 2008. *J Med Virol.* 2012 May; 84(5): 804–13. <https://doi.org/10.1002/jmv.23249>
 44. Tipples G.A., Gray M., Garbutt M., Rota P.A. Canadian Measles Surveillance Program. Genotyping of measles virus in Canada: 1979–2002. *J Infect Dis.* 2004 May 1; 189 Suppl 1: S171–6. <https://doi.org/10.1086/377716>
 45. Kokotas S.N., Bolanaki E., Sgouras D., et al. Cocirculation of genotypes D4 and D6 in Greece during the 2005 to 2006 measles epidemic. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008 Sep; 62(1): 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.06.001>. Epub 2008 Jul 14.
 46. Шульга С. В., Тихонова Н. Т., Наумова М.А. и др. Изменение спектра циркулирующих генотипов вируса как показатель элиминации индигенной кори в России. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2009; 4: 4–9.
 47. Vaidya S.R., Chowdhury D.T. Measles virus genotypes circulating in India, 2011–2015. *J Med Virol.* 2017 May; 89(5): 753–758. <https://doi.org/10.1002/jmv.24702>
 48. Журавлева Ю.Н., Луговцев В.Ю., Воронина О.Л., и др. Генетический анализ диких штаммов вируса кори, изолированных в европейской части РФ. *Вопросы вирусологии.* 2003; 48(4): 29–35.
 49. Santibanez S., Tischer A., Heider A., et al. Rapid replacement of endemic measles virus genotypes. *J Gen Virol.* 2002 Nov; 83(Pt 11): 2699–2708. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-11-2699>
 50. Zhang Y., Zhu Z., Rota P.A., et al. Molecular epidemiology of measles viruses in China, 1995–2003. *Virol J.* 2007 Feb 5; 4:14. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-14>
 51. Cheng W.Y., Wang H.C., Wu H.S., et al. Measles surveillance in Taiwan, 2012–2014: Changing epidemiology, immune response, and circulating genotypes. *J Med Virol.* 2016 May; 88(5): 746–53. <https://doi.org/10.1002/jmv.24392>
 52. Kremer J.R., Nguyen G.H., Shulga S.V., et al. Genotyping of recent measles virus strains from Russia and Vietnam by nucleotide-specific multiplex PCR. *J Med Virol.* 2007 Jul; 79(7): 987–94. <https://doi.org/10.1002/jmv.20827>
 53. Rota P.A., Liffick S.L., Rota J.S., Katz R.S., Redd S., Papania M., Bellini W.J. Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997–2001. *Emerg Infect Dis.* 2002 Sep; 8(9): 902–8. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020206>
 54. WHO EpiBrief: a report on the epidemiology of selected vaccine-preventable diseases in the European Region: No. 1/2022. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2022-6771-46537-67504>
 55. WHO EpiBrief: a report on the epidemiology of selected vaccine-preventable diseases in the European Region: No. 1/2023. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2023-7691-47458-69761>
 56. A monthly summary of the epidemiological data on selected vaccine-preventable diseases in the WHO European Region. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/m/item/epidata-5-2023>

REFERENCES

1. Measles: Vaccine Preventable Diseases Surveillance Standards. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/vaccine-preventable-diseases-surveillance-standards-measles>
2. Mulders M.N., Rota P.A., Icenogle J.P., Brown K.E., Takeda M., Rey G.J., Ben Mamou M.C., Dosseh A.R., Byabamazima C.R., Ahmed H.J., Pattamadilok S., Zhang Y., Gacic-Dobo M., Strebel P.M., Goodson J.L. Global Measles and Rubella Laboratory Network Support for Elimination Goals, 2010–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016 May 6; 65(17): 438–42. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6517a3>
3. Measles virus nomenclature update: 2012. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012 Mar 2; 87(9): 73–81. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8709>
4. Expanded Programme on Immunization (EPI). Standardization of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses. *Wkly Epidemiol Rec.* 1998 Aug 28; 73(35): 265–9. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7335>
5. The role of extended and whole genome sequencing for tracking transmission of measles and rubella viruses: report from the Global Measles and Rubella laboratory Network meeting, 2017. *Weekly Epidemiological Record.* 2018, 93(6): 55–59. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER9306>
6. Kremer J.R., Fack F., Olinger C.M., Mulders M.N., Muller C.P. Measles virus genotyping by nucleotide-specific multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004 Jul; 42(7): 3017–22. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.3017-3022.2004>
7. Tran T., Kostecki R., Catton M., Druce J. Utility of a Stressed Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Real-Time PCR Assay for Rapid Identification of Measles Vaccine Strains in Patient Samples. *J Clin Microbiol.* 2018 Jul 26; 56(8): e00360–18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00360-18>
8. Roy F., Mendoza L., Hiebert J., McNall R.J., Bankamp B., Connolly S., Lüdde A., Friedrich N., Mankertz A., Rota P.A., Severini A.

- Rapid Identification of Measles Virus Vaccine Genotype by Real-Time PCR. *J Clin Microbiol*. 2017 Mar; 55(3): 735–743. <https://doi.org/10.1128/JCM.01879-16>
9. MeaNS2: Measles Virus Nucleotide Surveillance. Available at: <https://who-gmrln.org/means2>
 10. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. Official Taxonomic Resources. Available at: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202201616
 11. ViralZone: a knowledge resource to understand virus diversity. Huo C, de Castro E, Masson P, Bougueleret L, Bairoch A, Xenarios I, Le Mercier P. *Nucleic Acids Res*. 2011 Jan; 39: D576–82. Available at: <https://viralzone.expasy.org/>
 12. de Swart R.L., Yüksel S., Osterhaus A.D. Relative contributions of measles virus hemagglutinin- and fusion protein-specific serum antibodies to virus neutralization. *J Virol*. 2005 Sep; 79(17): 11547–51. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.17.11547-11551.2005>
 13. WHO immunological basis for immunization series: module 7: measles: update 2020. Available at: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241516655>
 14. Shu Y., Habchi J., Costanzo S., Padilla A., Brunel J., Gerlier D., Oglesbee M., Longhi S. Plasticity in structural and functional interactions between the phosphoprotein and nucleoprotein of measles virus. *J Biol Chem*. 2012 Apr 6; 287(15): 11951–67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.333088>
 15. Riddell M.A., Rota J.S., Rota P.A. Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine eras. *Virology*. 2005 Nov 22; 2: 87. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-87>
 16. Kühne M., Brown D.W., Jin L. Genetic variability of measles virus in acute and persistent infections. *Infect Genet Evol*. 2006 Jul; 6(4): 269–76. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2005.08.003>
 17. Nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses (update). *Wkly Epidemiol Rec*. 2001 Aug 17; 76(33): 249–51. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7633>
 18. Shulga S.V., Tsvirkun O.V., Tikhonova N.T., Chekhlyayeva T.S., Gerasimova A.G., Mamaeva T.A. et al. Methodological recommendations MP 3.1.2.0135–18. Genetic monitoring of the circulation of measles and rubella viruses. Moscow; 2019. Available at: <https://pdf.standartgost.ru/catalog/Data2/1/4293730/4293730377.pdf> (In Russ.)
 19. Update of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses: new genotypes and reference strains. *Wkly Epidemiol Rec*. 2003 Jul 4; 78(27): 229–32. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER7827>
 20. WHO. New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotypes. *Wkly Epidemiol Rec*. 2005 Oct 7; 80(40): 347–51. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8040>
 21. Global distribution of measles and rubella genotypes--update. *Wkly Epidemiol Rec*. 2006 Dec 15; 81 (51/52): 474–9. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER8151>
 22. Genetic diversity of wild-type measles viruses and the global measles nucleotide surveillance database (MeaNS). *Wkly Epidemiol Rec*. 2015 Jul 24; 90(30): 373–80. English, French. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WER9030>
 23. Ignatyev G.M., Atrasheuskaya E.V., Sukhanova L.L. et al. Molecular genetic analysis of the strain Leningrad-16 used for the production of measles vaccine. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii*. 2020; 97(2): 182–189. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-182-189> (In Russ.)
 24. Parks C.L., Lerch R.A., Walpita P., Wang H.P., Sidhu M.S., Udem S.A. Analysis of the noncoding regions of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol*. 2001 Jan; 75(2): 921–33. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.921-933.2001>
 25. Parks C.L., Lerch R.A., Walpita P., Wang H.P., Sidhu M.S., Udem S.A. Comparison of predicted amino acid sequences of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol*. 2001 Jan; 75(2): 910–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.910-920.2001>
 26. Waku-Kouomou D., Freymuth F., du Châtelet I.P., Wild T.F., Horvat B. Co-circulation of multiple measles virus genotypes during an epidemic in France in 2008. *J Med Virol*. 2010 May; 82(6): 1033–43. <https://doi.org/10.1002/jmv.21766>
 27. Mortamet G., Dina J., Freymuth F., Guillois B., Vabret A. Measles in France. *Arch. Pediatr*. 2012; 19(11): 1269–72. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2012.08.006> (in French)
 28. Kouomou D.W., Nerrienet E., Mfoupouendoun J., Tene G., Whittle H., Wild T.F. Measles virus strains circulating in Central and West Africa: Geographical distribution of two B3 genotypes. *J Med Virol*. 2002 Nov; 68(3): 433–40. <https://doi.org/10.1002/jmv.10222>
 29. Haddad-Boubaker S., Rezaq M., Smeo M.N., Ben Yahia A., Abudher A., Slim A., Ben Ghorbel M., Ahmed H., Rota P., Triki H. Genetic characterization of clade B measles viruses isolated in Tunisia and Libya 2002-2009 and a proposed new subtype within the B3 genotype. *Virus Res*. 2010 Nov; 153(2): 258–64. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.08.011>
 30. Takahashi M., Nakayama T., Kashiwagi Y., Takami T., Sonoda S., Yamanaka T., Ochiai H., Ihara T., Tajima T. Single genotype of measles virus is dominant whereas several genotypes of mumps virus are co-circulating. *J Med Virol*. 2000 Oct; 62(2): 278–85.
 31. Mosquera M.M., Ory F., Echevarría J.E. Measles virus genotype circulation in Spain after implementation of the national measles elimination plan 2001-2003. *J Med Virol*. 2005 Jan; 75(1): 137–46. <https://doi.org/10.1002/jmv.20248>
 32. de Swart R.L., Yüksel S., Langerijs C.N., Muller C.P., Osterhaus A. Depletion of measles virus glycoprotein-specific antibodies from human sera reveals genotype-specific neutralizing antibodies. *J Gen Virol*. 2009 Dec; 90(Pt 12): 2982–2989. <https://doi.org/10.1099/vir.0.014944-0>
 33. Santibanez S., Heider A., Gerike E., Agafonov A., Schreier E. Genotyping of measles virus isolates from central Europe and Russia. *J Med Virol*. 1999 Jul; 58(3): 313–20
 34. Lam T., Ranjan R., Newark K., Surana S., Bhangu N., Lazenbury A., et al. A recent surge of fulminant and early onset subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in the United Kingdom: An emergence in a time of measles. *Eur. J. Paediatr. Neurol*. 2021; 34: 4–49. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2021.07.006>
 35. Junker A., Wozniak J., Voigt D., Scheidt U., Antel J., Wegner C., et al. Extensive subpial cortical demyelination is specific to multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2020; 30(3): 641–52. <https://doi.org/10.1111/bpa.12813>
 36. Jin L., Beard S., Hunjan R., Brown D.W., Miller E. Characterization of measles virus strains causing SSPE: a study of 11 cases. *J Neurovirol*. 2002 Aug; 8(4): 335–44. <https://doi.org/10.1080/13550280290100752>
 37. Riddell M.A., Moss W.J., Hauer D., Monze M., Griffin D.E. Slow clearance of measles virus RNA after acute infection. *J Clin Virol*. 2007 Aug; 39(4): 312–7. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.05.006>
 38. Cheng W.Y., Lee L., Rota P.A., Yang D.C. Molecular evolution of measles viruses circulated in Taiwan 1992-2008. *Virology*. 2009 Dec 10; 6: 219. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-219>
 39. Atrasheuskaya A.V., Kulak M.V., Neverov A.A., Rubins S., Ignatyev G.M. Measles cases in highly vaccinated population of Novosibirsk, Russia, 2000-2005. *Vaccine*. 2008 Apr 16; 26(17): 2111–8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.02.028>
 40. Riddell M.A., Rota J.S., Rota P.A. Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine eras. *Virology*. 2005 Nov 22; 2: 87. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-87>
 41. Zhang Y., Ding Z., Wang H., Li L., Pang Y., Brown K.E., Xu S., Zhu Z., Rota P.A., Featherstone D., Xu W. New measles virus genotype associated with outbreak, China. *Emerg Infect Dis*. 2010 Jun; 16(6): 943–7. <https://doi.org/10.3201/eid1606.100089>
 42. Horm S.V., Dumas C., Svay S., Feldon K., Reynes J.M. Genetic characterization of wild-type measles viruses in Cambodia. *Virus Res*. 2003 Nov; 97(1): 31–7. doi: 10.1016/s0168-1702(03)00219-3
 43. Pattamadilok S., Incomserb P., Primsirikunawut A., Lukebua A., Rota P.A., Sawanpanyalert P. Genetic characterization of measles viruses that circulated in Thailand from 1998 to 2008. *J Med Virol*. 2012 May; 84(5): 804–13. <https://doi.org/10.1002/jmv.23249>
 44. Tipples G.A., Gray M., Garbutt M., Rota P.A. Canadian Measles Surveillance Program. Genotyping of measles virus in Canada: 1979-2002. *J Infect Dis*. 2004 May 1; 189 Suppl 1: S171–6. <https://doi.org/10.1086/377716>
 45. Kokotas S.N., Bolanaki E., Sgouras D., et al. Cocirculation of genotypes D4 and D6 in Greece during the 2005 to 2006 measles epidemic. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Sep; 62(1): 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.06.001>. Epub 2008 Jul 14
 46. Shulga S.V., Tikhonova N.T., Naumova M.A. et al. Changes in the spectrum of circulating virus genotypes as an indicator of elimination of indigenous measles in Russia. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika*. 2009; 4: 4–9. (In Russ.)
 47. Vaidya S.R., Chowdhury D.T. Measles virus genotypes circulating in India, 2011-2015. *J Med Virol*. 2017 May; 89(5): 753–758. <https://doi.org/10.1002/jmv.24702>

48. Zhuravleva Y.N., Lugovcev V.Y., Voronina O.L. et al. Genetic analysis of wild strains of measles virus isolated in the European part of the Russian Federation. *Voprosy virusologii. Вопросы вирусологии*. 2003; 48(4): 29–35. (In Russ.)
49. Santibanez S., Tischer A., Heider A., et al. Rapid replacement of endemic measles virus genotypes. *J Gen Virol*. 2002 Nov; 83(Pt 11): 2699–2708. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-11-2699>
50. Zhang Y., Zhu Z., Rota P.A., et al. Molecular epidemiology of measles viruses in China, 1995–2003. *Viol J*. 2007 Feb 5; 4: 14. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-14>
51. Cheng W.Y., Wang H.C., Wu H.S., et al. Measles surveillance in Taiwan, 2012–2014: Changing epidemiology, immune response, and circulating genotypes. *J Med Virol*. 2016 May; 88(5): 746–53. <https://doi.org/10.1002/jmv.24392>
52. Kremer J.R., Nguyen G.H., Shulga S.V., et al. Genotyping of recent measles virus strains from Russia and Vietnam by nucleotide-specific multiplex PCR. *J Med Virol*. 2007 Jul; 79(7): 987–94. <https://doi.org/10.1002/jmv.20827>
53. Rota P.A., Liffick S.L., Rota J.S., Katz R.S., Redd S., Papania M., Bellini W.J. Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997–2001. *Emerg Infect Dis*. 2002 Sep; 8(9): 902–8. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020206>
54. WHO EpiBrief: a report on the epidemiology of selected vaccine-preventable diseases in the European Region: No. 1/2022. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2022-6771-46537-67504>
55. WHO EpiBrief: a report on the epidemiology of selected vaccine-preventable diseases in the European Region: No. 1/2023. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2023-7691-47458-69761>
56. A monthly summary of the epidemiological data on selected vaccine-preventable diseases in the WHO European Region. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/m/item/epidata-5-2023>

Информация об авторах:

Рубальская Татьяна Сергеевна ✉ – руководитель лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: rubalskaia@gabrich.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0838-7353>

Ерохов Денис Вадимович – научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: erokhovdenis@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7163-7840>

Жердева Полина Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: polya-zherdeva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7635-4353>

Мамаева Тамара Алексеевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: 4522826@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2320-1062>

Тихонова Нина Тимофеевна – профессор, д-р биол. наук, главный научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: tikhmail@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8762-4355>

Участие авторов: Рубальская Т.С. – сбор, анализ и интерпретация данных литературы, подготовка текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Ерохов Д.В. – анализ базы данных генетической информации; Жердева П.Е. – анализ базы данных генетической информации; Мамаева Т.А. – редакция текста статьи; Тихонова Н.Т. – утверждение окончательного варианта статьи для публикации, общее руководство.

Поступила 15.08.2023
 Принята в печать 02.10.2023
 Опубликовано 31.10.2023

Information about the authors:

Tatiana S. Rubalskaia ✉ – head of applied immunochemistry laboratory G.N. Gabrichevsky, research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: rubalskaia@gabrich.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0838-7353>

Denis V. Erokhov – Researcher of applied immunochemistry laboratory G.N. Gabrichevsky Moscow research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: erokhovdenis@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7163-7840>

Polina E. Zherdeva – junior researcher of applied immunochemistry laboratory G.N. Gabrichevsky Moscow research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: polya-zherdeva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7635-4353>

Tamara A. Mamaeva – Ph.D. (Biol.), Lead researcher of applied immunochemistry laboratory G.N. Gabrichevsky, research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: 4522826@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2320-1062>

Nina T. Tikhonova – Professor, Dr.Sci. (Biol.), Chief researcher of cytokines laboratory G.N. Gabrichevsky, research institute of epidemiology and microbiology Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing Moscow, Moscow, Russia. E-mail: tikhmail@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8762-4355>

Contribution: Rubalskaia T.S. – collection, analysis, and interpretation of the literature data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Erokhov D.V. – analysis of genetic databases; Zherdeva P.E. – analysis of genetic databases; Mamaeva T.A. – text editing; Tikhonova N.T. – overall leadership, final article approval for publication.

Received 15 August 2023
 Accepted 02 October 2023
 Published 31 October 2023

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-193>

© КОВЫРШИНА А.В., СИЗИКОВА Т.Е., ЛЕБЕДЕВ В.Н., БОРИСЕВИЧ С.В., ДОЛЖИКОВА И.В., ЛОГУНОВ Д.Ю., ГИНЦБУРГ А.Л., 2023



Вакцины против болезни, вызванной вирусом Эбола: актуальные проблемы и перспективы

Ковыршина А.В.¹✉, Сизикова Т.Е.², Лебедев В.Н.², Борисевич С.В.², Должикова И.В.¹, Логунов Д.Ю.¹, Гинцбург А.Л.¹¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;²ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, 141306, г. Сергиев Посад-6, Россия

Резюме

Актуальность. Болезнь, вызванная вирусом Эбола (БВВЭ), является острым инфекционным заболеванием с крайне высокой летальностью, составляющей до 90%. В мире БВВЭ стала широко известна в 2014–2016 гг. во время вспышки в Западной Африке, которая переросла в эпидемию и привела к распространению заболевания на территории других континентов.

В мире имеются две вакцины против БВВЭ, одобренные ВОЗ для экстренного применения, а также ряд вакцин, одобренных местными регуляторами для применения на территории отдельных стран. Однако, даже при наличии эффективных вакцин, недостаток данных по иммунным коррелятам защиты, длительности защитного иммунного ответа у человека и приматов является ограничивающим фактором для эффективного предотвращения распространения вспышек БВВЭ.

Цели. В настоящем обзоре освещается опыт применения вакцин против БВВЭ во время вспышек заболевания в эндемичных зонах, обобщены данные по иммуногенности вакцин в клинических исследованиях, а также представлено обсуждение направлений исследований для дальнейшей разработки и использования эффективных вакцин против БВВЭ.

Ключевые слова: болезнь, вызванная вирусом Эбола; векторная вакцина; ДНК-вакцина; клинические исследования

Для цитирования: Ковыршина А.В., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Должикова И.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Вакцины против болезни, вызванной вирусом Эбола: актуальные проблемы и перспективы. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 372–384. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-193> EDN: <https://elibrary.ru/euauhi>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-193>

Vaccines to prevent Ebola virus disease: current challenges and perspectives

Anna V. Kovyreshina¹✉, Tatiana E. Sizikova², Vitaliy N. Lebedev², Sergey V. Borisevich², Inna V. Dolzhikova¹, Denis Yu. Logunov¹, Alexander L. Gintsburg¹¹National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;²48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 141306, Sergiev Posad, Russia

Abstract

Relevance. Ebola virus disease (EVD) is an acute infectious disease with an extremely high case fatality rate reaching up to 90%. EVD has become widely known since 2014–2016, when outbreak in West Africa occurred and led to epidemic, which caused travel-related cases on the territory of other continents.

There are two vaccines against EVD, prequalified by WHO for emergency use, as well as a number of vaccines, approved by local regulators in certain countries. However, even with the availability of effective vaccines, the lack of data on immune correlates of protection and duration of protective immune response in humans and primates is limiting factor for effectively preventing the spread of EVD outbreaks.

Aims. This review highlights experience of use of EVD vaccines during outbreaks in endemic areas, summarizes data on vaccine immunogenicity in clinical trials, and discusses perspectives for further development and use of effective EVD vaccines.

Keywords: *Ebola virus disease; viral vector vaccine; DNA vaccine; clinical trials*

For citation: Kovyrshina A.V., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V., Dolzhikova I.V., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L. Vaccines to prevent Ebola virus disease: current challenges and perspectives. *Problems of Virology (Voprosy Virologii)*. 2023; 68(5): 372–384. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-193> EDN: <https://elibrary.ru/euauhi>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

Вирус Эбола – общее название вирусов, относящихся к роду *Orthoebolavirus* семейства *Filoviridae*. Вирионы имеют характерную для всех вирусов семейства филаментоподобную форму, геном представлен одноцепочечной РНК с отрицательной полярностью. В настоящее время выделяют шесть видов вируса Эбола: *Orthoebolavirus bombaliense* (Bombali virus, BOMV), *Orthoebolavirus bundibugyoense* (Bundibugyo virus, BDBV), *Orthoebolavirus restonense* (Reston virus, RESTV), *Orthoebolavirus sudanense* (Sudanebola virus, SUDV), *Orthoebolavirus taiense* (Taï Forest ebolavirus, TAFV), *Orthoebolavirus zairense* (Ebola virus, EBOV; предыдущее название вида – *Zaire ebolavirus*) [1]. Из них три вида вызывают у человека заболевание с высокой летальностью: EBOV – летальность 50–90%, SUDV – около 50% и BDBV – около 30%. Для RESTV описан всего один нелетальный случай инфекции у человека, вирус TAFV вызывает нелетальную инфекцию у животных [2].

Болезнь, вызванная вирусом Эбола (БВВЭ) (преждущее, часто употребляемое название – геморрагическая лихорадка Эбола), является острым инфекционным заболеванием, характеризующимся острым течением, мультиорганный недостаточностью, развитием инфекционно-токсического шока. Вспышки БВВЭ были впервые зафиксированы в 1976 г. на территории стран Центральной Африки – Судана и Демократической республики Конго (ДРК, ранее – Заир). В том же году от больного, который проживал вблизи реки Эбола, был впервые выделен возбудитель БВВЭ – вирус Эбола^{1,2}. С момента выделения вируса Эбола вспышки БВВЭ регулярно регистрировали в основном на территории стран Центральной Африки. Однако в 2014–2016 гг. болезнь распространилась за пределы исходной эндемичной зоны: масштабная эпидемия БВВЭ охватила территорию трех стран Западной Африки (Сьерра-Леоне, Гвинея, Либерия). В ходе эпидемии

было подтверждено около 28 тыс. случаев заболевания и более 11 тыс. летальных исходов, также были зафиксированы завозные случаи на территории 4 стран в Европе и Северной Америке. Следующая крупная вспышка БВВЭ, происходившая в ДРК в 2018–2020 гг., насчитывала почти 3,5 тыс. случаев заболевания³. В 2021–2022 гг. вспышки БВВЭ продолжали регистрировать на территории Гвинеи и ДРК. В ноябре 2022 г. впервые за последние 10 лет была зарегистрирована вспышка БВВЭ вида SUDV⁴.

На момент начала эпидемии в Западной Африке в мире отсутствовали вакцины против БВВЭ. На настоящий момент Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) одобрены для экстренного применения две вакцины против БВВЭ вида EBOV, также имеется ряд вакцин, одобренных для применения в отдельных странах (РФ, Китай). Вакцины против БВВЭ показали свою безопасность и иммуногенность при применении у большого числа добровольцев во время вспышек. Однако в направлении разработки вакцин против БВВЭ еще сохраняется множество зон роста. Продолжается сбор данных по длительности поствакцинального иммунного ответа у добровольцев, ведутся исследования по изменению и дополнению антигенного состава, клинические исследования перспективных кандидатных вакцин.

Вакцины против БВВЭ, одобренные для применения

ВОЗ одобрены две вакцины против БВВЭ для экстренного применения, ряд вакцин, одобрены местными регуляторами для использования на территории отдельных стран. Вакцина Ervebo разработана на основе репликативно-компетентного рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (rVSV-ZEBOV), в котором содержится ген гликопротеина (ГП) вируса EBOV (изолят Kikwit 1995). Вакцина применяется в режиме однократного введения ($\geq 7,2 \times 10^7$ БОЕ/доза)⁵. Согласно результатам клинических исследований, вакцина

¹Report of an International Commission. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Bull. World Health Organ. 1978; 56(2): 271–93.

²Report of a WHO/International Study Team. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Bull. World Health Organ. 1978; 56(2): 247–70.

³ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Эбола; 2023. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease>

⁴Centers for Disease Control and Prevention (CDC). History of Ebola Disease Outbreaks. Available at: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/history/chronology.html>

⁵European Medicines Agency (EMA). Summary of product characteristics ERVEBO, INN-Ebola Zaire Vaccine (rVSVΔG-ZEBOV-GP, live). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ervebo-epar-product-information_en.pdf

индуцирует антиген-специфический гуморальный иммунный ответ уже через 14 сут после однократной иммунизации⁶. Титры специфических антител к вирусу Эбола достигали максимума спустя 28 сут после иммунизации. Величины титров находились в прямой зависимости от величины иммунизирующей дозы в диапазоне от 3×10^5 до 3×10^6 БОЕ. Установлено, что при использовании иммунизирующей дозы 3×10^6 БОЕ достигаются значения титров, сопоставимые с аналогичными показателями, обеспечивающими 100% защиту в экспериментах на низших приматах [3]. Дальнейшее повышение иммунизирующих доз (до 5×10^7 БОЕ) не привело к повышению титров антител.

Во время эпидемии БВВЭ 2014–2016 гг. в Гвинее было проведено рандомизированное клиническое исследование III фазы по схеме «кольцевой» вакцинации с включением 90 рандомизированных групп общей численностью 7651 человек, состоявших из добровольцев, непосредственно контактировавших с заболевшими (контакты), и лиц, имевших возможный контакт с заболевшим (контакты 2-го порядка). Введение вакцины rVSV-ZEBOV в дозе 2×10^7 БОЕ проводили либо немедленно, либо спустя 21 сут после установления факта контакта с заболевшим (или контактировавшим с заболевшим). В группах с отсроченной иммунизацией впоследствии было выявлено 16 случаев лихорадки Эбола, а в группах, где иммунизация была проведена немедленно после установления факта контакта, случаев БВВЭ не было зарегистрировано. Следовательно, эффективность вакцины составляла 100% (доверительный интервал с 95% вероятностью от 74,7 до 100%). В дальнейшем было зафиксировано отсутствие случаев заболевания при проведении иммунизации спустя 6 сут после установления факта контакта с заболевшим. Следовательно, вакцина rVSV-ZEBOV обеспечивала защиту спустя 6–21 сут после иммунизации. Данные о продолжительности иммунитета, вызываемого этой вакциной, на сегодняшний день отсутствуют. Результаты исследования показали 100% эффективность вакцины Ervebo против БВВЭ у 3775 человек при неотложной вакцинации (случаи БВВЭ среди вакцинированных, выявленные ранее чем через 10 сут после вакцинации, не учитывали). Нежелательные явления (НЯ) после вакцинации были зафиксированы у 53,9% человек [4]. В исследовании безопасности и переносимости вакцины у 1510 человек, включая 303 детей 6–17 лет, НЯ были зафиксированы у 36% взрослых и 17% детей [5].

Вакцину rVSV-ZEBOV использовали во время вспышки БВВЭ в 2018–2020 гг. в ДРК – были вакцинированы более 345 тыс. человек⁷. Согласно предварительным данным анализа эффективности, включавшего более 90 тыс. человек, эффективность вакцины Ervebo составила 97,5%⁸. Опыт экстренного применения этой вакцины в ДРК позволил получить актуальные данные по эффективности векторной вакцины против БВВЭ в реальной эпидемической обстановке.

Данные по иммуногенности вакцины были получены в ходе клинических исследований II/III фазы в 2015–2016 гг. в Гвинее, Либерии и Сьерра-Леоне. По результатам анализа иммуногенности, пик антительного иммунного ответа (ГП-специфические IgG антитела и нейтрализующие антитела в реакции псевдонейтрализации) наблюдали на 28-е сутки после вакцинации, при этом антитела детектировали в течение года после вакцинации [6, 7]. В клинических испытаниях rVSV-ZEBOV, проводимых в Женеве, у 11 из 51 испытуемых, иммунизированных дозой 1×10^7 или 5×10^7 БОЕ, спустя 9–13 сут после иммунизации развилась артралгия, в том числе у 3 появились сыпь и везикулы на пальцах рук и ног, сохранявшиеся в течение 1–2 нед, у 9 – развились артриты. Позднее артрит был выявлен у одного добровольца при проведении клинических испытаний в Гвинее и у одного волонтера при проведении клинических испытаний в Германии [8, 9]. С высокой вероятностью, причиной подобных НЯ являлась избыточная репликация вируса везикулярного стоматита (VSV) в организме, поскольку вирус был выявлен в синовиальной жидкости и папулах.

Вакцина Ervebo была одобрена ВОЗ для экстренного применения в конце 2019 г. против БВВЭ вида EBOV⁹. При этом вакцина не обеспечивает защиту против других видов вируса Эбола. Иммунные корреляты защиты и длительность протективного пост вакцинального иммунного ответа на данный момент не известны и все еще изучаются, необходима разработка рекомендаций для введения бустерирующей дозы⁶.

Вакцина Zabdeno/Mvabea также представляет собой рекомбинантную векторную вакцину. Она состоит из двух компонентов, которые вводятся в режиме прайм-буст с интервалом в 8 нед. Первый компонент (Zabdeno) на основе рекомбинантного аденовируса человека 26-го серотипа (Ad26.ZEBOV) несет ген ГП вируса EBOV (изолят Mayinga) $8,75 \text{ lg}$ инфекционных частиц на дозу¹⁰. В со-

⁶Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Ebola Vaccine: Information about ERVEBO®. Available at: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/clinicians/vaccine/index.html>

⁷WHO. Ebola virus disease: Vaccines; 2020. Available at: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/ebola-vaccines>

⁸OCHA. Preliminary results on the efficacy of rVSV-ZEBOV-GP Ebola vaccine using the ring vaccination strategy in the control of an Ebola outbreak in the Democratic Republic of the Congo: an example of integration of research into epidemic response; 2019. Available at: <https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/preliminary-results-efficacy-rvsv-zebov-gp-ebola-vaccine-using-ring>

⁹WHO. WHO prequalifies Ebola vaccine, paving the way for its use in high-risk countries; 2019. Available at: <https://www.who.int/news/item/12-11-2019-who-prequalifies-ebola-vaccine-paving-the-way-for-its-use-in-high-risk-countries>

¹⁰European Medicines Agency (EMA). Summary of product characteristics Zabdeno, INN-Ebola vaccine (Ad26.ZEBOV-GP [recombinant]). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zabdeno-epar-product-information_en.pdf

став второго компонента (Mvabea) входят модифицированные вирусные частицы осповакцины Анкара Bavarian Nordic (MVA-BN-Filo) несущие гены ГП вируса EBOV (изолят Mayinga), Судан (изолят Gulu), нуклеопротеина вируса Эбола вида Taï Forest и вируса Марбург¹¹.

В нескольких странах были проведены клинические исследования фазы I (США, Великобритания и Африка), в которых использовали комбинации Ad26 для праймирования и MVA-BN Filo для бустирования. В ходе клинических исследований I фазы у взрослых проводили подбор схемы иммунизации – с интервалом в 29 и 57 сут. Был показан высокий уровень гликопротеин-специфических антител после вакцинации двумя дозами вакцины, антитела сохранялись в течение года после вакцинации [10]. Далее в клинических исследованиях II фазы продолжили подбор схемы иммунизации, исследовали интервал между дозами в 28, 56 и 84 сут [11]. В ходе клинических исследований III фазы в 2017–2018 гг. в Сьерра-Леоне с участием 576 детей в возрасте 1–17 лет было показано, что вакцина Zabdeno/Mvabea является безопасной и иммуногенной при применении у детей, интервал между дозами составлял 57 сут [12]. Всего в клинических исследованиях вакцины приняли участие 3367 взрослых и детей⁷.

Вакцина Zabdeno/Mvabea была одобрена ВОЗ для экстренного применения в апреле 2021 г. у взрослых и детей от 1 года¹². Таким образом, на сегодняшний день она является единственной вакциной против БВВЭ, разрешенной для применения у детей. На данный момент более 235 тыс. человек получили первую дозу вакцины, более 190 тыс. человек вакцинированы обеими дозами¹³. Согласно рекомендациям по применению, интервал между введением доз составляет примерно 8 нед^{10, 11}.

Несколько вакцин против БВВЭ успешно прошли клинические исследования и одобрены для применения в отдельных странах местными регуляторами. В Китае разработана и зарегистрирована вакцина на основе рекомбинантного аденовируса человека 5-го серотипа (Ad5-EBOV), кодирующего полноразмерный ГП вируса Эбола вида EBOV. В клинических исследованиях фазы I, в которых принимали участие 80 добровольцев, использовали высокие иммунизирующие дозы (4×10^{10} и $1,6 \times 10^{11}$ вирусных частиц). Результаты исследований показали безопасность вакцины. Одного введения дозы $1,6 \times 10^{11}$ вирусных частиц было достаточно для формирования у 100% испытуемых вируснейтрализующих антител (ВНА) в титрах, которые обеспечивают протективный эффект у низших приматов. Т-клеточный иммунный ответ наблюдали у 100% испытуемых, начиная

с 14-х суток, пик приходился на 28-е сутки после иммунизации [13]. Вакцина против БВВЭ на основе Ad5 показала безопасность и иммуногенность в клинических исследованиях фазы II в Сьерра-Леоне с участием 500 добровольцев, антиген-специфический клеточный и гуморальный иммунный ответ детектировали уже через 14 сут после однократной иммунизации, однако через 6 мес титры антител значительно снизились [14].

Одной из потенциальных проблем при использовании векторов на основе Ad5 может являться относительная распространенность в популяции предсуществующего иммунитета к аденовирусу этого серотипа. Во время клинических исследований вакцины против БВВЭ в Китае было показано, что наличие нейтрализующих антител к Ad5 до вакцинации может приводить к индукции более низкого поствакцинального антиген-специфического гуморального и Т-клеточного ответа. Однако в тех же исследованиях было установлено, что введение высокой дозы вакцины может снизить негативное влияние предсуществующего иммунитета на формирование ГП-специфического иммунного ответа [15]. Альтернативным способом решения проблемы предсуществующего иммунитета к вакцинному вектору является использование рекомбинантных аденовирусных векторов других серотипов, например аденовирусов человека серотипа 26 или аденовирусов шимпанзе серотипа 3 (ChAd3), предсуществующий иммунитет к которым редко детектируется в человеческой популяции [16]. Также можно использовать подход гетерологичной прайм-буст-иммунизации с применением в составе вакцины двух разных векторов для праймирующей и бустирующей доз [17].

Такой подход был реализован при создании комбинированной векторной вакцины против БВВЭ, разработанной и зарегистрированной на территории Российской Федерации: «ГамЭвак-Комби» и ее лиофилизированной формы «ГамЭвак-Лео». В состав этой вакцины входят два компонента: праймирующий компонент – на основе рекомбинантного VSV, бустирующий компонент – на основе рекомбинантного Ad5. Также зарегистрирована вакцина «ГамЭвак» на основе Ad5. Вакцина «ГамЭвак-Комби» продемонстрировала благоприятный профиль безопасности и индуцировала напряженный антиген-специфический гуморальный и клеточный иммунный ответ у 100% добровольцев в клинических исследованиях I–II фазы [18]. Более того, авторы этого исследования не обнаружили значимой корреляции между уровнем Ad5-нейтрализующих антител и уровнем ГП-специфического гуморального и клеточного ответа при иммунизации здоровых добровольцев. Следовательно, использование подхода гетерологичной прайм-буст-им-

¹¹European Medicines Agency (EMA). Summary of product characteristics Mvabea suspension for injection, INN-Ebola vaccine (MVA BN Filo [recombinant]). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mvabea-epar-product-information_en.pdf

¹²Johnson & Johnson joins World Health Organization in efforts to prevent spread of Ebola in West Africa; 2021. Available at: <https://www.jnj.com/johnson-johnson-joins-world-health-organization-in-efforts-to-prevent-spread-of-ebola-in-west-africa>

¹³Statement on the SAGE Recommendation Regarding the Johnson & Johnson Ebola Vaccine Regimen. Available at: <https://www.jnj.com/statement-on-the-sage-recommendation-regarding-the-johnson-johnson-ebola-vaccine-regimen>

мунизации позволило нивелировать негативное влияние предсуществующего ответа к аденовирусному вектору. Также завершились пострегистрационные клинические исследования вакцины «ГамЭвак-Комби» в республике Гвинея с участием 2000 добровольцев¹⁴ и клинические исследования I–II фазы вакцины «ГамЭвак-Лио»¹⁵. Еще одна вакцина против БВВЭ, зарегистрированная на территории РФ, разработана в центре «Вектор» Роспотребнадзора – это пептидная вакцина «ЭпиВакЭбола» [19]. Данные по клиническим исследованиям зарегистрированных вакцин против БВВЭ представлены в табл. 1.

Вакцины против БВВЭ на стадии клинических исследований

Ряд кандидатных вакцин против БВВЭ находится на стадии клинических исследований. В клинических исследованиях фазы I кандидатные вакцины показывают безопасность и иммуногенность у взрослых добровольцев (табл. 2).

Наиболее перспективной является комбинированная вакцинация с уже известным бустирующим компонентом MVA-BN-Filo (Mvabea) (исследуется также моновалентная MVA-EBO-Z), где в качестве праймирующего компонента используется другой вектор – рекомбинантный аденовирус шимпанзе 3-го серотипа ChAd3-EBO-Z. Кандидатная вакцина ChAd3 как отдельно, так и в комбинации с MVA-EBO-Z и MVA-BN-Filo показала безопасность в клинических исследованиях фазы I в Великобритании и США, изучаемый интервал между дозами составлял 3–14 нед [20, 21]. Напряженность гуморального и клеточного иммунитета находилась в зависимости от иммунизирующей дозы. Во время клинических испытаний моновалентной векторной рекомбинантной вакцины на основе аденовируса шимпанзе (ChAd3.EBOV), кодирующей ГП вируса Эбола типа EBOV, которые были проведены в Великобритании, испытывали иммунизирующие дозы 1×10^{10} , $2,5 \times 10^{10}$, 5×10^{10} вирусных частиц. По сравнению с проведенными в США испытаниями титр ВНА, был ниже и не достигал величины, обеспечивающей 100% защиту в экспериментах на низших приматах. Пик Т-клеточного ответа наблюдали на 42-е сутки после иммунизации (в исследованиях в США – на 28-е). В клинических исследованиях в США при использовании более высокой дозы (1×10^{11}) вирусных частиц титр ВНА был сравним с таковым, обеспечивающим 100% защиту в экспериментах на низших приматах.

Также проводили клинические исследования ускоренного протокола вакцинации с интервалом между

иммунизациями всего в 7 сут. Вакцина индуцировала напряженный гуморальный и клеточный иммунный ответ; как и при использовании более продолжительного интервала, специфические антитела сохранялись в течение 6 мес [22]. Эти данные имеют большое практическое значение в случае необходимости экстренного проведения иммунизации при возникновении вспышек заболевания. Успешно завершились клинические исследования фазы II вакцинного компонента на основе ChAd3 у взрослых [23] и детей в Африке [24]. В перспективе, необходимы более масштабные исследования комбинированной вакцинации на основе ChAd3 + MVA.

На стадии клинических исследований находится еще одна вакцина против БВВЭ на основе рекомбинантного VSV – rVSVN4CT1-EBOVGP1 (Vesiculovax). Вакцина вводится двукратно с интервалом в 4 нед. Результаты клинических исследований фазы I выявили формирование специфического гуморального и клеточного иммунного ответа у 100% взрослых добровольцев в группе высокой дозы [25]. Еще одну кандидатную векторную вакцину на основе аттенуированного вируса парагриппа человека 3-го типа, экспрессирующего ГП вируса Эбола вида EBOV (HPIV3/ΔHNF/EbovZ GP), изучали в двух клинических исследованиях фазы I, одно из которых было завершено в 2017 г. (результаты не опубликованы), второе началось в 2018 г., но было приостановлено^{16,17}.

Помимо рекомбинантных векторных вакцин, составляющих основной пул зарегистрированных и кандидатных вакцин против БВВЭ, до стадии клинических исследований продвинулись вакцины на основе других платформ: ДНК-вакцины, вакцина на основе наночастиц с рекомбинантными белками и адьювантом. Вакцина на основе наночастиц с рекомбинантным ГП вируса Эбола показала высокую иммуногенность при введении двух доз в клинических исследованиях I фазы (2015–2016 гг.) [26].

В ДНК-вакцинах для амплификации целевых генов используют невирусные конструкции, главным образом рекомбинантные плазмиды. К настоящему времени ДНК-вакцина против БВВЭ прошла фазу I клинических исследований. Первая из этих вакцин кодирует делегированную последовательность ГП вирусов Эбола видов EBOV (штамм Mayinga 1976) и SUDV (штамм Gulu 1977). Эта вакцина была испытана в исследовании с участием 21 добровольца. Вакцину вводили внутримышечно, в трехкратной повторности, с использованием возрастающих доз. Проведение повторных иммунизаций было необходимо для достижения высоких титров ВНА. Эта ДНК-вакцина также

¹⁴International multicenter study of the immunogenicity of medicinal product GamEvac-Combi. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03072030>

¹⁵A double-blind randomized placebo-controlled study of safety and immunogenicity of GamEvac-Lyo. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03333538?term=vaccine&cond=Ebola+Virus+Disease&draw=3&rank=71>

¹⁶Evaluating the safety of and immune response to a human parainfluenza virus type 3 Ebola virus vaccine (HPIV3-EbovZ GP) in healthy adults. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02564575>

¹⁷Evaluating the live-attenuated human parainfluenza virus type 3 vectored vaccine candidate expressing Ebolavirus Zaire glycoprotein as the sole envelope glycoprotein. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03462004>

Таблица 1. Вакцины против БВВЭ – отдельные клинические исследования

Table 1. Clinical trials of vaccines against EVD in use

Вакцина Vaccine	Антиген вируса Viral antigen	Место Проведения Trial site	Фаза КИ Phase	Число доброволь- цев Number of participants	Иммуногенность/эффективность вакцины Immunogenicity/efficacy of the vaccine	Источ- ник Reference
Ervebo (rVSV- ZEBOV)	ГП штамма Kikwit ZEBOV GP strain Kikwit ZEBOV	Германия, Швейцария, Габон, Кения Germany, Switzerland, Gabon, Kenya	I	158	Вакцина безопасна, через 28 сут после вакцинации у 100% испытуемых детектировали специфические IgG-антитела (максимальное СГ IgG – 2570), которые сохранялись в течение 6 мес. В группах с высокой дозой вакцины наблюдали более высокие уровни нейтрализующих антител The vaccine is safe, 28 days after vaccination 100% participants had specific IgG antibodies (GMT – 2570), which remained detectable for 6 months. High-dose vaccinees demonstrated higher levels of neutralizing antibodies	[8, 32]
		США USA	I	78	Через 28 сут после вакцинации в группе с высокой дозой СГ IgG – 11 143, СГ нейтрализующих антител – 441 High-dose group demonstrated GMT of IgG – 11 143, GMT of neutralizing antibodies – 441 at day28 after vaccination	[3]
		Швейцария Switzerland	I–II	43	Выявлен ряд нежелательных явлений, достоверно связанных с репликацией вакцинного вектора в организме A number of adverse events was reported, definitely related to replication of vaccine viral vector	[9]
		Либерия, Гвинея, Сьерра-Леоне Liberia, Guinea, Sierra-Leone	II–III	1500, 8651	Через 28 дней после вакцинации детектировали специфические IgG и нейтрализующие антитела, которые сохранялись в течение года At 28 days after vaccination specific IgG and neutralizing antibodies were detected and persisted for a year	[6]
		Гвинея Guinea	III	7651/4539	Согласно промежуточному и финальному анализу, эффективность вакцины составила 100% Reported efficacy of the vaccine was 100%	[4, 33]
Zabdeno + Mvabea (Ad26. ZEBOV + MVA-BN- Filo)	ГП штамма Mayinga 1976 ZEBOV + ГП ZEBOV, SUDV, MARV, НП TAFV GP strain Mayinga 1976 ZEBOV + GP ZEBOV, SUDV, Marburg virus, NP TAFV	ДРК DRC	–	93 965	Эффективность вакцины составила 97,5%, специфические антитела сохранялись в течение полугода после вакцинации, медиана IgG не менее 607 ЕУ/мл Reported efficacy of the vaccine was 97.5%, specific antibodies remained detectable for 6 months, IgG median not less than 607 EU/ml	сноска 8, [7]
		США USA	I	72	Изучались различные режимы иммунизации: Ad26-MVA, MVA-Ad26 с интервалом 15 или 57 сут. Показано, что гетерологичная вакцинация безопасна для взрослых добровольцев, показано формирование нейтрализующих антител к ZEBOV, и в меньшей степени к SUDV и MARV Various vaccination regimens were studied: Ad26-MVA, MVA-Ad26 with 15 or 57 days interval. Heterologic vaccination was safe for adult participants, neutralizing antibodies to ZEBOV and in less extent to SUDV and MARV were detected after vaccination	[34]
		Великобритания Great Britain	I	87	Изучались различные режимы иммунизации: Ad26-MVA, MVA-Ad26 с интервалом 29 или 57 сут. Показано, что гетерологичная вакцинация безопасна для взрослых добровольцев, приводит к формированию специфического гуморального и клеточного иммунного ответа, более выраженного при схемах Ad26-MVA Various vaccination regimens were studied: Ad26-MVA, MVA-Ad26 with 29 or 57 days interval. Heterologic vaccination was safe for adult participants, induced specific humoral and cellular immune response, more robust when Ad26-MVA regimen was used	[35]
		Сьерра-Леоне Sierra-Leone	I–II	443	Вакцина безопасна для взрослых добровольцев и индуцирует напряженный гуморальный ответ через 21 сут после 2-й дозы (интервал – 57 сут) Vaccine was safe for adult participants, induced specific humoral immune response at day 21 after 2 nd dose (interval between doses 57 days)	[10]

Продолжение табл. 1 см. на стр. 378

Вакцина Vaccine	Антиген вируса Viral antigen	Место Проведения Trial site	Фаза КИ Phase	Число доброволь- цев Number of participants	Иммуногенность/эффективность вакцины Immunogenicity/efficacy of the vaccine	Источ- ник Reference
rAd5. ZE- BOV		Великобритания, Франция Great Britain, France	II	423	Группы вакцинированных с разным интервалом между дозами – 28, 56, 84 сут. Вакцина безопасна, специфический гуморальный и клеточный иммунный ответ сохраняется в течение года после иммунизации. СГ IgG через 21 сут после буста (Δ 84 сут) – 11 312 EU/мл Vaccination regimens with 28, 56, 84 days interval were studied. Vaccine was safe for adult participants, induced specific humoral and cellular immune response, which persisted for a year. IgG GMT at day 21 after boosting (Δ 84 days) – 11 312 EU/ml	[11]
		Сьерра-Леоне Sierra-Leone	III	576 (дети 1–17 лет) (children of 1–17 y.o.)	Вакцина безопасна и индуцирует напряженный гуморальный иммунный ответ у детей через 21 сут после 2-й дозы, значения СГ во всех трех возрастных когортах > 9000 EU/мл Vaccine was safe for adult participants, induced specific humoral immune response at day 21 after boosting. IgG GMT in all age cohorts were > 9000 EU/ml	[12]
	ГП штамма Гвинея 2014 ZEBOV GP strain Guinea 2014	КНР PRC (China)	Ib	120	Вакцина безопасна, специфические антитела и Т-клеточный иммунный ответ детектировали уже через 14 сут после иммунизации, пик антител – через 28 сут (СГ IgG 1305 в группе с высокой дозой) Vaccine was safe, specific antibody and T-cellular response were detected at day 14 after immunization, antibodies peaked at day 28 (GMT 1305 in high-dose group)	[14]
	ZEBOV	Сьерра-Леоне Sierra-Leone	II	500	Специфические антитела детектировали уже через 14 сут после иммунизации, однако через полгода титры значительно снизились. В группе с высокой дозой через 28 сут после вакцинации антитела детектировали у 98% добровольцев, СГ IgG – 2043 Specific antibodies were detected at day 14 after immunization, but the titers decreased 6 months after. Seropositivity rate was 98% in high-dose group, GMT – 2043	[15]
«ГамЭвак-Комби» GamEvac-Combi	ГП штамма Makona 2014 ZEBOV GP strain Makona 2014 ZEBOV	РФ RF (Russia)	I/II	84	Вакцина индуцирует напряженный гуморальный и клеточный иммунный ответ, СГ IgG – 3277, через 21 сут после 2-й дозы, нейтрализующие антитела детектировали у 93,1% добровольцев Vaccine induced pronounced humoral and cell immune response, IgG GMT was 3277, at day 21 after 2 nd immunization, neutralizing antibodies were detected in 93,1% participants	[18]
		Гвинея Guinea	III	2000	Вакцина индуцирует напряженный гуморальный и клеточный иммунный ответ, СГ IgG – более 9000 на 28-е сутки исследования, сероконверсия 97,8%. Через год после вакцинации сероконверсия составила 91,6% Vaccine induced pronounced humoral and cell immune response, IgG GMT was > 9000 at day 28, seroconversion rate was 97,8%, which persisted at 91,6% in one year	Сноска 14

Примечание. ZEBOV – вирус Эбола вида Zaire; SUDV – вирус Эбола вида Sudan; TAFV – вирус Эбола вида Tai Forest; MARV – вирус Marburg; ГП – гликопротеин; НП – нуклеопротеин; СГ – среднее геометрическое реципрокных титров антител; EU/мл – ELISA units/мл (ИФА единицы/мл) – единицы измерения концентрации антител, определяемые в коммерческих тест-системах.

Note. ZEBOV – Ebolavirus (Zaire); SUDV – Sudanvirus; TAFV – Tai Forest virus; MARV – Marburg virus; GP – glycoprotein; NP – nucleoprotein; GMT – geometric mean titer of specific antibodies; EU/ml – ELISA units/ml in commercial test kits.

прошла фазу Ib клинических испытаний, которые были проведены в Уганде с участием 60 добровольцев [27, 28].

В ходе этих исследований наглядно проявляются недостатки ДНК-вакцин, которые заключаются в необходимости многократной иммунизации для достижения иммунного ответа. Основные направления увеличения иммуногенности ДНК-вакцин – это проведение электропорации для введения вакцины, что позволит увеличить вводимую эффективную дозу (но одновременно и усложнит процесс иммунизации)

и использование ДНК-вакцин при праймировании-бустировании вместе с векторными вакцинами.

Существующие ограничения и перспективы разработки вакцин против БВВЭ

Одной из основных целей разработки вакцин против БВВЭ является их и профилактическое и экстренное (для сдерживания вспышек заболевания) применение в эндемичных зонах. Следовательно, поздние этапы клинических исследований вакцин в странах Центральной и Западной Африки являются логичным

Таблица 2. Вакцины против БВВЭ на стадии клинических исследований
Table 2. Vaccines against EVD in clinical trials

Вакцина Vaccine	Антиген вируса Viral antigen	Место Проведения Trial site	Фаза КИ Phase	Число доброволь- цев Number of participants	Иммуногенность/эффективность вакцины Immunogenicity/efficacy of the vaccine	Источ- ник Reference
		Великобритания Great Britain	I	60	Через 4 нед после ChAd3 СГ IgG составило 752, нейтрализующих антител – 14,9. После бустирования MVA-BN-Filo (интервал 3–10 нед) формировался напряженный CD8 ⁺ -Т-клеточный ответ, СГ IgG через 4 нед – 9007, антитела сохранялись в течение 6 мес после введения вакцины, в более высоких титрах у группы, получившей бустировающую дозу MVA. In 4 weeks after ChAd3 priming GMT of IgG was 752, GMT of neutralizing antibodies was 14,9. MVA-BN-Filo boosting (3–10 weeks interval) induced robust CD8 ⁺ T-cellular immune response and humoral immune response (GMT IgG – 9007) in 4 weeks after boost. Antibodies persisted for 6 months after vaccination and MVA-boostered groups showed higher titers	[20]
ChAd3-EBOZ + бустирование MVA-EBO-Z или MVA-BN-filo	ГП ZEBOV + ГП штамма Mayinga ZEBOV либо + ГП ZEBOV, SUDV, MARV, НПТАFV	Великобритания, Сенегал Great Britain, Senegal	I	38 + 40	Исследовали безопасность и иммуногенность MVA-EBO-Z, произведенного альтернативным способом, при однократной иммунизации, либо в качестве бустировающего компонента для ChAd3 при ускоренном режиме иммунизации (интервал 7 сут). Показали безопасность MVA, произведенного новым способом, индукцию специфического гуморального и клеточного иммунного ответа. Safety and immunogenicity of alternatively manufactured MVA-EBO-Z were studied, using single immunization or as a booster to ChAd3 (7-day interval). MVA was shown to be safe and induced specific humoral and cellular immune response	[22]
ChAd3-EBOZ + boost MVA-EBO-Z or MVA-BN-filo	GP ZEBOV + GP strain Mayinga ZEBOV or GP ZEBOV, SUDV, MARV, NPТАFV	США, Мали USA, Mali	I	20 + 91	Исследовали комбинацию ChAd3 + MVA-BN-filo – показали безопасность, иммуногенность. Combination of ChAd3+ MVA-BN-filo was studied. It was safe and immunogenic	[21]
		Камерун, Мали, Нигерия, Сенегал Cameroon, Mali, Nigeria, Senegal	II	3013	Исследовали безопасность и иммуногенность ChAd3-EBO-Z у взрослых – показали безопасность, СГ IgG через 30 сут после вакцинации – 900. Safety and immunogenicity of ChAd3-EBO-Z in adults were studied. The vaccine was shown to be safe, GMT of IgG in 30 days after immunization was 900	[23]
		Мали, Сенегал Mali, Senegal	II	600 (дети 1–17 лет) (children of 1–17 y.o.)	Исследовали безопасность и иммуногенность ChAd3-EBO-Z у детей в различных возрастных группах – показали безопасность, СГ IgG через 30 сут после вакцинации – 1395–2406, через 12 мес после вакцинации – 716–1424. Safety and immunogenicity of ChAd3-EBO-Z in children were studied. The vaccine was shown to be safe, GMT of IgG in 30 days after immunization was 1395–2406, in 12 months – 716–1424	[24]
rVSVN4CT1-EBOVGP1	ГП ZEBOV GPZEBOV	США USA	I	39	Вакцина безопасна для взрослых здоровых добровольцев, индуцировала формирование ГП-специфических IgG-антител и нейтрализующих антител у 100% испытуемых после 2 иммунизаций высокой дозой с интервалом в 4 нед. The vaccine was safe in healthy adults and induced production of GP-specific IgG antibodies and neutralizing antibodies in 100% participants in 4 weeks after 2 high-dose immunizations	[25]
EBOD-NA012-00-VP /VRC-EBOD-NA023-00-VP	НП ZEBOV, ГП ZEBOV Mayinga 1976, ГП SUDV Gulu 1977, NP ZEBOV, GP ZEBOV Mayinga 1976, GP SUDV Gulu 1977	США USA	I	27	Трехкратная иммунизация с интервалом в 21–28 сут, группы с 3 различными дозами. Вакцина безопасна. Через 4 нед после 3-й иммунизации наблюдали антиген-специфический клеточный ответ, максимальное из средних значений титров антиген-специфических антител у разных групп составило 1875, нейтрализующие антитела не детектировались. Three-dose immunization with 21–28-day intervals and different dosages were studied. The vaccine was shown to be safe and induced antigen-specific cellular and humoral immune response (max GMT 1875) in 4 weeks after 3 rd immunization. Neutralizing antibodies were not detected	[27]

Продолжение табл. 2 см. на стр. 380

Вакцина Vaccine	Антиген вируса Viral antigen	Место Проведения Trial site	Фаза КИ Phase	Число доброволь- цев Number of participants	Иммуногенность/эффективность вакцины Immunogenicity/efficacy of the vaccine	Источ- ник Reference
		Уганда Uganda	Ib	108	Вакцина безопасна. Через 4 нед после 3-й иммунизации наблюдали антиген-специфический клеточный ответ, СГ IgG – 25 (SUDV), 31 (ZEBOV) The vaccine was shown to be safe and induced antigen-specific cellular and humoral immune response GMT IgG – 25 (SUDV), 31 (ZEBOV)	[28]
INO-4212	ГП ZEBOV Makona 2014 GP ZEBOV Makona 2014	США USA	I	240	–	Сноска 20
Наночастицы с ГП и адьюван- том Matrix-M Nanoparticles with GP and Matrix-M adjuvant	ГП ZEBOV Makona 2014 GP ZEBOV Makona 2014		I	230	Однократная или двукратная иммунизация (интервал в 21 сут) различными дозами. Вакцина безопасна, СГ нейтрализующих антител на 35-е сутки – 1736, через год сохранялись выше предела детекции, макс. СГ IgG из различных групп – 70 476 Single and two-dose immunization (21-day interval) with various doses was studied. The vaccine shown to be safe, max GMT of IgG was 70 476, GMT of neutralizing antibodies at day 35 was 1736, remained detectable for a year	[26]
HPIV3/ΔHNF/ EbovZ GP	ГП ZEBOV GP ZEBOV	США USA	I	30; 30	–	Сноска 16, 17

Примечание. ZEBOV – вирус Эбола вида Zaire; SUDV – вирус Эбола вида Sudan; TAFV – вирус Эбола вида Tai Forest; MARV – вирус Marburg; ГП – гликопротеин; НП – нуклеопротеин, СГ IgG – среднее геометрическое реципрокных титров антител; ЕУ/мл – ELISA units/мл (ИФА единицы/мл) – единицы измерения концентрации антител, определяемые в коммерческих тест-системах.

Note. ZEBOV – Ebolavirus (Zaire); SUDV – Sudanvirus; TAFV – Tai Forest virus; MARV – Marburg virus; GP – glycoprotein; NP – nucleoprotein, GMT – geometric mean titer of specific antibodies; EU/ml – ELISA units/ml in commercial test kits.

и необходимым решением для определения их эффективности. Подобную тенденцию мы видим в отношении зарегистрированных и перспективных кандидатных вакцин против БВВЭ. Далеко не все кандидатные вакцины, успешно завершившие фазу I клинических исследований, продвинулись на дальнейшие этапы. Это связано с множеством факторов – логистических, административных, финансовых и социальных, обуславливающих ресурсоемкость организации масштабных клинических исследований в эндемичных зонах для БВВЭ [29].

Помимо этого, предположительным барьером для продолжения клинических исследований кандидатных вакцин против БВВЭ является их частичное несоответствие целевому профилю ВОЗ¹⁸. Даже вакцины против БВВЭ, одобренные ВОЗ для применения, не полностью ему соответствуют. Так, вакцина Egeveo соответствует целевому профилю ВОЗ по показателям иммуногенности и режиму введения – она способна индуцировать напряженный специфический гуморальный иммунный ответ уже через 14 сут после однократного введения. Однако одним из ограничивающих факторов ее применения является дорогостоящий и ресурсоемкий режим хранения и холодовой цепи при температуре –80 °C [5]. Также вакцина Egeveo, произведенная на основе реплицирующегося

в организме человека вектора, является достаточно реактогенной. Это объясняет часто наблюдаемые в фазе I клинических исследований НЯ, ассоциированных с вакцинацией (артрит, дерматит), которые сохранялись при снижении иммунизирующей дозы [9]. Основным барьером для применения вакцины Zabdeno/Mvabea является режим двукратной иммунизации с длительным интервалом в 8 нед. Это затрудняет экстренное применение вакцины при вспышках заболевания, когда необходимо быстро обеспечить формирование напряженного поствакцинального иммунного ответа у населения. Режим хранения (от –85 до –55 °C) и транспортировки (от –25 до –15 °C) также является ресурсоемким¹⁹. Кроме того, несмотря на значительное число вакцинированных лиц в эндемичных зонах БВВЭ, на настоящее время данные по эффективности вакцины Zabdeno/Mvabea¹² у человека отсутствуют и экстраполируются из исследований на животных²⁰ [30]. Для вакцин, которые еще находятся в разработке, задержки в публикации результатов уже завершенных клинических исследований могут препятствовать последующим этапам проведения исследований, регистрации и внедрения вакцин в клиническую практику.

Возможно, важнейшим направлением работы в дальнейшей разработке новых вакцин и улучшении

¹⁸WHO. Ebola Virus Disease (EVD) Vaccine Target Product Profile. Available at: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/blue-print/who-ebola-tpp-2016.pdf?sfvrsn=6042583d_3

¹⁹WHO. Zabdeno. Product overview. Available at: <https://extranet.who.int/prequal/vaccines/p/zabdeno>

²⁰Open-label study of INO-4212 with or without INO-9012, administered IM or ID followed by electroporation in healthy volunteers. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02464670>

существующих вакцин против БВВЭ является продолжение исследований на моделях летальной инфекции у животных и изучение длительности иммунного ответа у человека. Действительно, первое направление позволит углубить понимание иммунных коррелятов защиты для существующих вакцин и заложить основы для разработки целого спектра эффективных вакцин против БВВЭ. Недостаток информации по иммунным коррелятам защиты признается даже для зарегистрированных и применяемых вакцин⁶. Несомненно, исследования на животных с летальной инфекцией, вызванной вирусом Эбола, являются ресурсоемкими и предполагают работу с патогенными биологическими агентами I группы патогенности. Однако подобные исследования необходимы для формирования фундаментального понимания механизмов работы вакцин и потенциально позволят противодействовать чрезвычайным ситуациям в области здравоохранения, связанным с БВВЭ, таким как крупные вспышки заболевания, эпидемии – в мировом масштабе, а в масштабе страны – завозные случаи и биотерроризм. Масштабные клинические исследования, проведенные в странах Африки в последние несколько лет, позволили собрать значительное количество данных по безопасности, иммуногенности вакцин и динамике иммунного ответа у вакцинированных лиц в популяции, а также получить ограниченное понимание эффективности вакцин [31]. Для вакцин, одобренных ВОЗ и уже используемых в эндемичных зонах (Ervebo, Zabdeno/Mvabea), необходимы дальнейшие исследования по длительности поствакцинального иммунного ответа. Это позволит разработать рекомендации для профилактического применения вакцин и введения бустерирующих доз в условиях эпидемий.

Также потенциально полезными направлениями в разработке вакцин являются расширение антигенного состава и разработка вакцин с более мягкими условиями хранения и транспортировки. В целевом профиле ВОЗ для вакцин предпочтительными являются вакцины, хранящиеся при температуре –20 °С и стабильные при температуре 2–8 °С в течение 6 мес. Относительно антигенного состава, предпочтительной характеристикой является эффективность против БВВЭ видов EBOV, SUDV и BDBV, а также против болезни, вызванной вирусом Марбург. В связи с недавней вспышкой БВВЭ вида SUDV в конце 2022 г. это направление является особенно актуальным.

Заключение

Большое значение в ограничении распространения вспышек заболеваний имеют применение санитарных и карантинных мер и своевременная диагностика. Однако, в связи с отсутствием специфической терапии против БВВЭ и сложностью обеспечения карантинных мер в эндемичных зонах, наличие эффективных вакцин против БВВЭ для экстренного применения потенциально внесет значительный вклад в снижение заболеваемости и числа летальных исходов, что уже показано в клинических исследованиях III фазы, проведенных в эндемичных зонах во время вспышек заболевания. Несмотря на наличие

в мире зарегистрированных вакцин против БВВЭ, вспышки заболевания продолжают возникать, так как профилактическая вакцинация в эндемичных зонах является масштабной и недостижимой в ближайшей перспективе задачей. Высокая летальность БВВЭ, отсутствие специфических терапевтических средств, наличие нескольких видов вируса Эбола, патогенных для человека, с непредсказуемым изменением ареала вспышек указывают на актуальность дальнейшей разработки и исследований вакцин против БВВЭ. Необходима разработка спектра вакцин, доступных для использования, что потенциально позволит гибко реагировать на эпидемиологическую ситуацию по БВВЭ, используя достоинства и нивелируя недостатки различных вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., Di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., et al. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthoebolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch. Virol.* 2023; 168(8): 220. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05834-2>
2. Sharma A.R., Lee Y.H., Nath S., Lee S.S. Recent developments and strategies of Ebola virus vaccines. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2021; 60: 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.06.008>
3. Regules J.A., Beigel J.H., Paolino K.M., Voell J., Casellano A.R., Munoz P., et al. A recombinant vesicular stomatitis virus Ebola vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376(4): 330–41. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414216>
4. Henao-Restrepo A.M., Camacho A., Longini I.M., Watson C.H., Edmunds W.J., Egger M., et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: Final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola Ça Suffit!). *Lancet.* 2017; 389(10068): 505–18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32621-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32621-6)
5. Gsell P.S., Camacho A., Kucharski A.J., Watson C.H., Bagayoko A., Nadlaou S.D., et al. Ring vaccination with rVSV-ZEBOV under expanded access in response to an outbreak of Ebola virus disease in Guinea, 2016: an operational and vaccine safety report. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(12): 1276–84. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30541-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30541-8)
6. Simon J.K., Kennedy S.B., Mahon B.E., Dubey S.A., Grant-Klein R.J., Liu K., et al. Immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccine (ERVEBO®) in African clinical trial participants by age, sex, and baseline GP-ELISA titer: A post hoc analysis of three Phase 2/3 trials. *Vaccine.* 2022; 40(46): 6599–606. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.09.037>
7. Hoff N.A., Bratcher A., Kelly J.D., Musene K., Kompany J.P., Kambamba M., et al. Immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccination in exposed and potentially exposed persons in the Democratic Republic of the Congo. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2022; 119(6): e2118895119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2118895119>
8. Agnandji S., Huttrier A., Zinser M., Njuguna P., Dahlike C., Fernandes J., et al. Phase I trials of rVSV Ebola vaccine in Africa and Europe – Preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1647–60. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1502924>
9. Huttner A., Dayer J.A., Yerly S., Combes C., Auderset F., Desmeules J., et al. VSV-Ebola Consortium. The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomised double-blind, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(10): 1156–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00154-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00154-1)
10. Ishola D., Manno D., Afolabi M.O., Keshinro B., Bockstal V., Rogers B., et al. Safety and long-term immunogenicity of the two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in adults in Sierra Leone: a combined open-label, non-randomised stage 1, and a randomised, double-blind, controlled stage 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2022; 22(1): 97–109. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00125-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00125-0)
11. Pollard A.J., Launay O., Lelievre J.D., Lacabaratz C., Grande S., Goldstein N., et al. Safety and immunogenicity of a two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in adults in Europe (EBOVAC2): a randomised, observ-

- er-blind, participant-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(4): 493–506. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30476-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30476-X)
12. Afolabi M.O., Ishola D., Manno D., Keshinro B., Bockstal V., Rogers B., et al. Safety and immunogenicity of the two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in children in Sierra Leone: a randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 22(1): 110–22. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00128-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00128-6)
 13. Zhu F.C., Hou L.H., Li J.X., Wu S.P., Liu P., Zhang G.R., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase I trial. *Lancet.* 2015; 385(9984): 2272–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60553-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60553-0)
 14. Zhu F.C., Wurie A.H., Hou L.H., Liang Q., Li Y.H., Russell J.B., et al. Safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in Sierra Leone: A single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet.* 2017; 389(10069): 621–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32617-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32617-4)
 15. Li J.X., Hou L.H., Meng F.Y., Wu S.P., Hu Y.M., Liang Q., et al. Immunity duration of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase I trial. *Lancet Glob. Health.* 2017; 5(3): e324–34. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30367-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30367-9)
 16. Ersching J., Hernandez M.L., Cezarotto F.S., Ferreira J.D., Martins A.B., Switzer W.M., et al. Neutralizing antibodies to human and simian adenoviruses in humans and New-World monkeys. *Virology.* 2010; 407(1): 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.07.043>
 17. Dolzhikova I.V., Tokarskaya E.A., Dzharullaeva A.S., Tikhvatulin A.I., Shcheblyakov D.V., Voronina O.L., et al. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae.* 2017; 9(3): 4–11.
 18. Dolzhikova I.V., Zubkova O.V., Tikhvatulin A.I., Dzharullaeva A.S., Tikhvatulina N.M., Shcheblyakov D.V., et al. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum. Vaccines Immunother.* 2017; 13(3): 613–20. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1238535>
 19. Рыжиков А.Б., Пьянков О.В., Даниленко Е.Д., Гамалей С.Г., Шимина Г.Г., Сысоева Г.М. и др. Вакцина против лихорадки Эбола «ЭпиВакЭбола»: результаты доклинического исследования иммуногенности и безопасности. В кн.: *Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения»*. СПб.; 2017. <https://elibrary.ru/zwaqtr>
 20. Ewer K., Rampling T., Venkatraman N., Bowyer G., Wright D., Lambe T., et al. A monovalent chimpanzee adenovirus Ebola vaccine boosted with MVA. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1635–46. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411627>
 21. Tapia M.D., Sow S.O., Lyke K.E., Haidara F.C., Diallo F., Doumbia M., et al. Use of ChAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase I, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(1): 31–42. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00362-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00362-X)
 22. Venkatraman N., Ndiaye B.P., Bowyer G., Wade D., Sridhar S., Wright D., et al. Safety and immunogenicity of a heterologous prime-boost Ebola virus vaccine regimen in healthy adults in the United Kingdom and Senegal. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(8): 1187–97. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy639>
 23. Tapia M.D., Sow S.O., Ndiaye B.P., Mbaye K.D., Thiongane A., Ndour C.T., et al. Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus vectored Ebola vaccine in adults in Africa: a randomised, observer-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(6): 707–18. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30016-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30016-5)
 24. Tapia M.D., Sow S.O., Mbaye K.D., Thiongane A., Ndiaye B.P., Ndour C.T., et al. Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus vectored Ebola vaccine in children in Africa: a randomised, observer-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(6): 719–30. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30019-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30019-0)
 25. Clarke D.K., Xu R., Matassov D., Latham T.E., Ota-Setlik A., Gerardi C.S., et al. Safety and immunogenicity of a highly attenuated rVSVN4CT1-EBOVGP1 Ebola virus vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 455–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30614-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30614-0)
 26. Fries L., Cho I., Krähling V., Fehling S.K., Strecker T., Becker S., et al. Randomized, blinded, dose-ranging trial of an Ebola virus glycoprotein nanoparticle vaccine with Matrix-M adjuvant in healthy adults. *J. Infect. Dis.* 2020; 222(4): 572–82. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz518>
 27. Martin J.E., Sullivan N.J., Enama M.E., Gordon I.J., Roederer M., Koup R.A., et al. A DNA vaccine for Ebola virus is safe and immunogenic in a phase I clinical trial. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006; 13(11): 1267–77. <https://doi.org/10.1128/cvi.00162-06>
 28. Kibuuka H., Berkowitz N.M., Millard M., Enama M.E., Tindikahwa A., Sekiziyivu A.B., et al. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: A phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet.* 2015; 385(9977): 1545–54. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62385-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62385-0)
 29. Schieffelin J.S. An effective and safe vaccine will not be enough to prepare us for the next Ebola outbreak. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(12): 1224–25. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30575-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30575-3)
 30. Bockstal V., Leyssen M., Heerwegh D., Spiessens B., Robinson C., Stoop J.N., et al. Non-human primate to human immunobridging demonstrates a protective effect of Ad26.ZEBOV, MVA-BN-Filo vaccine against Ebola. *NPJ Vaccines.* 2022; 7(1): 156. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00564-z>
 31. Feldmann H., Feldmann F., Marzi A. Ebola: lessons on vaccine development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2018; 72: 423–46. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062414>
 32. Agnandji S.T., Fernandes J.F., Bache E.B., Obiang Mba R.M., Brosnahan J.S., Kabwende L., et al. Safety and immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccine in adults and children in Lambaréné, Gabon: a phase I randomised trial. *PLoS Med.* 2017; 14(10): e1002402. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002402>
 33. Henao-Restrepo A.M., Longini I.M., Egger M., Dean N.E., Edmunds W.J., Camacho A., et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *Lancet.* 2015; 386(9996): 857–66. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61117-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61117-5)
 34. Bockstal V., Shukarev G., McLean C., Goldstein N., Bart S., Gaddah A., et al. First-in-human study to evaluate safety, tolerability, and immunogenicity of heterologous regimens using the multivalent filovirus vaccines Ad26.Filo and MVA-BN-Filo administered in different sequences and schedules: A randomized, controlled study. *PLoS One.* 2022; 17(10): e0274906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274906>
 35. Milligan I.D., Gibani M.M., Sewell R., Clutterbuck E.A., Campbell D., Plested E., et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2016; 315(15): 1610–23. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.4218>

REFERENCES

1. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., Di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., et al. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthoebolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch. Virol.* 2023; 168(8): 220. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05834-2>
2. Sharma A.R., Lee Y.H., Nath S., Lee S.S. Recent developments and strategies of Ebola virus vaccines. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2021; 60: 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.06.008>
3. Regules J.A., Beigel J.H., Paolino K.M., Voell J., Casellano A.R., Munoz P., et al. A recombinant vesicular stomatitis virus Ebola vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376(4): 330–41. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414216>
4. Henao-Restrepo A.M., Camacho A., Longini I.M., Watson C.H., Edmunds W.J., Egger M., et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: Final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola ÇaSuffit!). *Lancet.* 2017; 389(10068): 505–18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32621-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32621-6)
5. Gsell P.S., Camacho A., Kucharski A.J., Watson C.H., Bagayoko A., Nadlaou S.D., et al. Ring vaccination with rVSV-ZEBOV under expanded access in response to an outbreak of Ebola virus disease in Guinea, 2016: an operational and vaccine safety report. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(12): 1276–84. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30541-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30541-8)

6. Simon J.K., Kennedy S.B., Mahon B.E., Dubey S.A., Grant-Klein R.J., Liu K., et al. Immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccine (ERVEBO®) in African clinical trial participants by age, sex, and baseline GP-ELISA titer: A post hoc analysis of three Phase 2/3 trials. *Vaccine*. 2022; 40(46): 6599–606. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.09.037>
7. Hoff N.A., Bratcher A., Kelly J.D., Musene K., Kompany J.P., Kabamba M., et al. Immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccination in exposed and potentially exposed persons in the Democratic Republic of the Congo. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2022; 119(6): e2118895119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2118895119>
8. Agnandji S., Huttrier A., Zinser M., Njuguna P., Dahlike C., Fernandes J., et al. Phase I trials of rVSV Ebola vaccine in Africa and Europe – Preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1647–60. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1502924>
9. Huttner A., Dayer J.A., Yerly S., Combescure C., Auderset F., Desmeules J., et al. VSV-Ebola Consortium. The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomised double-blind, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(10): 1156–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00154-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00154-1)
10. Ishola D., Manno D., Afolabi M.O., Keshinro B., Bockstal V., Rogers B., et al. Safety and long-term immunogenicity of the two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in adults in Sierra Leone: a combined open-label, non-randomised stage 1, and a randomised, double-blind, controlled stage 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2022; 22(1): 97–109. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00125-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00125-0)
11. Pollard A.J., Launay O., Lelievre J.D., Lacabaratz C., Grande S., Goldstein N., et al. Safety and immunogenicity of a two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in adults in Europe (EBOVAC2): a randomised, observer-blind, participant-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(4): 493–506. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30476-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30476-X)
12. Afolabi M.O., Ishola D., Manno D., Keshinro B., Bockstal V., Rogers B., et al. Safety and immunogenicity of the two-dose heterologous Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccine regimen in children in Sierra Leone: a randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 22(1): 110–22. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00128-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00128-6)
13. Zhu F.C., Hou L.H., Li J.X., Wu S.P., Liu P., Zhang G.R., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase I trial. *Lancet*. 2015; 385(9984): 2272–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60553-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60553-0)
14. Zhu F.C., Wurie A.H., Hou L.H., Liang Q., Li Y.H., Russell J.B., et al. Safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in Sierra Leone: A single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2017; 389(10069): 621–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32617-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32617-4)
15. Li J.X., Hou L.H., Meng F.Y., Wu S.P., Hu Y.M., Liang Q., et al. Immunity duration of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase I trial. *Lancet Glob. Health*. 2017; 5(3): e324–34. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30367-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30367-9)
16. Ersching J., Hernandez M.I., Cezarotto F.S., Ferreira J.D., Martins A.B., Switzer W.M., et al. Neutralizing antibodies to human and simian adenoviruses in humans and New-World monkeys. *Virology*. 2010; 407(1): 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.07.043>
17. Dolzhikova I.V., Tokarskaya E.A., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulina A.I., Shcheblyakov D.V., Voronina O.L., et al. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae*. 2017; 9(3): 4–11.
18. Dolzhikova I.V., Zubkova O.V., Tukhvatulina A.I., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulina N.M., Shcheblyakov D.V., et al. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum. Vaccines Immunother.* 2017; 13(3): 613–20. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1238535>
19. Ryzhikov A.B., P'yankov O.V., Danilenko E.D., Gamaley S.G., Shimina G.G., Sysoeva G.M., et al. Preclinical evaluation of Ebola Vaccine EpiVacEbola: Immunogenicity and safety results. In: *Materials of the XI Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists «Ensuring epidemiological well-being: challenges and solutions» [Materialy XI s"ezda Vserossiyskogonauchno-prakticheskogoobshchestvaepidemiologov, mikrobiologoviparazitologov «Obespeche-*
20. *niepidemiologicheskogoblagoopoluchiya: vyzovyresheniya»*. St. Petersburg; 2017. <https://elibrary.ru/zwaqtr> (in Russian)
21. Ewer K., Rampling T., Venkatraman N., Bowyer G., Wright D., Lambe T., et al. A monovalent chimpanzee adenovirus Ebola vaccine boosted with MVA. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1635–46. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411627>
22. Tapia M.D., Sow S.O., Lyke K.E., Haidara F.C., Diallo F., Doumbia M., et al. Use of ChAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase 1, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(1): 31–42. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00362-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00362-X)
23. Venkatraman N., Ndiaye B.P., Bowyer G., Wade D., Sridhar S., Wright D., et al. Safety and immunogenicity of a heterologous prime-boost Ebola virus vaccine regimen in healthy adults in the United Kingdom and Senegal. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(8): 1187–97. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy639>
24. Tapia M.D., Sow S.O., Ndiaye B.P., Mbaye K.D., Thiongane A., Ndour C.T., et al. Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus vectored Ebola vaccine in adults in Africa: a randomised, observer-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(6): 707–18. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30016-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30016-5)
25. Tapia M.D., Sow S.O., Mbaye K.D., Thiongane A., Ndiaye B.P., Ndour C.T., et al. Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus vectored Ebola vaccine in children in Africa: a randomised, observer-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(6): 719–30. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30019-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30019-0)
26. Clarke D.K., Xu R., Matassov D., Latham T.E., Ota-Setlik A., Gerardi C.S., et al. Safety and immunogenicity of a highly attenuated rVSVN4CT1-EBOVGPI Ebola virus vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 455–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30614-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30614-0)
27. Fries L., Cho I., Kräling V., Fehling S.K., Strecker T., Becker S., et al. Randomized, blinded, dose-ranging trial of an Ebola virus glycoprotein nanoparticle vaccine with Matrix-M adjuvant in healthy adults. *J. Infect. Dis.* 2020; 222(4): 572–82. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz518>
28. Martin J.E., Sullivan N.J., Enama M.E., Gordon I.J., Roederer M., Koup R.A., et al. A DNA vaccine for Ebola virus is safe and immunogenic in a phase I clinical trial. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006; 13(11): 1267–77. <https://doi.org/10.1128/cvi.00162-06>
29. Kibuuka H., Berkowitz N.M., Millard M., Enama M.E., Tindikahwa A., Sekiziyivu A.B., et al. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: A phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*. 2015; 385(9977): 1545–54. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62385-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62385-0)
30. Schieffelin J.S. An effective and safe vaccine will not be enough to prepare us for the next Ebola outbreak. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(12): 1224–25. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30575-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30575-3)
31. Bockstal V., Leyssen M., Heerwegh D., Spiessens B., Robinson C., Stoop J.N., et al. Non-human primate to human immunobridging demonstrates a protective effect of Ad26.ZEBOV, MVA-BN-Filo vaccine against Ebola. *NPJ Vaccines*. 2022; 7(1): 156. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00564-z>
32. Feldmann H., Feldmann F., Marzi A. Ebola: lessons on vaccine development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2018; 72: 423–46. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062414>
33. Agnandji S.T., Fernandes J.F., Bache E.B., Obiang Mba R.M., Brosnahan J.S., Kabwende L., et al. Safety and immunogenicity of rVSVΔG-ZEBOV-GP Ebola vaccine in adults and children in Lambaréné, Gabon: a phase I randomised trial. *PLoS Med.* 2017; 14(10): e1002402. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002402>
34. Henao-Restrepo A.M., Longini I.M., Egger M., Dean N.E., Edmunds W.J., Camacho A., et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *Lancet*. 2015; 386(9996): 857–66. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61117-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61117-5)
35. Bockstal V., Shukarev G., McLean C., Goldstein N., Bart S., Gaddah A., et al. First-in-human study to evaluate safety, tolerability, and immunogenicity of heterologous regimens using the multivalent filovirus vaccines Ad26.Filo and MVA-BN-Filo administered in different sequences and schedules: A randomized, controlled study. *PLoS One*. 2022; 17(10): e0274906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274906>
36. Milligan I.D., Gibani M.M., Sewell R., Clutterbuck E.A., Campbell D., Pledest E., et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; 315(15): 1610–23. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.4218>

Информация об авторах:

Ковыршина Анна Витальевна✉ – младший научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kovyrshina@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0002-8757-7026>

Сизикова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Лебедев Виталий Николаевич – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6552-4599>

Борисевич Сергей Владимирович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Должикова Инна Вадимовна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, зав. лаб. Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: dolzhikova@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-2548-6142>

Логунов Денис Юрьевич – д-р биол. наук, академик РАН, главный научный сотрудник, заведующий лаб. клеточной микробиологии, заместитель директора по научной работе ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: logunov@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Гинцбург Александр Леонидович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Участие авторов: Ковыршина А.В. – сбор и анализ данных по зарегистрированным вакцинам против БВВЭ, формирование текста статьи; Сизикова Т.Е. – сбор и анализ данных по клиническим испытаниям векторных вакцин против БВВЭ; Лебедев В.Н. – сбор и анализ данных по клиническим испытаниям ДНК-вакцин и вакцин на основе наночастиц; Борисевич С.В. – разработка концепции статьи, обобщение полученных данных, редактирование текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи; Должикова И.В. – анализ существующих ограничений разработки вакцин против БВВЭ; Логунов Д.Ю. – анализ перспектив разработки вакцин против БВВЭ, обобщение полученных данных; Гинцбург А.Л. – обобщение полученных данных, редактирование текста статьи.

Поступила 30.08.2023

Принята в печать 23.10.2023

Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Anna V. Kovyrshina✉ – junior researcher, NRCEM named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: kovyrshina@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0002-8757-7026>

Tatiana E. Sizikova – PhD, senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Vitaliy N. Lebedev – DSc, professor, leading researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6552-4599>

Sergey V. Borisevich – DSc, professor, academician of RAS, head of the institute, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. E-mail: 48cnii@mil.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Inna V. Dolzhikova – PhD, leading researcher, head of State virus collection laboratory, NRCEM named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: dolzhikova@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-2548-6142>

Denis Yu. Logunov – DSc, academician of RAS, chief researcher, deputy director for research, head of laboratory of cell microbiology, NRCEM named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: logunov@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Alexander L. Gintsburg – DSc, professor, academician of RAS, director, NRCEM named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Contribution: Kovyrshina A.V. – collection and analysis of data on registered vaccines against EVD, manuscript preparation; Sizikova T.E. – collection and analysis of data on clinical trials of vector vaccines against EVD; Lebedev V.N. – collection and analysis of data on clinical trials of DNA and nanoparticle vaccines against EVD; Borisevich S.V. – conceptualization, data summarization, manuscript editing, final approval; Dolzhikova I.V. – analysis of current challenges for EVD vaccine development; Logunov D.Yu. – analysis of perspectives for EVD vaccine development, data summarization; Gintsburg A.L. – data summarization, manuscript editing.

Received 30 August 2023

Accepted 23 October 2023

Published 31 October 2023

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-180>

© EMAMI A., PIRBONYEH N., MOATTARI A., JAVANMARDI F., 2023



A decade genetic diversity in Circulating influenza B virus in Iran (2010–2019): Divergence from WHO-recommended vaccine strains

Amir Emami¹✉, Neda Pirbonyeh^{1,2}, Afagh Moattari², Fatemeh Javanmardi³¹Burn and wound healing research center, Microbiology Department, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran;²Department of Bacteriology and Virology, Shiraz Medical School, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran;³Biostatistics Department, Shiraz Medical School, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

Background. Data on the disease burden and circulation patterns of influenza B virus lineages for Iran are limited.**Objective.** This review aims to describe the pattern of influenza B occurrence in Iran, comparing it with the proposed vaccine strains and determining the match and mismatch with the prescribed vaccine annually.**Methods.** Various sources were used to retrieve information of the data; such as information from an online search of databases such as FluNet, GISAID, and NCBI. After extracting protein sequence records in GISAID, sequence alignment with vaccine strain and construction of a phylogenetic tree were performed. Subsequently, categories of the registered circulating strains were evaluated for matching with the vaccine strains.**Results.** Of the total registered influenza-positive samples, 20.21% were related to influenza B virus. The phylogenetic tree was designed based on 43 samples registered in the GISAID database; 76.74 and 23.25% sequences were of Yamagata and Victoria lineages, respectively. The most prevalent influenza B virus strains circulating during the study years belonged to the Yamagata lineage. In general, the match of the influenza B virus predominant circulating strains with administrated vaccines was observed in Iran. However, a high level of mismatch between the vaccine strain and Iranian isolates was identified in 2016–2017.**Conclusion.** The review of match and mismatch in influenza vaccine in order to improve the composition of the prescribed vaccine in each region is very important because the vaccine efficacy decreased when the strain included in vaccine did not match the circulating epidemic strain.**Keywords:** *Influenza B; Vaccine; genetic diversity***For citation:** Emami A., Pirbonyeh N., Moattari A., Javanmardi F. A decade genetic diversity in Circulating influenza B virus in Iran (2010-2019): Divergence from WHO-recommended vaccine strains. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 385–393. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-180> EDN: <https://elibrary.ru/hqrvbk>**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by relevant ethical committees affiliated with Shiraz University of Medical Sciences and approved by following Ethical code: IR.SUMS.REC.1398.1173.

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-180>

Генетическое разнообразие вируса гриппа В, циркулирующего в Иране в течение десятилетия (2010–2019 гг.): отличие от рекомендованных ВОЗ вакцинных штаммов

Amir Emami¹✉, Neda Pirbonyeh^{1,2}, Afagh Moattari², Fatemeh Javanmardi³¹Научно-исследовательский центр травматологии, кафедра микробиологии Ширазского университета медицинских наук, Шираз, Иран;²Кафедра бактериологии и вирусологии Ширазского университета медицинских наук, Шираз, Иран;³Кафедра биостатистики Ширазского университета медицинских наук, Шираз, Иран

Резюме

Введение. Данные о распространенности и особенностях циркуляции линий вируса гриппа В в Иране ограничены.

Цель. Описать характер заболеваемости гриппом В в Иране в контексте применявшихся для вакцинации штаммов и определить их соответствие актуальным штаммам вируса гриппа В.

Методы. С целью сбора информации проводили онлайн-поиск в базах данных: FluNet, GISAID и NCBI. Для аминокислотных последовательностей вируса гриппа В, взятых из базы данных GISAID, было выполнено их выравнивание с вакцинным штаммом и построение филогенетического дерева. Затем последовательности циркулирующих штаммов оценивали на соответствие вакцинным штаммам.

Результаты. Из общего числа зарегистрированных последовательностей вирусов гриппа 20,21% принадлежали вирусу гриппа В. Филогенетическое дерево было построено на основе 43 последовательностей, зарегистрированных в базе данных GISAID; 76,74 и 23,25% последовательностей принадлежали линиям В/Ямагата и В/Виктория соответственно. Наиболее распространенные штаммы вируса гриппа В, циркулировавшие в годы исследования, относились к линии В/Ямагата. В целом в Иране наблюдалось совпадение преобладающих циркулирующих штаммов вируса гриппа В со штаммами, применяемыми в вакцинах. Однако в период 2016–2017 гг. был зарегистрирован высокий уровень несоответствия вакцинного штамма иранским изолятам.

Заключение. Анализ соответствия штаммов вакцин, применяющихся для профилактики гриппа, циркулирующим эпидемическим штаммам вируса крайне важен для улучшения состава используемых в разных регионах вакцин, поскольку при их несоответствии эффективность вакцинации снижается.

Ключевые слова: Грипп В; вакцина; генетическая изменчивость

Для цитирования: Emami A., Pirbonyeh N., Moattari A., Javanmardi F. Генетическое разнообразие вируса гриппа В, циркулирующего в Иране в течение десятилетия (2010-2019 гг.): отличие от рекомендованных ВОЗ вакцинных штаммов. Вопросы вирусологии. 2023; 68(5): 372–384. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-180> EDN: <https://elibrary.ru/hqrvbk>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциальных конфликтов интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Ширазского университета медицинских наук с присвоением кода IR.SUMS.REC.1398.1173.

Introduction

Influenza is a viral infectious disease which leads to acute complications and is considered a health concern all over the world. Among different types of influenza viruses, three species (A, B, C) are the most responsible for flu infection in humans [1]. These species are different in terms of the antigenic structure of the viral nucleoprotein (NP) and matrix protein (M), which cause various forms of severity and involve different age groups [2]. Annual epidemics are related to influenza A and B, which affect 5–10% and 20–30% of adults and children respectively each year. It is estimated that 3–5 million cases are infected with influenza type A and B which have a mortality rate of 290 000 to 650 000 each year [3, 4].

Influenza B virus is relatively more stable than influenza A virus due to its limited antigenic drift [5]. Influenza C virus is rarely reported as the cause of human diseases, likely due to the symptoms being more subclinical [6]. Although the flu subsides on its own for most people, due to the potential threat of this respiratory infection, a vaccine is the most effective method of protection recommended by health care organizations such as the World Health Organization (WHO). Due to different factors, the effect of the flu vaccine can be different. According to this, influenza (flu) vaccines cause antibodies to develop in the body which provide protection against infection with the viruses that are part of said vaccines, the protection offered by the flu vaccine varies from season to season

and depends mostly on the similarity or «matching» of the viruses in the vaccine with the circulating viruses. However, it is also important to note that during the years when the flu vaccine has been matched to the circulating strain, the effect of the flu vaccine may still be different, depending on factors such as the characteristics of the person vaccinated (*e.g.*, health, immune status and age), how the flu viruses are circulating in that season, and potentially what type of flu vaccine is used. According to the different genotypes of influenza viruses, different types of vaccine (Trivalent (H1N1, H3N2 strains, and one B strains) or quadrivalent (two B strains)) have been designed and produced [7]. Following that, a review of the genetic differentiation of circulating influenza viruses each year is required to increase the immunity of individuals who will be vaccinated, as well as design and prepare the proper vaccine type for the upcoming season. So far, many impacts of seasonal and pandemic influenza on population health have been described extensively, but due to the variable nature and diversity of influenza virus strains, it is necessary to study periodic changes and identify common strains every year in each geographical region. Although influenza A viruses cause most influenza cases and are responsible for most pandemic diseases, influenza B virus is a major cause of morbidity and mortality during interpandemic periods and its prevention is an important global health priority [8]. In the early 1980s, Influenza B virus split into two antigenically distinct phylogenetic lineages (B/Victoria/2/87, abbreviated B/Victoria-like, and B/Yamagata/16/88, abbreviated B/Yamagata-like). Based on the geographical outbreak history of type B, the Victoria lineage was limited to eastern Asia for most of the 1990s, whilst the two lineages have co-circulated the same globally from the 21st century onwards [9]. Based on the number of influenza B viruses in vaccine vials, there are two types of trivalent and quadrivalent vaccines currently available for vaccination. Due to this, the selection of influenza B virus lineage is critical to determining the effectiveness of vaccination programs. Unfortunately, the correct prediction of the predominating circulating B lineage is quite complicated and often leads to inaccuracies, resulting in a mismatch between the recommended vaccine and the circulating influenza B virus lineage. Previous studies have raised concerns that noncompliance may reduce the effectiveness of the vaccine, due to a lack of cross-protection between antigenically distinct influenza B virus lineages, leading to more influenza cases and an increase in influenza-related medical resource utilization and costs. In Iran, seasonal influenza causes many complications that place a significant economic burden on health and social systems. According to the vaccine composition recommended for the eastern Mediterranean by the WHO, during the influenza seasons in Iran, trivalent vaccines were usually used. Although high vaccination coverage levels have been reached in target vaccination groups, little is known about the effectiveness of vaccination programs in Iran. In view of the above, the most important factor about vaccine production is the surveillance data which shows virus circulation and selection based on the common influenza

type during the upcoming season. The present integrative review of publicly available data aims to consolidate findings on the pattern of influenza B occurrence in Iran to have a better understanding of influenza B epidemiology and its relevance to seasonal vaccine composition.

Materials and methods

Information resources and search strategy

Various sources were used to retrieve information on epidemiological surveillance. We referred to international data sources to check WHO recommendations on the vaccine composition in Western Asia, and information on circulating influenza lineages for Iran. WHO/FluNet database was used to provide data through its network Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) laboratories. The data included all registered cases of influenza like illness (ILI) from sentinel sites of healthcare centers in Iran from January 2010 to December 2019, which were reported in the WHO databases weekly and FluNet web-based tool (http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/flunet/en). ILI cases are defined as «a person with fever, cough and acute respiratory syndrome». During the study period, 113,319 cases of ILI were registered at FluNet databases from Iran. To determine the compatibility between the vaccine strains based on type B virus used in Iran with the circulating strains, the category of the circulating influenza viruses (Victoria or Yamagata) was appointed. According to that none of the recorded samples in the FluNet database were classified after extracting the protein sequence records in GISAID, sequence alignment with vaccine strain and drawing of a phylogenetic tree was performed. After that, categories of the registered circulating strains were evaluated for matching with the vaccine strains.

Sequence data

In this cross-sectional and review study, a total of 43 HA protein sequences of influenza B viruses which were circulated during the study time in Iran with the following criteria were downloaded from the GenBank affiliated with National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/>) and Global Initiative on Sharing Influenza Data (<http://platform.gisaid.org/>): I) Registered with Full length, II) Registered during 2010 to 2020.

The FASTA format of downloaded HA protein sequences were extracted for software analyzing.

Multiple sequence alignment and phylogenetic analysis

Reference sequences for HA protein of Influenza A virus sequences were obtained from GenBank and the Epi-Flu database (Global Initiative on Sharing All Influenza Data; GISAID, <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/submitting-data-to-epiflutm/>).

Multiple sequence alignments were constructed using BioEdit version 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>) with the default settings.

Phylogenetic trees were constructed by the neighbor-joining method inferred on the basis of the best fit protein

substitution model for the HA protein as implemented in MEGA 7.0. The reliability of the tree was evaluated by the analysis of 1,000 bootstrap replicates and bootstrap values of > 70% were considered significant. Designated clades were chosen based on the clustering patterns in the HA phylogeny.

Analyses

Epidemiological profiles of the positive cases (week of occurrence, year, and type of infection) are presented during the time of the study. Data of Iranian isolates, reference strain, and vaccine strain were collected and consolidated based on the influenza database. For the alignment of protein sequences and strain mismatch with vaccine strains MEGA7 software was used (<https://www.megasoftware.net/>).

Ethics

The study procedures were reviewed by relevant ethical committees affiliated with Shiraz University of Medical Sciences and approved by following Ethical code: IR.SUMS.REC.1398.1173.

Results

Strain data of Influenza viruses

Epidemiological monitoring systems

A total of 113,319 samples pattern of Iranian as ILI cases were extracted from the WHO/FluNet database on influenza A and B virus subtypes (Epidemiological, 2010 to 2019). Among these, 19,333 samples were reported influenza-positive which 3,908 (3,908/19,333, 20.21%) samples were categorized as influenza B virus (lineage is not determined). Based on the assessments it is determined that the flu (A and B) outbreaks were mainly during 2011, 2015 and 2019 years (Fig. 1, Blackline). This is while in the year 2011, influenza B was more frequent.

Phylogenic tree

Due to being unable to determine the subtype of influenza B virus in the FluNet database, in order to identify the lineage of circulating the influenza B virus in Iran during study years, the phylogenic tree was built based on 43 samples registered in GISAID database. According to this and based on the HA protein sequence of samples, subtypes of influenza type B lineage were determined. Among these samples, 33 (76.74%) were identified as influenza B virus strain/lineage Yamagata and 10 (23.25%) – as influenza B virus strain/lineage Victoria (Table 1). Based on the phylogenic tree, it was found that the most prevalent circulating influenza B viruses during study years belonged to the Yamagata lineage (Fig. 2). In following assessments, although Influenza type B/Victoria lineage had been more predominant in the year 2016, it was circulating with the Yamagata lineage for most of the years. Following the phylogenetic analysis of the HA protein sequences, one and two genetic clades of influenza B/Victoria lineage and influenza B/Yamagata lineage were identified respectively. According to reports, influenza B virus was rarely circulating in Iran in 2011, but not reported in the GISAID database (Table 1).

In order to check the genetic changes of circulating influenza B virus strains, B/Brisbane/60/2008, B/Massachusetts/02/2012, and B/Phuket/3073/2013 strains as the eastern Mediterranean recommended reference strains by WHO, were used.

Victoria Lineage specifications

Based on the phylogenic tree, all the detected Victoria strains in Iran were categorized in clade 1A, except the years 2011, 2013, 2014, and 2018 when no Victoria lineage was detected. In comparing circulating Victoria strains with B/Brisbane/60/2008 vaccine strains, a series of amino acid changes were observed in the HA1 region. In all Victoria isolate sequences collected in the years 2010 and 2012 amino acid substitution I146V have been detected, whereas in the 2015–2017

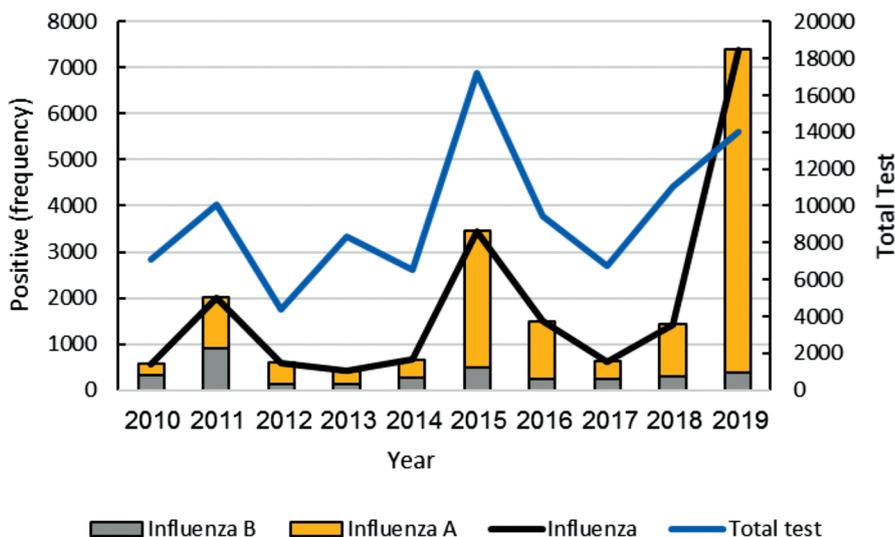


Fig. 1. Annual flu (A and B) circulation extracted from the WHO/FluNet database in the last decade.

and 2019 isolates amino acid substitutions I117V and N129D have been identified. The additional amino acid substitutions, V87A and I175V, have been observed in 2015 and 2017 isolates. In isolates of the year 2019, 3 amino acid deletions have been seen in positions D164, K165, and N166, while additional substitution N129D have been seen in sequence as well.

Yamagata Lineage specifications

Based on the assessment of the phylogenetic tree for influenza B/Yamagata lineage, all isolates were categorized into clades 2 and 3. According to the analysis of results, the most circulating isolates of influenza B/Yamagata lineage belonged to clade 3. This is while two of the most isolates in the year 2012; B/Ghom/28441/2012, and B/Yazd/9800/2012, have been categorized in clade 2. To compare circulating Yamagata strains and assess the changes, two vaccine strains, B/Massachusetts/02/2012 (2013) for clade 2 and B/Phuket/3073/2013 (2015 and 2019) for clade 3 were used. These two strains have several differences in their HA nucleotide sequence as following: K48R, A108P, N116K, S150I, N166Y, A182T, N203S, G230D, K299E, and E313K. In comparing Yamagata circulating isolates sequences in clade 2 with reference strain, isolates of the year 2012 showed amino acid substitutions in D196N, T121S, and G141R regions.

All Iranian isolates from 2013 onwards were mostly placed in the Yamagata lineage. b/Ghom/2844/2012 and b/Yazd/9800/2012 strains were classified in clade 2. The

exclusive mutation in these strains was D196N, in addition, amino acid substitutions G141R and T121S were observed in Ghom strain and Yazd strain, respectively. Mutations of isolates compared to vaccine strains are shown on the phylogenetic tree. The most prevalent mutations in Iranian strains of Yamagata lineage were X198T, L172Q, and M251V.

The phylogenetic tree was generated for HA protein sequence by the neighbor-joining method with 1,000 bootstrap replicates. Branch values > 70 are indicated. The scale bar represents approximately 1% protein change between close relatives.

Results of matching analysis with vaccine strains

Table 2 shows the matching of the predominant circulating strains of influenza B virus with administrated vaccines during the study time in Iran (2010–2019) based on WHO/FluNet reports.

Based on this analysis, high levels of mismatch (100 and 91.9%) are observed in the years 2016 and 2017 respectively.

Discussion

In the present work, we conducted a 10 year review to estimate the protection coverage of administered influenza vaccines in Iran. The current results showed a lot of mismatches (≥ 50%) between the years 2010–2017 in administrated vaccines and circulating influenza virus lineages.

Table 1. Frequency of influenza B virus lineage

	Years of Study										
	2010	2011 ^a	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Total
B/Victoria lineage	2 (50%)	–	2 (40%)	–	–	1 (20%)	2 (100%)	1 (9.09%)	–	2 (40%)	10
B/Yamagata lineage	2 (50%)	–	3 (60%)	4 (100%)	5 (100%)	4 (80%)	–	10 (90.9%)	2 (100%)	3 (60%)	33
Total influenza B	4	–	5	4	5	5	2	11	2	5	43

Note. ^aAccording to reports, influenza B virus was rarely circulating in Iran in 2011, but not reported in the GISAID database.

Table 2. Comparison of influenza B virus vaccine and circulating lineage, Iran, 2010–2019 (WHO / FluNet)

Reference	Predominant lineage (n; %) ^a	WHO Recommended Vaccine	% Mismatch ^b
2010	Victoria = Yamagata (2; 50)	B/Brisbane/60/2008 (B/Victoria lineage)	50%
2011 ^c	–	B/Brisbane/60/2008 (B/Victoria lineage)	–
2012	Yamagata (3; 60)	B/Wisconsin/1/2010 (B/Victoria lineage)	60%
2013	Yamagata (4; 100)	B/Massachusetts/2/2013 (B/Yamagata lineage)	0
2014	Yamagata (5; 100)	B/Massachusetts/2/2013 (B/Yamagata lineage)	0
2015	Yamagata (4; 80)	B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage)	20%
2016	Victoria (2; 100)	B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage)	100%
2017	Yamagata (10; 90.9)	B/Brisbane/60/2008 (B/Victoria lineage)	91.9%
2018	Yamagata (2; 100)	B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage) B/Colorado/06/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage)	–
2019	Yamagata (3; 60)	B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage) B/Colorado/06/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage)	–

Note. ^aThe percentage are representative of the dominant lineage which are estimated by the total number of samples positive for influenza B virus as the denominator; ^b% Mismatch = 100% – % Circulating B lineage match with vaccine; ^cinfluenza B virus was rarely circulating in Iran in 2011, and not reported in the GISAID database.

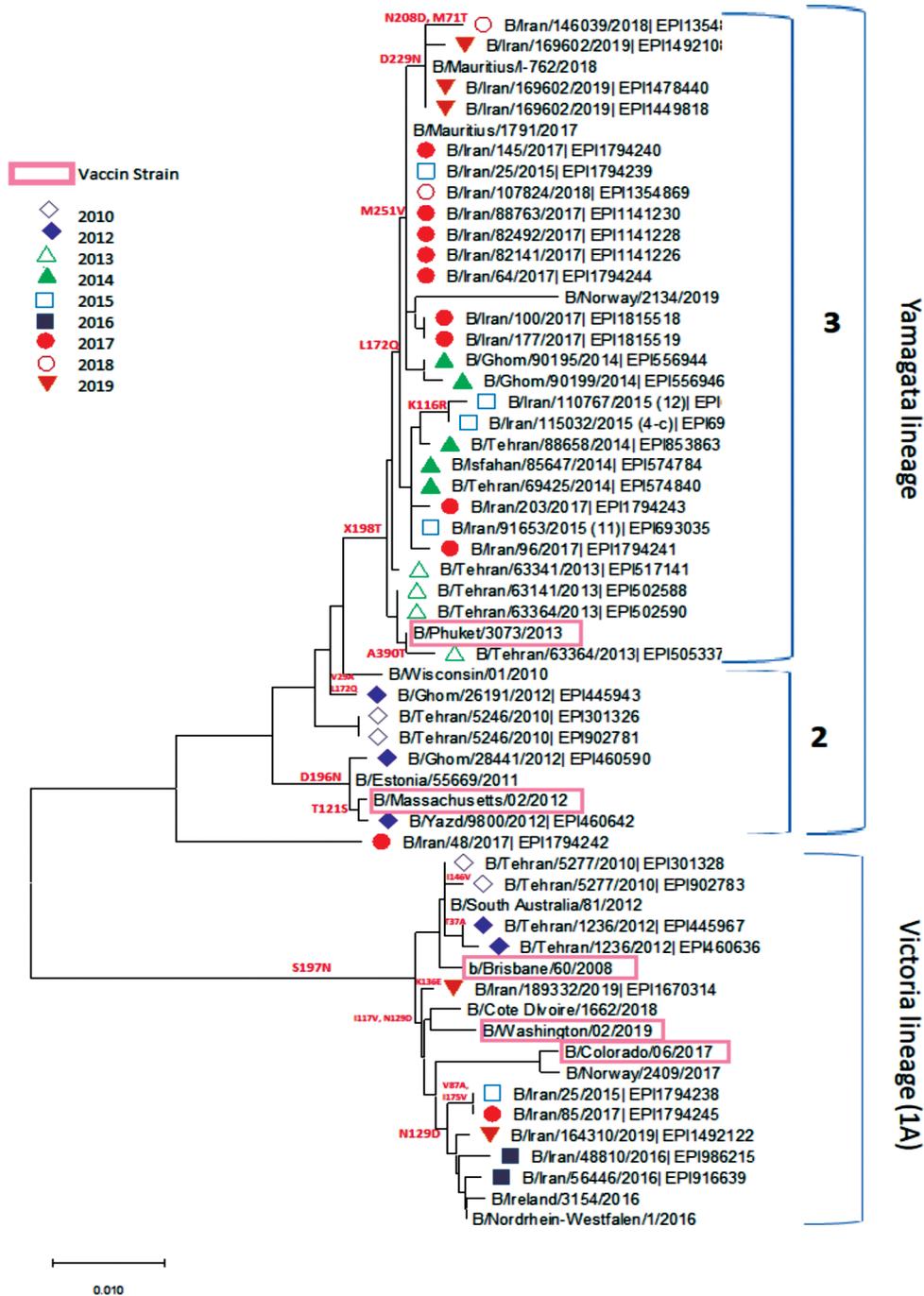


Fig. 2. Cladogram of influenza B virus isolated during the study time.

As we know the genome of influenza A and B viruses are segmented and each contains 8 gene segments. Influenza A viruses based on the antigenic properties of their surface glycoproteins are further divided into 16 hemagglutinin (H1–16) and 9 neuraminidase (N1–9) subtypes [10]. Two influenza A subtypes (H1N1 and H3N2) and two antigenically distinct lineages of influenza B viruses (Yamagata and Victoria) are currently co-circulating in humans [3]. Based on the WHO recommendation, vaccination is the best method for the prevention and control

of influenza. Vaccination can diminish illness and reduce the severity of influenza infection, particularly in at-risk groups including young children and the elderly [11]. To be focused on the effectiveness of licensed influenza vaccines, current seasonal vaccines required annual evaluation and reformulation to keep the rate with the antigenic drift of circulating strains. To select the vaccine composition for the upcoming season, a routine evaluation is carried out twice a year; once, usually in February, to select strains for the Northern hemisphere vaccine, and again,

typically in September, for the Southern hemisphere [12]. To accommodate the steps of vaccine production, this process is performed 7 to 8 months in advance of the «flu season» [3]. Although the selection of vaccine strains to include in annual influenza vaccines is based on global surveillance of circulating influenza viruses, but according to various evidence there are a lot mismatches in several countries [13–15]. This may be due to the following reasons: I.) Impossibility to study the annual circulating strains, II.) Negligence to perform diagnostic tests in a timely manner, III.) Lack of attention and trust of WHO influenza collaboration centers in test results, IV.) Lack of an accurate registry system and correct information on the success rate of vaccination. The seasonal patterns described in the current study in Iran further support a proposed influenza vaccination schedule during October and November. Assessment of the recorded global results shows that a change in the relative predominance of the two influenza B lineages is essentially observed every two/three years [16, 17]. In some systematic reviews it has been shown that both influenza B virus lineages are co-circulating in different years [8]. Lack of knowledge about the circulating influenza strains in some countries makes it impossible for health organizations to prepare and purchase the appropriate vaccine for injection during the flu season outbreak. This also means that despite the high vaccination coverage rate, vaccine does not provide adequate safety coverage in the target population. One of the important threats in vaccine incompatibility with the circulating strains in a country is often a widespread epidemic. In addition to the causes mentioned in the occurrence of mismatch in the administered vaccine is the emergence of viruses with novel antigenic properties. An example of this was the 2009 pandemic (A(H1N1)pdm09), which the difficulty in producing and distributing a proper vaccine in a short timeframe caused the second wave of the pandemic [18, 19]. In this review, we aimed to summarize the available evidence based on influenza B disease patterns in Iran as well as the evidence in the global health ministry databases. Following that, we tried to find the mismatches between vaccine types and circulating strains of the influenza B virus in the time-span of a decade. Due to the analysis of our study results, it has been shown that both influenza B virus lineages (B/Yamagata and B/Victoria) have been co-circulating in most years in the influenza season. Similar to the results of our study, phylogenetic analysis of influenza B viruses circulating in Italy over the entire study period confirmed the co-circulation of both lineages during each season and revealed a mixed circulation of distinct evolutionary viral variants with different matching levels to the vaccine strains. In particular, a gradual drift was observed in both lineages and further clades along with subclades were identified in each lineage [20]. Meanwhile, in the year 2011 no influenza B was reported, and in the year 2016, only Victoria strain had been reported for 3 consecutive years. Based on analysis of limited recorded information, although a lineage switch occurred each year, the B/Yamagata strain was the most prevalent circulating strain in Iran, according to the reports that

have shown it being the only common strain for many years. Furthermore, this date indicates a high degree of mismatch between the vaccine and the predominant circulating strain (91.9–100%) in 2016–2017, and a partial mismatches during the other influenza seasons.

Based on different experiences, selection of the influenza type B virus lineage is considered critical in determining the effectiveness of vaccination programs [21]. Unfortunately, improper prediction of the predominant circulating B lineage, often leads to inaccuracies and causes a mismatch between the administered vaccine and the circulating influenza B virus strain. In previous experiences, it was a concern that mismatches occur due to the absence of cross-protection between antigenically distinct influenza B viruses, which can result in lower vaccine effectiveness, leading to more influenza cases [22, 23]. This burden of the influenza infection will increase the influenza-related medical resources utilization and costs. Due to the importance of this point, it has been found that the degree of vaccine compliance with the circulating influenza B virus during the flu season is effective in vaccination programs [24]. Although high vaccination coverage levels have been reached in target groups in Iran, little is known about the effectiveness of vaccination programs, and data on the burden of influenza disease are limited as well, which is most likely due to a lack of reporting. In the current study, based on WHO/FluNet registered data, moderate levels of influenza B burden (13.77–54.67%), except for 2019 (4.99%) were observed over the first nine years of study time. This displacement of influenza B circulation could potentially be because of the COVID-19 (SARS-CoV-2) pandemic in the year 2019. In 2019, the use of personal protective equipment such as masks and the presence of strict quarantine conditions in almost all countries greatly reduced the prevalence of respiratory viral infection such as influenza, especially the influenza B virus [25]. According to the results of the present study, in most years of research (70%), there is a mismatch between the influenza B virus circulating strains and the administered vaccine strains. Due to the time of influenza B outbreak in Iran (From December to the end of March) and the existence of numerous research capacities in universities and research centers of the country (based on the numerous published articles), unfortunately, limited results of annually circulated strains (present only in a few large cities) have been recorded in international database systems such as WHO/FluNet from Iran. Given the vastness of Iran and hostile sanctions, this has led to different parts of the country not having access to the necessary facilities and equipment for sampling and inspection of circulating isolates in due time. Also, the limitation of diagnostic facilities, even in the major centers of the country, has in turn, limited the possibility to perform multiple tests and repeat the confirmation. Failure to register the circulating virus information in a timely manner will result in a lack of timely action in preparing appropriate vaccinations and a lack of complete safety coverage in the country. In addition to creating an epidemic in the country, this could also be a threat of the

disease spreading through the whole region. Given that the unpredictability of influenza B lineage circulation during the years causes the mismatch in influenza season with vaccine strain, the disease burden (in terms of clinical cases, hospitalizations, and health care resource utilization) and the societal burden can be considerable. Also, it is estimated to have cost health care providers and society well over several billion. In addition, international threats of an outbreak could add to the scale of the problem. Considering the above-mentioned cases, and the problem of non-compliance in many other countries including Taiwan and Brazil [26, 27] it is worth mentioning that in addition to the problems raised, some cases can be implemented and reduced with the planning and support of related organizations.

Conclusion

Considering the non-prescription of quadrivalent vaccines due to the lack of access and double the financial burden on the health system before 2018 in Iran and the need to justify the change of consumed vaccines and the prescription of quadrivalent vaccines in high-risk groups such as people with weak immune systems, health care workers, pregnant women, the elderly, and children multiply the need for quadrivalent vaccines due to the incompatibility of the vaccines used.

Also, influenza B viruses can circulate during a pandemic, allowing for the re-emergence of old lineages due to reassortment between different strains. As a result, there is a need to improve laboratory-based influenza surveillance in the world and help improve other developing countries such as Iran as the largest country in the Middle East region. Another important point in influenza vaccination is that the existing influenza B vaccine is limited in that it does not provide cross-protection between two distinct strains of influenza B virus, and as a result, vaccine efficacy is reduced when the introduced vaccine strain is mismatched with the circulating epidemic strain. This calls for an intensive, extensive and focused study of the changes in the circulating virus globally.

Recommendation

There were some restrictions such as limited confirmed data in our study. Only protein sequences registered in GISAID, were included in the study and analyzed by the phylogenetic tree as the confirmed lineage. This could underestimate the real proportion of circulating viruses and the true incidence of influenza infections in the population. Nevertheless, we can assume that these results would largely reflect the circulation of the two main influenza B virus lineages in Iran.

REFERENCES

- Chen H., Park S.G., Choi N., Moon J.I., Dang H., Das A., et al. SERS imaging-based aptasensor for ultrasensitive and reproducible detection of influenza virus A. *Biosens. Bioelectron.* 2020; 167: 112496. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112496>
- Tavakoli F., Moattari A., Shamsi Shahr Abadi M., Kadivar M.R., Khodadad N., Pirbonyeh N., et al. Antigenic variation of the haemagglutinin gene of the influenza A (H1N1) pdm09 virus circulating in Shiraz, February-April 2013. *Iran. J. Immunol.* 2015; 12(3): 198–208.
- Houser K., Subbarao K. Influenza vaccines: challenges and solutions. *Cell Host Microbe.* 2015; 17(3): 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.02.012>
- WHO. Influenza (Seasonal). Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
- Kim H., Webster R.G., Webby R.J. Influenza virus: dealing with a drifting and shifting pathogen. *Viral Immunol.* 2018; 31(2):174–83. <https://doi.org/10.1089/vim.2017.0141>
- CDC. 2021-2022 U.S. Flu Season: Preliminary In-Season Burden Estimates. Available at: <https://www.cdc.gov/flu/about/burden/2021-2022.htm#2021-burden-est>
- Gaglani M., Vasudevan A., Raiyani C., Murthy K., Chen W., Reis M., et al. Effectiveness of trivalent and quadrivalent inactivated vaccines against influenza B in the United States, 2011-2012 to 2016-2017. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 72(7): 1147–57. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa102>
- Paul Glezen W., Schmier J.K., Kuehn C.M., Ryan K.J., Oxford J. The burden of influenza B: a structured literature review. *Am. J. Public Health.* 2013; 103(3): e43-51. <https://doi.org/10.2105/ajph.2012.301137>
- Rota P.A., Wallis T.R., Harmon M.W., Rota J.S., Kendal A.P., Nerome K. Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *Virology.* 1990; 175(1): 59–68. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90186-u](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90186-u)
- McAuley J.L., Gilbertson B.P., Trifkovic S., Brown L.E., McKimm-Breschkin J.L. Influenza virus neuraminidase structure and functions. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 39. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00039>
- Flannery B., Clippard J., Zimmerman R.K., Nowalk M.P., Jackson M.L., Jackson L.A., et al. Early estimates of seasonal influenza vaccine effectiveness – United States, January 2015. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(1): 10–5.
- Monto A.S., Petrie J.G. Improving influenza vaccine effectiveness: ways to begin solving the problem. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 69(10): 1824–6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz416>
- Tricco A.C., Chit A., Soobiah C., Hallett D., Meier G., Chen M.H., et al. Comparing influenza vaccine efficacy against mismatched and matched strains: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med.* 2013; 11: 153. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-153>
- Flannery B., Kondor R.J.G., Chung J.R., Gaglani M., Reis M., Zimmerman R.K., et al. Spread of antigenically drifted influenza A (H3N2) viruses and vaccine effectiveness in the United States during the 2018–2019 season. *J. Infect. Dis.* 2020; 221(1): 8–15. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz543>
- Paules C.I., Fauci A.S. Influenza vaccines: good, but we can do better. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(Suppl. 1): S1–4. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy633>
- Update: influenza activity – United States, 2010–11 season, and composition of the 2011–12 influenza vaccine. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2011; 60(21): 705–12.
- Jackson D., Elderfield R.A., Barclay W.S. Molecular studies of influenza B virus in the reverse genetics era. *J. Gen. Virol.* 2011; 92(Pt. 1): 1–17. <https://doi.org/10.1099/vir.0.026187-0>
- Lee Y., Kim K., Ko E., Lee Y., Kim M., Kwon Y., et al. New vaccines against influenza virus. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2014; 3(1): 12–28. <https://doi.org/10.7774/cevr.2014.3.1.12>
- Use of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2009. *MMWR Recomm. Rep.* 2009; 58(RR-10): 1–8.
- Puzelli S., Di Martino A., Facchini M., Fabiani C., Calzoletti L., Di Mario G., et al. Co-circulation of the two influenza B lineages during 13 consecutive influenza surveillance seasons in Italy, 2004–2017. *BMC Infect. Dis.* 2019; 19(1): 990. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4621-z>
- WHO Expert Committee on Biological Standardization: Fifty-fourth Report; 2005.
- Skowronski D., Masaro C., Kwindt T., Mak A., Petric M., Li Y., et al. Estimating vaccine effectiveness against laboratory-confirmed influenza using a sentinel physician network: results from the 2005–2006 season of dual A and B vaccine mismatch in Canada. *Vaccine.* 2007; 25(15): 2842–51. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.10.002>

23. Carrat F., Flahault A. Influenza vaccine: the challenge of antigenic drift. *Vaccine*. 2007; 25(39-40): 6852–62. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.07.027>
24. Luna E.J.A., Gattás V.L., Campos S.R.S.L.C. Effectiveness of the Brazilian influenza vaccination policy: a systematic review. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 2014; 23(3): 559–75. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742014000300020>
25. Olsen S.J., Azziz-Baumgartner E., Budd A.P., Brammer L., Sullivan S., Pineda R.F., et al. Decreased influenza activity during the COVID-19 pandemic – United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *Am. J. Transplant.* 2020; 20(12): 3681–5. <https://doi.org/10.1111/ajt.16381>
26. Barros E.N., Cintra O., Rossetto E., Freitas L., Colindres R. Patterns of influenza B circulation in Brazil and its relevance to seasonal vaccine composition. *Braz. J. Infect. Dis.* 2016; 20(1): 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.09.009>
27. Okoli G.N., Racovitan F., Righolt C.H., Mahmud S.M. Variations in seasonal influenza vaccine effectiveness due to study characteristics: a systematic review and meta-analysis of test-negative design studies. *Open Forum Infect. Dis.* 2020; 7(7): ofaa177. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa177>

Information about the authors:

Amir Emami  – Ph.D (Microbiology), Department of Microbiology, Burn & Wound Healing Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. E-mail: emami.microbia@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4510-1820>

Neda Pirbonyeh – Department of Microbiology, Burn & Wound Healing Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. E-mail: P.pirbonyeh@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-5700-3913>

Afagh Moattari – Ph.D. (Bacteriology and Virology), Professor of Medical Virology, Shiraz University of Medical Sciences: Shiraz, Iran. E-mail: moattaria@yahoo.com, moattaria@sums.ac.ir; <https://orcid.org/0000-0003-4394-9622>

Fatemeh Javanmardi – Ph.D of Biostatistics, Department of Biostatistics, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences: Shiraz, Iran. E-mail: javanmardi.biostat@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-8841-0861>

Contribution: Amir Emami – supervisor and designed the study; Neda Pirbonyeh and Afagh Moattari – the original draft; Fatemeh Javanmardi – the statistical analysis.

Received 17 August 2023

Accepted 14 October 2023

Published 31 October 2023

Информация об авторах:

Amir Emami  – кандидат наук (микробиология), Научно-исследовательский центр травматологии, кафедра микробиологии, Ширазский медицинский университет, Шираз, Иран. E-mail: emami.microbia@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4510-1820>

Neda Pirbonyeh – Научно-исследовательский центр травматологии, кафедра микробиологии, Ширазский медицинский университет, Шираз, Иран. E-mail: P.pirbonyeh@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-5700-3913>

Afagh Moattari – кандидат наук (бактериология и вирусология), профессор медицинской вирусологии, Ширазский медицинский университет, Шираз, Иран. E-mail: moattaria@sums.ac.ir, moattaria@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-4394-9622>

Fatemeh Javanmardi – кандидат наук (биостатистика), Кафедра биостатистики, Ширазский университет медицинских наук, Шираз, Иран. E-mail: javanmardi.biostat@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-8841-0861>

Участие авторов: Amir Emami – разработка дизайна исследования и руководство исследованием; Neda Pirbonyeh и Afagh Moattari – написание статьи; Fatemeh Javanmardi – проведение статистического анализа.

Поступила 17.08.2023

Принята в печать 14.10.2023

Опубликована 31.10.2023

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-188>

© ДОГАДОВ Д.И., КЮРЕГЯН К.К., ГОНЧАРЕНКО А.М., МИНОСЯН А.А., КОЧКОНЯН А.А., КАРЛСЕН А.А., ВЫШЕМИРСКИЙ О.И., КАРАЛ-ОГЛЫ Д.Д., МИХАЙЛОВ М.И., 2023

Маркеры антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек, поступивших из мест естественного обитания (Танзания)

Догадов Д.И.¹✉, Кюрегян К.К.^{2,3}, Гончаренко А.М.¹, Миносян А.А.¹, Кочконян А.А.¹, Карлсен А.А.^{2,3}, Вышемирский О.И.¹, Карал-оглы Д.Д.¹, Михайлов М.И.^{2,3}¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, 354376, г. Сочи, Россия;²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, Россия;³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Приматы, наряду с грызунами и летучими мышами, наиболее часто оказываются резервуаром и источником зоонозных вирусных инфекций. Кроме того, у диких обезьян и у приматов, содержащихся в неволе, выявляют различные человеческие вирусы. Изучение вирусного разнообразия у обезьян необходимо для ограничения потенциальной передачи вирусов между людьми и приматами разных видов.

Целью работы являлось изучение маркеров антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек вервет (*Chlorocebus pygerythrus*), поступивших из мест естественного обитания (Танзания).

Материалы и методы. Образцы фекалий ($n = 56$) и сывороток крови ($n = 75$), полученные от 75 животных на 10-е и 23-и сутки соответственно после поступления в приматологический центр, были протестированы на наличие маркеров антропонозных вирусных инфекций (вирус Эбола, вирус Марбург, вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), вирус гепатита С (ВГС), вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1,2), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), вирус парагриппа 1-го и 3-го типов, кишечный аденовирус, ротавирус) с применением методов иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции.

Результаты и обсуждение. У обследованных животных были обнаружены маркеры 6 из 11 исследованных вирусов. Среди маркеров герпесвирусных инфекций IgG-антитела к ВПГ-1,2 (15,9%) и ЦМВ (15,9%) выявлялись в 2 раза реже, чем к ВЭБ (31,8%). Среди маркеров респираторных вирусных инфекций были обнаружены IgG-антитела к вирусу парагриппа 1-го типа (6,8%). Среди маркеров кишечных вирусных инфекций у 14,3% животных был обнаружен антиген ротавируса, а у 94% – ДНК аденовируса обезьян. Маркеры геморрагических лихорадок Эбола, Марбург, ЛХМ, ВГС, а также парагриппа 3-го типа выявлены не были.

Заключение. При импорте обезьян из разных регионов мира необходима система скрининга вирусных инфекций с учетом эпидемиологической обстановки как в стране импорта, так и в стране экспорта.

Ключевые слова: зеленые мартышки; геморрагические лихорадки; вирусные гепатиты; герпесвирусные инфекции; респираторные вирусные инфекции; кишечные вирусные инфекции; ИФА; ПЦР

Для цитирования: Догадов Д.И., Кюрегян К.К., Гончаренко А.М., Миносян А.А., Кочконян А.А., Карлсен А.А., Вышемирский О.И., Карал-оглы Д.Д., Михайлов М.И. Маркеры антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек, поступивших из мест естественного обитания (Танзания). *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 394–403. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-188> EDN: <https://elibrary.ru/awajxs>

Финансирование. Результаты получены при выполнении проекта Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2021-1065 от 28 сентября 2021 г. о предоставлении гранта на реализацию отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации (протокол № 135 от 20.05.2014).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-188>

Markers of antroponotic viral infections in vervet monkeys arrived from their natural habitat (Tanzania)

Dmitriy I. Dogadov¹✉, Karen K. Kyuregyan^{2,3}, Aleksandra M. Goncharenko¹, Albert A. Minosyan¹, Armen A. Kochkonyan¹, Anastasia A. Karlsen^{2,3}, Oleg I. Vyshemirsky¹, Dzhina D. Karal-Ogly¹, Mikhail I. Mikhailov^{2,3}

¹Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, 354376, Sochi, Russia;

²Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 111123, Moscow, Russia;

³I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Various human viruses have been identified in wild monkeys and in captive primates. Cases of transmission of viruses from wild monkeys to humans and vice versa are known.

The aim of this study was to identify markers of antroponotic viral infections in vervet monkeys (*Chlorocebus pygerythrus*) arrived from their natural habitat (Tanzania).

Materials and methods. Fecal samples ($n = 56$) and blood serum samples ($n = 75$) obtained from 75 animals, respectively, on days 10 and 23 after admission to the primate center, were tested for the markers of antroponotic viral infections (Ebola virus, Marburg virus, lymphocytic choriomeningitis, hepatitis C virus, herpes simplex virus (HSV), cytomegalovirus (CMV), Epstein–Barr virus (EBV), parainfluenza types 1 and 3, intestinal adenoviruses, rotaviruses) by enzyme immunoassay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR).

Results and discussion. Among the examined animals, markers of 6 out of 11 tested viral infections were identified. Detection rates of IgG antibodies to HSV-1,2 (15.9%) and CMV (15.9%) were two times as low as IgG antibodies to EBV (31.8%). Among the markers of respiratory viral infections, IgG antibodies to parainfluenza virus type 1 were found (6.8%). 14.3% of the animals had rotavirus antigen, and 94% had simian adenovirus DNA. Markers of hemorrhagic fevers Ebola, Marburg, LCM, hepatitis C, and type 3 parainfluenza were not detected.

Conclusion. When importing monkeys from different regions of the world, an expanded screening for viral infections is needed considering the epidemiological situation both in the country of importation and in the country of destination.

Keywords: *vervet monkeys; hemorrhagic fevers; viral hepatitis; herpesvirus infections; respiratory viral infections; intestinal viral infections; ELISA; PCR*

For citation: Dogadov D.I., Kyuregyan K.K., Goncharenko A.M., Minosyan A.A., Kochkonyan A.A., Karlsen A.A., Vyshemirsky O.I., Karal-Ogly D.D., Mikhailov M.I. Markers of antroponotic viral infections in vervet monkeys arrived from their natural habitat (Tanzania). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 394–403. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-188> EDN: <https://elibrary.ru/awajxs>

Funding source. The results were obtained during the implementation of the project of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under agreement No. 075-15-2021-1065 dated September 28, 2021 on the provision of a grant for the implementation of certain activities of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019–2027.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The authors confirm compliance with the institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). The study protocol was approved by the Ethics Committee of the organization. (Protocol No. 135 dated 25.05.2014)

Введение

Вирусные инфекции представляют собой потенциальную угрозу для здоровья популяций диких и лабораторных приматов, а также для персонала, осуществляющего уход за этими животными. Это особенно актуально для учреждений, в которых часто происходит оборот или перемещение животных, а также для заведений и территорий, где обезьян, поступивших из мест естественного обитания, вводят в колонии восприимчивых к инфекции животных [1].

Приматы, наряду с грызунами и летучими мышами, наиболее часто оказываются резервуаром и источ-

ником зоонозных вирусных инфекций по сравнению с другими группами млекопитающих [2]. Тесные эволюционные отношения между людьми и обезьянами являются причиной легкости межвидовой передачи различных патогенов [3]. Примером может служить человеческий коронавирус OC43, обнаруженный у диких шимпанзе в Кот-д'Ивуаре [4], а также SARS-CoV-2, выявленный у горилл в неволе после контакта с инфицированным, но бессимптомно болевшим сотрудником зоопарка Сан-Диего [5]. Кроме того, большое число вирусов человека, включая корона-, герпес-, рота- и энтеровирусы, вирусы, вызывающие

гепатит, кишечные аденовирусы, было обнаружены как у содержащихся в неволе, так и диких обезьян [6–13]. Многие значимые для человечества патогены, такие как вирус желтой лихорадки, вирусы Зика, Денге и ВИЧ, возникли в результате зоонозной передачи от приматов [5, 14, 15]. И наоборот, источником некоторых вирусов, обнаруженных среди обезьян, таких как полиовирус, вирус кори, считается человеческая популяция [16–18].

Кроме того, вероятность передачи патогенов увеличивает организованное кормление обезьян в зоопарках и приматологических центрах мира, а также в дикой природе, являющееся одной из наиболее распространенных форм экотуризма. Примером может служить остров Бали, на котором более 700 тыс. туристов ежегодно посещают храмы, где обитают приматы. Так, было описано заражение пенистым вирусом обезьян туриста после контакта с приматами в храме [3].

На сегодняшний день статистические данные свидетельствуют о том, что в общей сложности 140 видов обезьян восприимчивы к инфицированию 186 ДНК- и РНК-содержащими вирусами, из которых около 70% также обнаруживаются у человека [5]. В нашей стране среди обезьян Сухумского приматологического центра были описаны спонтанные вирусные инфекции, патогенные для человека, такие как корь, полиомиелит, вирус гепатита А (ВГА), энцефаломиокардит, сезонная коронавирусная инфекция, а также геморрагическая лихорадка обезьян [19].

В последние десятилетия межвидовая передача вирусов между животными и людьми является основным источником возникновения инфекционных заболеваний и остается глобальной проблемой для общественного здравоохранения. Примером может служить пандемия, вызванная SARS-CoV-2, которая быстро распространилась по всему миру [5].

Таким образом, изучение вирусного разнообразия у обезьян необходимо для ограничения потенциальной передачи вирусов между человеком и разными видами приматов.

Ранее, в рамках карантинных мероприятий, на наличие маркеров энтеральных вирусных гепатитов и респираторных инфекций (вирус кори и аденовирус) нами были обследованы зеленые мартишки, поступившие в "НИИ Медицинской приматологии" в июне 2014 г. Среди обследованных животных были обнаружены маркеры ВГА-инфекции (анти-ВГА IgG – 63,1%, анти-ВГА IgM – 27,5%, Ag ВГА – 27,5%, РНК ВГА – 27,5%) и респираторной аденовирусной инфекции (анти-IgG – 14,8%, анти-IgM – 7,4%), а маркеры инфекции, вызванной вирусом гепатита Е (ВГЕ), и коревой инфекции выявлены не были [6, 10, 20].

Целью настоящей работы являлось дальнейшее, более расширенное определение серологических и молекулярно-генетических маркеров антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартишек вервет (*Chlorocebus pygerythrus*), поступивших из мест естественного обитания (Танзания).

Материалы и методы

В работе использовали сыворотки крови и фекальные образцы от 75 зеленых мартишек вервет (*Chlorocebus pygerythrus*), поступивших из мест естественного обитания (Танзания) в 2014 г. Фекальные образцы ($n = 56$) собирали на 10-е, а сыворотки крови ($n = 75$) – на 23-и сутки после поступления животных. Образцы фекалий и сывороток крови после сбора в 2014 г. хранили без оттаивания при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в нескольких аликвотах. Обследование на маркеры вирусных инфекций проводили как оперативно (кишечный аденовирус, вирусы Эбола, Марбург, лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), ротавирус), так и ретроспективно (вирус простого герпеса 1-го, 2-го типов (ВПГ-1,2), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), вирус парагриппа 1-го (PI-1) и 3-го (PI-3) типов, вирус гепатита С (ВГС)).

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации (протокол № 135 от 20.05.2014).

Антитела к ВГС (анти-ВГС), ВПГ-1,2 (анти-ВПГ-1,2), ЦМВ (анти-ЦМВ) и ВЭБ (анти-ВЭБ) определяли посредством иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих тест-систем «ИФА-АНТИ-НСV», «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-G», «ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G» и «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G» (НПО «Диагностические системы», Россия). Для детекции антител класса IgG к PI-1 и PI-3 (анти-PI-1 и анти-PI-3) применяли тест-системы «ИФА-Парагрипп-1-IgG» и «ИФА-Парагрипп-3-IgG» (ЗАО «ЭКОлаб», Россия).

Конъюгат к иммуноглобулинам человека из тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-G», «ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G» и «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G» и «ИФА-Парагрипп-1-IgG» сравнивали при тестировании панелей реактивных и нереактивных сывороток с конъюгатом к иммуноглобулинам обезьян «RABBIT ANTI-MONKEY IgG» (MERCK, США) в разведениях, в зависимости от использовавшегося теста, от 1 : 2500 до 1 : 200 тыс. Средние значения оптической плотности при длине волны 450 нм (OP_{450}), полученные с двумя конъюгатами, сравнивали с использованием U -критерия Манна–Уитни.

Антиген ротавируса группы А определяли в образцах фекалий с помощью коммерческой тест-системы «ИФА-Rota-Ag» (ЗАО «Вектор Бест», Россия).

Результаты ИФА учитывали на спектрофотометре ImmunoChem-2100 производства «Интермедика сервис» (США). Полученные данные выражали в единицах OP_{450} дополнительно для ВПГ OP_{450} выражали в титрах, а для ЦМВ – в МЕ/мл.

Выделение нуклеиновых кислот производили из 10% фекальных суспензий с использованием набора «РИБО-преп» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно инструкции производителя.

Определение ДНК аденовирусов в образцах фекальных экстрактов обезьян осуществляли методом

полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров к гексону наиболее важных с медицинской точки зрения аденовирусов человека групп А–F [21]. Учет результатов проводили методом электрофореза продуктов ПЦР с помощью набора комплекта реагентов для электрофоретической детекции (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Ампликоны очищали из агарозного геля с помощью набора QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия) и выполняли секвенирование по Сэнгеру с помощью автоматизированного генетического анализатора ABI3500 (ABI, США) с набором реагентов Big Dye Terminator v. 3.1 в соответствии с протоколом производителя.

Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали друг с другом и соответствующими участками полных или частичных геномных последовательностей аденовирусов, доступных в GenBank на момент проведения исследования, с помощью программы MEGA X. Для подтверждения специфичности и определения вида аденовируса проводили филогенетический анализ с использованием классификации ICTV текущего года для рода *Mastadenovirus*. Для построения филогенетического дерева использовали метод ML (максимальное правдоподобие), реализованный в пакете PhyML 3.3. Визуализацию полученного дерева осуществляли с помощью FigTree v1.4.4.

Определение генетического материала возбудителей геморрагических лихорадок Эбола, Марбург и вируса ЛХМ выполняли в образцах сыворотки крови методом ПЦР в ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» (Новосибирск) в рамках коммерческого исследования.

Полученные результаты подвергали статистической обработке по общепринятым методикам с использованием программы статистической обработки

данных GraphPad. Статистическая обработка данных включала: определение средних показателей величин, расчет 95% доверительного интервала (95% ДИ), выявление достоверности различий средних значений показателей в сравниваемых группах с использованием критерия Фишера (различия оценивали как достоверные при вероятности 95% – $p \leq 0,05$).

Результаты

Сравнительный анализ показателей оптической плотности при выявлении антител к вирусам при использовании в ИФА-тест-системах двух типов конъюгатов

Для сравнения эффективности выявления антител к антропонозным вирусам в зависимости от применяемых в ИФА вторичных антител на первом этапе исследования проводили параллельное тестирование с применением конъюгата к иммуноглобулинам человека из коммерческого набора и конъюгата к иммуноглобулинам обезьян. Для тестирования использовали панели сывороток крови обезьян, реактивных и нереактивных в соответствующих тест-системах с применением вторичных антител к иммуноглобулинам обезьян. Как видно из **табл. 1**, средние значения ОП₄₅₀ полученные при использовании конъюгатов к иммуноглобулинам человека из коммерческих тест-систем для выявления антител к герпесвирусам и PI-1 и конъюгатов к иммуноглобулинам обезьян, достоверно не отличались ($\geq 0,05$, критерий Манна–Уитни), что свидетельствует о взаимозаменяемости конъюгатов и возможности дальнейшего тестирования на данные маркеры с использованием конъюгатов из тест-систем. Исключение составили нереактивные по анти-ВЭБ-образцы, для которых средняя величина

Таблица 1. Сравнительный анализ средних значений оптической плотности при определении антител к герпесвирусам и вирусу парагриппа 1-го типа с использованием конъюгатов из коммерческих тест-систем и конъюгатов к иммуноглобулинам обезьян

Table 1. Comparative analysis of mean optical density values when detecting antibodies to herpes viruses and parainfluenza 1 virus using conjugates from commercial ELISA kits and anti-monkey secondary antibodies

Параметр Parameter	ВПГ-1,2 / HSV-1,2		ЦМВ / CMV		ВЭБ / EBV		PI-1 / PI-1	
	конъюгат тест-системы test system conjugate	конъюгат к Ig обезьян monkey Ig conjugate 1 : 50 000	конъюгат тест-системы test system conjugate	конъюгат к Ig обезьян monkey Ig conjugate 1 : 50 000	конъюгат тест-системы test system conjugate	конъюгат к Ig обезьян monkey Ig conjugate 1 : 200 000	конъюгат тест-системы test system conjugate	конъюгат к Ig обезьян monkey Ig conjugate 1 : 2500
Средние значения ОП ₄₅₀ для реактивных образцов ($n = 3$) Average OD ₄₅₀ values for reactive samples ($n = 3$)	1,722*	1,199*	1,257*	1,251*	1,835*	1,619*	1,331*	1,019*
Средние значения ОП ₄₅₀ для нереактивных образцов ($n = 3$) Average OD ₄₅₀ values for non-reactive samples ($n = 3$)	0,104*	0,146*	0,113*	0,150*	0,129**	0,481**	0,348*	0,331*

Примечание. Значения p получены при сравнении средних значений ОП₄₅₀ между двумя конъюгатами с использованием U-критерия Манна–Уитни; * – значения $p \geq 0,05$ при сравнительном анализе; ** – значения $p \leq 0,05$ при сравнительном анализе.

Note. P values were obtained by comparing the mean OD₄₅₀ values between the two conjugates using the Mann–Whitney U test; * – p values ≥ 0.05 for comparative analysis; ** – p values ≤ 0.05 for comparative analysis.

на ОП₄₅₀ при использовании конъюгата из тест-системы была достоверно ниже. Это говорит о лучшей работе конъюгата коммерческого набора «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G» по сравнению с конъюгатом «RABBIT ANTI-MONKEY IgG», который дает «фон» у нереактивных образцов даже при рабочем разведении 1 : 200 тыс.

Среди обследованных животных были обнаружены маркеры 6 из 11 исследованных вирусов (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ, PI-1, кишечный аденовирус, ротавирус). В табл. 2 представлены показатели частоты выявления маркеров антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек вервет, импортных животных из мест естественного обитания (Танзания).

Геморрагические лихорадки

С учетом того, что вирусные геморрагические лихорадки Марбург и Эбола эндемичны для африканского континента и представляют серьезную опасность для человека, а вирус ЛХМ, несмотря на бессимптомное носительство у своих естественных хозяев – грызунов, также может вызывать тяжелую вирусную геморрагическую лихорадку у обезьян и человека, импортные животные были исследованы на

наличие этих возбудителей. При исследовании образцов сыворотки крови с помощью ПЦР генетический материал этих возбудителей обнаружен не был.

Вирусные гепатиты

Несмотря на то что гепатит С является антропонозом, антитела к структурному (core) и неструктурным (NS3, NS4, NS5) белкам ВГС, а также антитела к белку core класса IgM ранее были обнаружены у низших обезьян рода макак, что говорит о возможном инфицировании их этим вирусом либо вирусом, антигенно схожим с ВГС [22]. В связи с этим импортные животные были нами протестированы на наличие анти-ВГС, однако положительных образцов выявлено не было.

Герпесвирусные инфекции

Среди герпесвирусных инфекций у обследованных нами зеленых мартышек анти-ВПГ-1,2-IgG и анти-ЦМВ-IgG были выявлены с одинаковой частотой – 15,9% (95% ДИ 7–30%). Следует отметить, что совпадение положительных результатов по обеим инфекциям наблюдалось только у одного животного. Также антитела класса IgG были обнаружены к ВЭБ у 14 (31,8%) из 44 зеленых мартышек (95%

Таблица 2. Выявление маркеров антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек

Table 2. Identification of markers of anthroponotic viral infections in vervet monkeys

№	Вирус Virus	Маркер Marker	Количество позитивных/исследованных образцов Number of positive samples/of examined samples	%	95% ДИ CI 95%
Геморрагические лихорадки / Hemorrhagic fevers					
1	Вирус Эбола Ebola virus	РНК RNA	0/75	0	–
2	Вирус Марбург Marburg virus	РНК RNA	0/75	0	–
3	Вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	РНК RNA	0/75	0	–
Вирусные гепатиты / Viral hepatitis					
4	Вирус гепатита С (ВГС) Hepatitis C virus (HCV)	Анти-ВГС* Anti-HCV*	0/44	0	–
Герпесвирусные инфекции / Herpesvirus infections					
5	Вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1,2) Herpes simplex virus types 1 and 2 (HSV-1,2)	Анти-ВПГ-1,2 IgG Anti-HSV-1,2 IgG	7/44	15,9	7–30
6	Цитомегаловирус (ЦМВ) Cytomegalovirus (CMV)	Анти-ЦМВ IgG Anti-CMV IgG	7/44	15,9	7–30
7	Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) Epstein–Barr virus (EBV)	Анти-ВЭБ IgG Anti-EBV IgG	14/44	31,8	19–48
Респираторные вирусные инфекции / Respiratory viral infections					
8	Вирус парагриппа 1-го типа (PI-1) Parainfluenza 1 virus (PI-1)	Анти-PI-1 IgG Anti-PI-1 IgG	3/44	6,8	1 – 19
9	Вирус парагриппа 3-го типа (PI-3) Parainfluenza 3 virus (PI-3)	Анти-PI-3 IgG Anti-PI-3 IgG	0/44	0	–
Кишечные вирусные инфекции / Intestinal viral infections					
10	Ротавирус группы А Group A rotavirus	Антиген Antigen	3/21	14,3	3 – 36
11	Аденовирусы групп А–F Group A–F adenovirus	ДНК DNA	31/33	94	79 – 99

Примечание. * – использовалась тест-система для выявления суммарных антител к ВГС.

Note. * – a test system was used to detect total antibodies to HCV.

ДИ 19–48%), что в 2 раза больше, чем к двум предыдущим вирусам, однако разница была недостоверной ($p > 0,05$). Титр анти-ВПГ-1,2 в положительных сыворотках варьировал от 1 : 100 до 1 : 400, а средняя геометрическая величина титра составила 1 : 149. Концентрация анти-ЦМВ варьировала от 0,41 до 3,63 МЕ/мл, средняя геометрическая величина концентрации антител составила 0,91 МЕ/мл, а средняя ОП₄₅₀ антител к ВЭБ – 0,953 (0,296–3,192 ОП₄₅₀).

Респираторные вирусные инфекции

Среди респираторных вирусов в сыворотках обезьян были выявлены антитела только к PI-1 – 6,8% (95% ДИ 1–19%; $n = 44$), а анти-PI-3 среди исследуемых животных обнаружены не были.

Кишечные вирусные инфекции

Среди кишечных вирусных инфекций у зеленых мартышек мы исследовали наличие антигена ротавирусов группы А и ДНК кишечных аденовирусов. Антиген ротавируса был обнаружен у 14,3% (95% ДИ 3–36%; $n = 21$) животных, тогда как ДНК аденовируса была выявлена у 94% (ДИ 79–99%; $n = 33$).

Специфичность детекции аденовирусной ДНК, выявленной с помощью праймеров к гексону аденовируса, была подтверждена секвенированием амплифицированных фрагментов величиной 300 нуклеотидов. Поиск BLAST в базе данных NSBI подтвердил принадлежность амплифицированных последовательностей к участку гексона генома аденовируса (позиции генома 17 124–17 424, нумерация по штамму KP329566 Simian mastadenovirus F). Выделенные последовательности были зарегистрированы в базе данных GenBank (OR283197–283205), филогенетический анализ позволил подтвердить принадлежность исследуемых образцов к роду *Simian mastadenovirus* (семейству *Adenoviridae*), но определить вид оказалось невозможно. В дальнейшем для более точной идентификации вируса будет использован набор праймеров, который позволит получить нуклеотидную последовательность всего гексона целиком. Следует отметить, что у животных с выявленной аденовирусной инфекцией не наблюдалось клинических признаков кишечной инфекции.

Обсуждение

Результаты сравнительного анализа средних значений оптической плотности в ИФА для реактивных и нереактивных образцов с использованием вторичных антител к иммуноглобулинам обезьян и конъюгатов из тест-систем, представляющих собой вторичные антитела к иммуноглобулинам человека, продемонстрировали их взаимозаменяемость и возможность применения конъюгата из тест-систем для скрининга сывороток обезьян на антитела к герпесвирусам и вирусу PI-1. Поэтому дальнейшее тестирование в рамках данного исследования проводилось с применением конъюгатов из соответствующих тест-систем по протоколам их производителя.

Среди обследованных животных были обнаружены маркеры 6 из 11 исследованных вирусов (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ, вирус PI-1, кишечный аденовирус, ротавирус).

Кишечные инфекции являются одной из основных причин заболеваемости и смертности людей и животных, в том числе и обезьян. И хотя диагностика желудочно-кишечных бактериальных и паразитарных патогенов и их этиологическая роль хорошо изучены, на сегодняшний день мало что известно об эпидемиологии, распространении и роли вирусных агентов в диарейных заболеваниях среди обезьян [13].

Филогенетический анализ последовательностей выделенного нами аденовируса рода *Simian mastadenovirus*, по-видимому, свидетельствует о циркуляции этой инфекции, не являющейся антропонозной, в естественной среде обитания животных. Как видно на рисунке, все последовательности значительно отличаются друг от друга, что свидетельствует о циркуляции данного аденовируса у зеленых мартышек в местах естественного обитания, а не заражении от единого источника на карантине после отлова или во время транспортировки. Следует также отметить, что высокая степень бессимптомного выявления аденовирусной инфекции у обезьян и доказательство зоонозной передачи требуют осторожности при обращении с приматами и их содержании [23, 24]. Кроме того, вакцинные векторы, полученные из аденовирусов обезьян, представляют собой альтернативу вакцинным векторам аденовируса человека [25]. Выявление антигена ротавируса у 3 животных, учитывая имеющиеся данные литературы [26, 27], свидетельствует о циркуляции ротавирусов группы А у обезьян в местах их отлова, так как заражение этим вирусом на карантине или во время транспортировки повлекло бы за собой вспышку среди большого числа животных, учитывая путь передачи инфекции, как это было описано ранее при вспышке ВГА у этих животных [6].

Вирусы герпеса обезьян эволюционно тесно связаны с герпесвирусами человека. ВПГ человека 1-го и 2-го типов эволюционно связаны с вирусом герпеса В макака (*Cercopithecine herpesvirus 1*), а также герпесом 2 зеленых мартышек (*Cercopithecine herpesvirus 2*); ЦМВ человека – с ЦМВ макака резусов (*Cercopithecine herpesvirus 8*); ВЭБ человека – с ВЭБ-подобным вирусом макака резусов (*Cercopithecine herpesvirus 15*) [28]. Некоторые из этих вирусов обезьян представляют опасность для человека. Среди них особо следует отметить герпесвирус 2 зеленых мартышек, называемый также SA-8 (Simian agent 8), первоначально выделенный от мартышек этого вида и тесно связанный с вирусом герпеса В макака, заражение которым также описано у человека, в том числе и с проявлением клинических симптомов [8].

Выявление антител к герпесвирусам класса IgG у обезьян на 23-й день после поступления, учитывая минимальный контакт животных с людьми при нахождении в карантинном изоляторе, позволяет предполагать заражение обезьянами герпесвирусами в естественной среде обитания. Это также подтверждается и данными литературы, в которых описана циркуляция герпесвирусов у обезьян разных видов в местах их

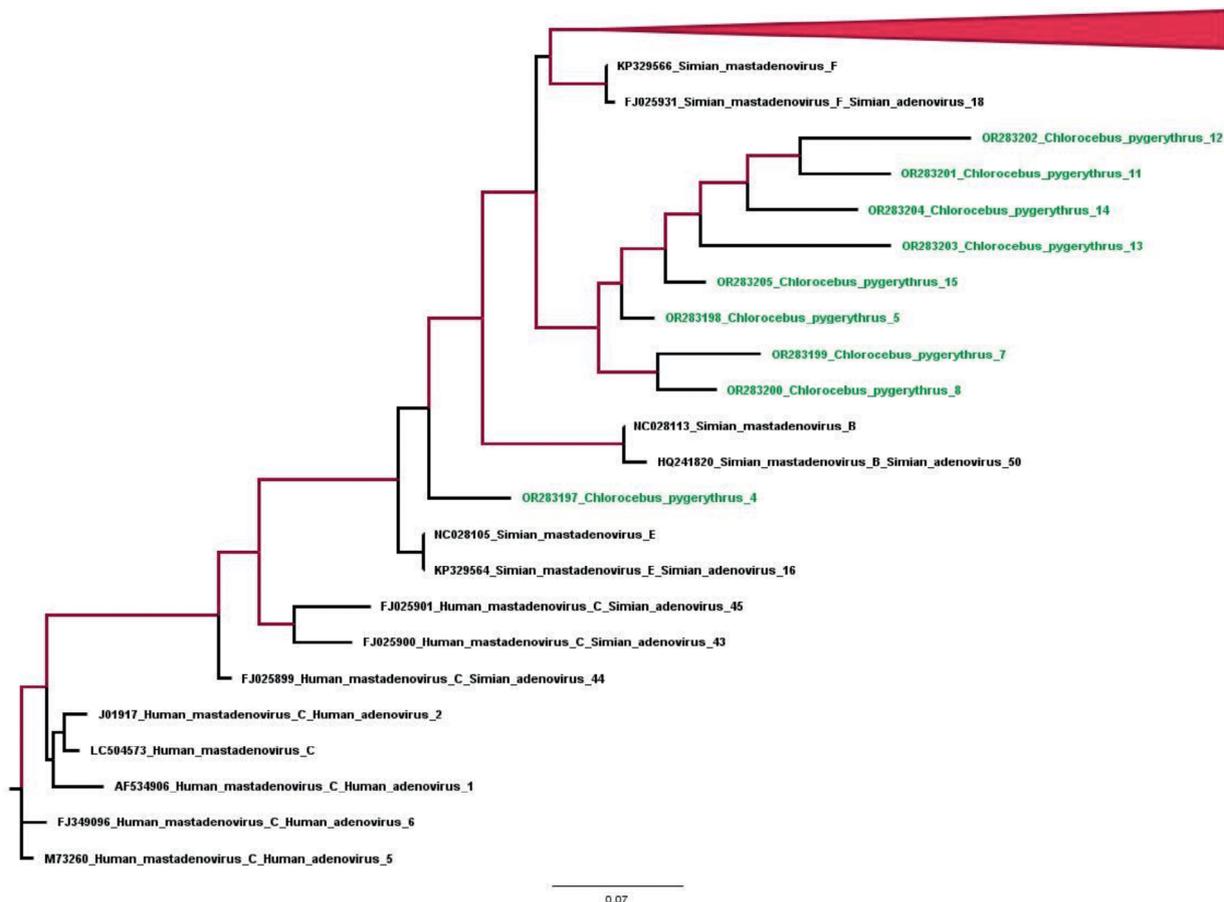


Рисунок. Филогенетическое дерево для нуклеотидных последовательностей участка генома аденовируса, кодирующего белок hexon величиной 281 нт (позиции генома 17 122–17 403, нумерация по штамму KP329566. Simian mastadenovirus F). Дерево построено методом максимального правдоподобия. Красным цветом выделены ветви с достоверностью более 90%.

Figure. Phylogenetic tree for the nucleotide sequences of the adenovirus genome region encoding the 281 nt hexon protein (genome positions 17 122–17 403, numbering according to strain KP329566. Simian mastadenovirus F). The tree was built using the maximum likelihood method. Branches with > 90% confidence are highlighted in red.

естественного обитания [8, 28]. Кроме того, средние титры и значения $ОП_{450}$ в реактивных по антителам к герпесвирусам сыворотках обезьян были на порядок меньше, чем средние значения оптической плотности, наблюдаемые в реактивных по антителам к этим вирусам сыворотках людей [29, 30]. Учитывая сопоставимую эффективность детекции иммуноглобулинов обезьян с помощью человеческого и обезьяньего конъюгатов, такие различия в значениях оптической плотности могут объясняться возможным антигенным перекрестом герпесвирусов обезьян с герпесвирусами человека при постановках ИФА, что также описано в литературе [8]. Таким образом, результаты выявления антител к герпесвирусам в сыворотках обезьян могут, по-видимому, трактоваться как выявление антител к обезьяньим гомологам герпесвирусов человека.

В связи с тем, что в питомнике ФГБНУ «НИИ Медицинской приматологии» у обезьян, рожденных после 1992 г., отсутствуют антитела к вирусу кори и существует возможность заноса инфекции с импортными животными, необходим контроль за содержанием обезьян в карантине с соблюдением его сроков

как в странах экспорта, так и в странах импорта. Кроме того, необходимо проведение тестирования импортных обезьян на наличие антител к вирусу кори класса M, свидетельствующих о недавнем инфицировании. Немаловажное значение также имеет скрининг маркеров PI-3, который причастен к патологии респираторного тракта у павианов [10, 31, 32], в отличие от PI-1, данных о причастности которого к патологии респираторного тракта обезьян в литературе мы не нашли. Тем не менее выявление анамнестических антител к данному вирусу у 3 животных, скорее всего, свидетельствует о его циркуляции среди обезьян в местах их отлова, так как заражение этим вирусом на карантине, так же как и в случае с кишечными вирусами, повлекло бы за собой вспышку среди большего числа животных.

Заключение

Полученные результаты указывают на необходимость периодического скрининга обезьян, содержащихся в приматологических центрах, на маркеры антропонозных и зоонозных инфекций, а также других эффективных мер по предотвращению потенциальной цир-

куляции и межвидовой передачи вирусов. Кроме того, выявление новых вирусов обезьян позволит разработать лучшую диагностику вирусных агентов, а также определить, какие из них связаны с патологией у обезьян.

На сегодняшний день во многих приматологических центрах мира при карантине импортированных животных тестируют, как правило, на туберкулез и латентные вирусные инфекции обезьян, которые необходимы для подтверждения SPF-статуса. Полученные нами результаты свидетельствуют, что в современных условиях необходима система расширенного скрининга вирусных инфекций с учетом эпидобстановки как в стране импорта, так и в стране экспорта.

Кроме того, необходима вакцинация сотрудников и обслуживающего персонала для обеспечения протективного иммунитета, а также для снижения вероятности передачи социально значимых инфекций обезьянам от человека и наоборот.

ЛИТЕРАТУРА

- Wachtman L., Mansfield K. Viral diseases of nonhuman primates. In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research. Volume 2: Diseases*. Elsevier; 2012: 1–104. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381366-4.00001-8>
- Olival K.J., Hosseini P.R., Zambrana-Torrel C., Ross N., Bogich T.L., Daszak P. Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature*. 2017; 546(7660): 646–50. <https://doi.org/10.1038/nature22975>
- Devaux C.A., Mediannikov O., Medkour H., Raoult D. Infectious disease risk across the growing human-non human primate interface: A review of the evidence. *Front. Public Health*. 2019; 7: 305. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00305>
- Patrono L.V., Samuni L., Corman V.M., Nourifar L., Røthmeier C., Wittig R.M., et al. Human coronavirus OC43 outbreak in wild chimpanzees, Côte d'Ivoire, 2016. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 118. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0121-2>
- Liu Z.J., Qian X.K., Hong M.H., Zhang J.L., Li D.Y., Wang T.H., et al. Global view on virus infection in non-human primates and implications for public health and wildlife conservation. *Zool. Res.* 2021; 42(5): 626–32. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2021.080>
- Dogadov D.I., Korzaya L.I., Karlsen A.A., Kyuregyan K.K. Molecular genetic identification of isolates of the hepatitis A virus (HAV) from monkeys at Adler Primate Center. *J. Med. Primatol.* 2018; 47(2): 87–92. <https://doi.org/10.1111/jmp.12333>
- Dogadov D.I., Korzaya L.I., Kyuregyan K.K., Karlsen A.A., Kichatova V.S., Potemkin I.A., et al. Natural infection of captive cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with hepatitis E virus genotype 4. *Arch. Virol.* 2019; 164(10): 2515–8. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04337-3>
- Eberle R., Jones-Engel L. Understanding primate herpesviruses. *J. Emerg. Dis. Virol.* 2017; 3(1): 1–11. <https://doi.org/10.16966/2473-1846.127>
- Корзая Л.И., Догадов Д.И., Гончаренко А.М., Лапин Б.А. Сравнительное изучение противокорревого иммунитета у взрослого населения города Сочи и обезьян Адлерского приматологического центра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2019; 96(2): 61–7. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-61-67> <https://elibrary.ru/azxijw>
- Корзая Л.И., Догадов Д.И., Гончаренко А.М., Карлсен А.А., Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Распространение маркёров респираторных вирусов человека среди обезьян адлерского приматологического центра. *Вопросы вирусологии*. 2022; 66(6): 425–33. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-77> <https://elibrary.ru/cbntjth>
- Molina C.V., Heinemann M.B., Kierulff C., Pissinatti A., da Silva T.F., de Freitas D.G., et al. Leptospira spp., rotavirus, norovirus, and hepatitis E virus surveillance in a wild invasive golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*; Kuhl, 1820) population from an urban park in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Am. J. Primatol.* 2019; 81(3): e22961. <https://doi.org/10.1002/ajp.22961>
- Smith G.C., Lester T.L., Heberling R.L., Kalter S.S. Coronavirus-like particles in nonhuman primate feces. *Arch. Virol.* 1982; 72(1-2): 105–11. <https://doi.org/10.1007/BF01314455>
- Wang Y., Tu X., Humphrey C., McClure H., Jiang X., Qin C., et al. Detection of viral agents in fecal specimens of monkeys with diarrhea. *J. Med. Primatol.* 2007; 36(2): 101–7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2006.00167.x>
- Gómez J.M., Nunn C.L., Verdú M. Centrality in primate-parasite networks reveals the potential for the transmission of emerging infectious diseases to humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(19): 7738–41. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220716110>
- Wolfe N.D., Dunavan C.P., Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007; 447(7142): 279–83. <https://doi.org/10.1038/nature05775>
- Albrecht P., Lorenz D., Klutch M.J., Vickers J.H., Ennis F.A. Fatal measles infection in marmosets pathogenesis and prophylaxis. *Infect. Immun.* 1980; 27(3): 969–78. <https://doi.org/10.1128/iai.27.3.969-978.1980>
- Choi Y.K., Simon M.A., Kim D.Y., Yoon B.I., Kwon S.W., Lee K.W., et al. Fatal measles virus infection in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Vet. Pathol.* 1999; 36(6): 594–600. <https://doi.org/10.1354/vp.36-6-594>
- Wallis J., Lee D.R. Primate conservation: The prevention of disease transmission. *Int. J. Primatol.* 1999; 20(6): 803–26. <https://doi.org/10.1023/A:1020879700286>
- Lapin B.A., Shevtsova Z.V. Monkey viral pathology in the Sukhum colony and modeling human viral infections. *J. Med. Primatol.* 2018; 47(4): 273–7. <https://doi.org/10.1111/jmp.12351>
- Догадов Д.И., Корзая Л.И., Кюрегян К.К., Карлсен А.А., Михайлов М.И. Маркёры вирусного гепатита Е (Hepereviridae, Orthoherevirus, Orthoherevirus A) у импортированных низших обезьян Старого Света. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(3): 182–8. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-34> <https://elibrary.ru/xvmkmz>
- Bányai K., Esona M.D., Liu A., Wang Y., Tu X., Jiang B. Molecular detection of novel adenoviruses in fecal specimens of captive monkeys with diarrhea in China. *Vet. Microbiol.* 2010; 142(3-4): 416–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.10.014>
- Корзая Л.И., Лапин Б.А., Кебурия В.В., Чикобава М.Г. Естественное инфицирование низших приматов вирусом гепатита С. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2002; 133(2): 178–81. <https://doi.org/10.1023/A:1015511208671> <https://elibrary.ru/lhjutx>
- Kosolatanapiwat N., Tongshoob J., Ampawong S., Reamtong O., Prasittichai L., Yindee M., et al. Simian adenoviruses: Molecular and serological survey in monkeys and humans in Thailand. *One Health*. 2022; 15: 100434. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100434>
- Roy S., Vandenberghe L.H., Kryazhimskiy S., Grant R., Calcedo R., Yuan X., et al. Isolation and characterization of adenoviruses persistently shed from the gastrointestinal tract of non-human primates. *PLoS Pathog.* 2009; 5(7): e1000503. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000503>
- Morris S.J., Sebastian S., Spencer A.J., Gilbert S.C. Simian adenoviruses as vaccine vectors. *Future Virol.* 2016; 11(9): 649–59. <https://doi.org/10.2217/fvl-2016-0070>
- Islam A., Hossain M.E., Haider N., Rostal M.K., Mukharjee S.K., Ferdouset J., et al. Molecular characterization of group A rotavirus from rhesus macaques (*Macaca mulatta*) at human-wildlife interfaces in Bangladesh. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67(2): 956–66. <https://doi.org/10.1111/tbed.13431>
- Otsyula M., Yee J., Suleman M., Tarara R., Martin J., Woods P., et al. Rotavirus infection in African, non-human primates. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1996; 90(6): 659–61. <https://doi.org/10.1080/00034983.1996.11813099>
- Simmons J.H. Herpesvirus infections of laboratory macaques. *J. Immunotoxicol.* 2010; 7(2): 102–13. <https://doi.org/10.3109/15476910903409843>
- Голева О.В., Мурина Е.А., Осипова З.А. Серологические маркеры реактивации вируса Эпштейна-Барр у детей с вирусными энцефалитами. *Журнал инфектологии*. 2015; 7(1): 70–4. <https://elibrary.ru/tqqpvh>
- Махнева Н.В., Сюч Н.И., Воронова В.В., Белецкая Л.В. Вирус Эпштейна-Барр и цитомегаловирус при аутоиммунной пузырчатке: действительно ли их роль случайна? Предварительное сообщение. *Альманах клинической медицины*. 2016; 44(1): 13–7. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-1-13-17> <https://elibrary.ru/vrgaaj>
- Churchill A.E. The isolation of parainfluenza 3 virus from fatal cases of pneumonia in erythrocebus patas monkeys. *Br. J. Exp. Pathol.* 1963; 44(5): 529–37.
- Sasaki M., Ishii A., Orba Y., Thomas Y., Hang'ombe B.M., Moonga L., et al. Human parainfluenza virus type 3 in wild nonhuman primates, Zambia. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(9): 1500–3. <https://doi.org/10.3201/eid1909.121404>

REFERENCES

- Wachtman L., Mansfield K. Viral diseases of nonhuman primates. In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research. Volume 2: Diseases*. Elsevier; 2012: 1–104. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381366-4.00001-8>
- Olival K.J., Hosseini P.R., Zambrana-Torrel C., Ross N., Bogich T.L., Daszak P. Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature*. 2017; 546(7660): 646–50. <https://doi.org/10.1038/nature22975>
- Devaux C.A., Mediannikov O., Medkour H., Raoult D. Infectious disease risk across the growing human-non human primate interface: A review of the evidence. *Front. Public Health*. 2019; 7: 305. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00305>
- Patrono L.V., Samuni L., Corman V.M., Nourifar L., R othemeier C., Wittig R.M., et al. Human coronavirus OC43 outbreak in wild chimpanzees, Côte d'Ivoire, 2016. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 118. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0121-2>
- Liu Z.J., Qian X.K., Hong M.H., Zhang J.L., Li D.Y., Wang T.H., et al. Global view on virus infection in non-human primates and implications for public health and wildlife conservation. *Zool. Res.* 2021; 42(5): 626–32. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2021.080>
- Dogadov D.I., Korzaya L.I., Karlsen A.A., Kyuregyan K.K. Molecular genetic identification of isolates of the hepatitis A virus (HAV) from monkeys at Adler Primate Center. *J. Med. Primatol.* 2018; 47(2): 87–92. <https://doi.org/10.1111/jmp.12333>
- Dogadov D.I., Korzaya L.I., Kyuregyan K.K., Karlsen A.A., Kichatova V.S., Potemkin I.A., et al. Natural infection of captive cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) with hepatitis E virus genotype 4. *Arch. Virol.* 2019; 164(10): 2515–8. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04337-3>
- Eberle R., Jones-Engel L. Understanding primate herpesviruses. *J. Emerg. Dis. Virol.* 2017; 3(1): 1–11. <https://doi.org/10.16966/2473-1846.127>
- Korzaya L.I., Dogadov D.I., Goncharenko A.M., Lapin B.A. Comparative study of anti-measles immunity in adult population of Sochi and laboratory primates of Adler primate center. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2019; 96(2): 61–7. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-61-67> <https://elibrary.ru/azxijw> (in Russian)
- Korzaya L.I., Dogadov D.I., Goncharenko A.M., Karlsen A.A., Kyuregyan K.K., Mikhaylov M.I. Prevalence of laboratory markers of human respiratory viruses in monkeys of Adler primate center. *Voprosy virusologii*. 2022; 66(6): 425–33. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-77> <https://elibrary.ru/cbntjh> (in Russian)
- Molina C.V., Heinemann M.B., Kierulff C., Pissinattiet A., da Silva T.F., de Freitas D.G., et al. Leptospira spp., rotavirus, norovirus, and hepatitis E virus surveillance in a wild invasive golden-headed lion tamarin (Leontopithecus chrysomelas; Kuhl, 1820) population from an urban park in Niter oi, Rio de Janeiro, Brazil. *Am. J. Primatol.* 2019; 81(3): e22961. <https://doi.org/10.1002/ajp.22961>
- Smith G.C., Lester T.L., Heberling R.L., Kalter S.S. Coronavirus-like particles in nonhuman primate feces. *Arch. Virol.* 1982; 72(1-2): 105–11. <https://doi.org/10.1007/BF01314455>
- Wang Y., Tu X., Humphrey C., McClure H., Jiang X., Qin C., et al. Detection of viral agents in fecal specimens of monkeys with diarrhea. *J. Med. Primatol.* 2007; 36(2): 101–7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2006.00167.x>
- Gómez J.M., Nunn C.L., Verdú M. Centrality in primate-parasite networks reveals the potential for the transmission of emerging infectious diseases to humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(19): 7738–41. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220716110>
- Wolfe N.D., Dunavan C.P., Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007; 447(7142): 279–83. <https://doi.org/10.1038/nature05775>
- Albrecht P., Lorenz D., Klutch M.J., Vickers J.H., Ennis F.A. Fatal measles infection in marmosets pathogenesis and prophylaxis. *Infect. Immun.* 1980; 27(3): 969–78. <https://doi.org/10.1128/iai.27.3.969-978.1980>
- Choi Y.K., Simon M.A., Kim D.Y., Yoon B.I., Kwon S.W., Lee K.W., et al. Fatal measles virus infection in Japanese macaques (Macaca fuscata). *Vet. Pathol.* 1999; 36(6): 594–600. <https://doi.org/10.1354/vp.36-6-594>
- Wallis J., Lee D.R. Primate conservation: The prevention of disease transmission. *Int. J. Primatol.* 1999; 20(6): 803–26. <https://doi.org/10.1023/A:1020879700286>
- Lapin B.A., Shevtsova Z.V. Monkey viral pathology in the Sukhum colony and modeling human viral infections. *J. Med. Primatol.* 2018; 47(4): 273–7. <https://doi.org/10.1111/jmp.12351>
- Dogadov D.I., Korzaya L.I., Kyuregyan K.K., Karlsen A.A., Mikhaylov M.I. Markers of viral hepatitis E (Hepeviridae, Orthohepevirus, Orthohepevirus A) in the imported Old World monkeys. *Voprosy virusologii*. 2021; 66(3): 182–8. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-34> <https://elibrary.ru/xvmkzm> (in Russian)
- B anyi K., Esona M.D., Liu A., Wang Y., Tu X., Jiang B. Molecular detection of novel adenoviruses in fecal specimens of captive monkeys with diarrhea in China. *Vet. Microbiol.* 2010; 142(3-4): 416–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.10.014>
- Korzaya L.I., Lapin B.A., Keburiya V.V., Chikobava M.G. Spontaneous infection of lower primates with hepatitis C virus. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2002; 133(2): 178–81. <https://doi.org/10.1023/A:1015511208671> <https://elibrary.ru/lhjuxt> (in Russian)
- Kosoltanapiwat N., Tongshoob J., Ampawong S., Reamtong O., Prasittichai L., Yindee M., et al. Simian adenoviruses: Molecular and serological survey in monkeys and humans in Thailand. *One Health*. 2022; 15: 100434. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100434>
- Roy S., Vandenberghe L.H., Kryazhimskiy S., Grant R., Calcedo R., Yuan X., et al. Isolation and characterization of adenoviruses persistently shed from the gastrointestinal tract of non-human primates. *PLoS Pathog.* 2009; 5(7): e1000503. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000503>
- Morris S.J., Sebastian S., Spencer A.J., Gilbert S.C. Simian adenoviruses as vaccine vectors. *Future Virol.* 2016; 11(9): 649–59. <https://doi.org/10.2217/fvl-2016-0070>
- Islam A., Hossain M.E., Haider N., Rostal M.K., Mukharjee S.K., Ferdouse J., et al. Molecular characterization of group A rotavirus from rhesus macaques (Macaca mulatta) at human–wildlife interfaces in Bangladesh. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67(2): 956–66. <https://doi.org/10.1111/tbed.13431>
- Otsyula M., Yee J., Suleman M., Tarara R., Martin J., Woods P., et al. Rotavirus infection in African, non-human primates. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1996; 90(6): 659–61. <https://doi.org/10.1080/00034983.1996.11813099>
- Simmons J.H. Herpesvirus infections of laboratory macaques. *J. Immunotoxicol.* 2010; 7(2): 102–13. <https://doi.org/10.3109/15476910903409843>
- Goleva O.V., Murina E.A., Osipova Z.A. Serologic markers of Epstein-Barr virus reactivation in the conditions of viral encephalitis in young patients. *Zhurnal infektologii*. 2015; 7(1): 70–4. <https://elibrary.ru/tqqpvh> (in Russian)
- Makhneva N.V., Syuch N.I., Voronova V.V., Beletskaya L.V. Epstein-Barr virus and cytomegalovirus: is their role in pemphigus really incidental? A preliminary report. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2016; 44(1): 13–7. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-1-13-17> <https://elibrary.ru/vrraaj> (in Russian)
- Churchill A.E. The isolation of parainfluenza 3 virus from fatal cases of pneumonia in erythrocebus patas monkeys. *Br. J. Exp. Pathol.* 1963; 44(5): 529–37.
- Sasaki M., Ishii A., Orba Y., Thomas Y., Hang'ombe B.M., Moonga L., et al. Human parainfluenza virus type 3 in wild nonhuman primates, Zambia. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(9): 1500–3. <https://doi.org/10.3201/eid1909.121404>

Информация об авторах:

Догадов Дмитрий Игоревич  – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционных вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: dima_loko86@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1596-0509>

Кюрегян Карен Каренович – д-р биол. наук, профессор РАН, заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: karen-kyuregyan@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3599-117X>

Гончаренко Александра Михайловна – научный сотрудник лаборатории инфекционных вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: morgan_123@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6979-9784>

Миносян Альберт Артурович – лаборант-исследователь лаборатории инфекционных вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: malbert97@bk.ru; <https://orcid.org/0009-0007-6459-1451>

Кочконян Армен Арменакович – лаборант-исследователь лаборатории инфекционных вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: kochkonyan7armen@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0003-1648-541X>

Карлсен Анастасия Андреевна – научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов ФБНУ «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: karlsen12@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6013-7768>

Вышемирский Олег Иванович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционных вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: olegvyshem@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Карал-оглы Джина Джинаровна – канд. биол. наук, заместитель директора по научной деятельности ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки России, Сочи, Россия. E-mail: karal_5@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3606-1668>

Михайлов Михаил Иванович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов ФБНУ «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: michmich2@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Участие авторов: Догадов Д.И. – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста, обзор публикаций на тему статьи, статистический анализ; Кюрегян К.К. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи, редактирование текста; Гончаренко А.М. – сбор материала, проведение ИФА; Миносян А.А. – проведение ИФА; Кочконян А.А. – проведение ПЦР; Карлсен А.А. – выполнение генетического анализа выделенных образцов аденовируса; Вышемирский О.И. – исследование сывороток крови на наличие РНК геморрагических лихорадок; Карал-оглы Д.Д. – редактирование текста, обзор публикаций на тему статьи; Михайлов М.И. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи.

Поступила 17.08.2023

Принята в печать 02.10.2023

Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Dmitriy I. Dogadov  – Ph.D. (Biol.), Researcher at the Laboratory of Infection Virology, Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: dima_loko86@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1596-0509>

Karen K. Kyuregyan – D.Sci. (Biol.), Professor of the RAS, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Hepatitis Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia, Leading Researcher at the Laboratory of Viral Hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: karenkyuregyan@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3599-117X>

Alexandra M. Goncharenko – Researcher at the Laboratory of Infection Virology, Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: dima_loko86@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6979-9784>

Albert A. Minosyan – research laboratory assistant at the Laboratory of Infection Virology, Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: malbert97@bk.ru; <https://orcid.org/0009-0007-6459-1451>

Armen A. Kochkonyan – research laboratory assistant at the Laboratory of Infection Virology, Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: kochkonyan7armen@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0003-1648-541X>

Oleg I. Vyshemirsky – Ph.D. (Biol.), Researcher at the Laboratory of Infection Virology, Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: olegvyshem@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Dzhina D. Karal-Ogly – Ph.D. (Biol.), deputy director for scientific activities of the Research Institute of Medical Primatology of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, Russia. E-mail: karal_5@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3606-1668>

Anastasiya A. Karlsen – Researcher at the Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Hepatitis Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia, Researcher at the Laboratory of Viral Hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: karlsen12@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6013-7768>

Mikhail I. Mikhailov – Ph.D. (Biol.), Professor, Academician of RAS, Chief Researcher at the Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Hepatitis Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: michmich2@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Contribution: Dogadov D.I. – writing of the text, making the figures, reviewing of publications, statistical analysis of the results; Kyuregyan K.K. – developing the research design, reviewing publications, editing of the text; Goncharenko A.M. – collection of material, ELISA staging; Minosyan A.A. – ELISA testing; Kochkonyan A.A. – PCR testing; Karlsen A.A. – performing genetic analysis of isolated adenovirus sequences; Vyshemirsky O.I. – examination of blood sera for the presence of RNA of hemorrhagic fevers; Karal-Ogly D.D. – editing of the text, reviewing publications; Mikhailov M.I. – developing the research design, reviewing publications.

Received 17 August 2023

Accepted 02 October 2023

Published 31 October 2023

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-189>

© ВЛАСЕНКО Н.В., ЧАНЫШЕВ М.Д., ДУБОДЕЛОВ Д.В., СЕРКОВ А.А., СОЛОПОВА Г.Г., САЦУК А.В., СНИЦАРЬ А.В., СЕМЕНЕНКО Т.А., КУЗИН С.Н., АКИМКИН В.Г., 2023

Распределение частот аллелей полиморфизмов генов человека, связанных с вирусными инфекциями

Власенко Н.В.¹✉, Чанышев М.Д.¹, Дубоделов Д.В.¹, Серков А.А.¹, Солопова Г.Г.², Сацук А.В.², Сницарь А.В.³, Семенов Т.А.⁴, Кузин С.Н.¹, Акимкин В.Г.¹¹ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, Россия;²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия;³ГБУЗ «Городская клиническая больница имени В.П. Демикова Департамента здравоохранения города Москвы», 109263, г. Москва, Россия;⁴ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Дизайн исследований, направленных на оценку связи какого-либо генетического фактора с изучаемым признаком (болезнью), в обязательном порядке предполагает сравнение соотношения генотипов или аллельной пропорции в исследуемой группе с данными контрольной группы. При проведении этапа определения соотношения генотипов изучаемых полиморфизмов группы сравнения появляется ряд проблем, которым посвящена настоящая работа.

Цель работы – научное обоснование целесообразности формирования отечественной информационной системы, включающей генетические данные условно здорового населения Российской Федерации с учетом его этнического многообразия.

Материалы и методы. Исследуемая группа, составляющая суммарно 1020 человек, генотипирована по ряду однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов человека. Проведена сравнительная характеристика распределения частот исследуемых полиморфизмов с представленными в международных базах в качестве референсных данными. Статистическую обработку выполняли с использованием стандартной четырехпольной таблицы и расчетом показателя χ^2 .

Результаты. Установлены полиморфизмы генов человека, для которых разница распределения аллелей между условно здоровой популяцией Московского региона и когортой, представленной в международном проекте Ensembl, является статистически значимой ($p < 0,05$). Частоты встречаемости ОНП rs4986790 гена *TLR4* статистически значимо отличаются от аналогичных показателей исследуемой группы как для популяции EUR ($p = 0,032$), так и для субпопуляции CEU ($p = 0,047$). Частоты аллелей полиморфизмов rs1800795 (*IL6*) и rs1800896 (*IL10*) для здоровой популяции Московского региона отличны от подгруппы CEU ($p = 0,030$ и $0,012$ соответственно). Частота ОНП rs2295119 (*HLA-DPA2*) статистически значимо отличается от популяции EUR ($p = 0,034$).

Заключение. Проведенный в работе анализ по сравнению распределения частот ОНП для условно здорового населения с аналогичными показателями, представленными в базах данных международного проекта Ensembl, подтверждает необходимость формирования отечественной информационной системы, содержащей как данные о встречаемости аллелей и генотипов ОНП среди условно здорового населения, так и в подгруппах с различными патологическими состояниями.

Ключевые слова: полиморфизм генов; ОНП; частота аллеля; Ensembl; информационные системы; выборка

Для цитирования: Власенко Н.В., Чанышев М.Д., Дубоделов Д.В., Серков А.А., Солопова Г.Г., Сацук А.В., Сницарь А.В., Семенов Т.А., Кузин С.Н., Акимкин В.Г. Распределение частот аллелей полиморфизмов генов человека, связанных с вирусными инфекциями. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 404–414. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-189> EDN: <https://elibrary.ru/bguoou>

Финансирование. Исследование выполнено за счет государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии участников исследования. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Протокол № 114 от 22.04.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-189>

Distribution of human gene polymorphisms allele frequencies associated with viral infections

Natalia V. Vlasenko¹✉, Mikhail D. Chanyshv¹, Dmitriy V. Dubodelov¹, Artem A. Serkov¹, Galina G. Solopova², Anastasija V. Sacuk², Artem V. Sniczar³, Tatiana A. Semenenko⁴, Stanislav N. Kuzin¹, Vasily G. Akimkin¹

¹Central Research Institute for Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Moscow, Russia

³Demikhov Moscow City Clinical Hospital, Moscow, Russia;

⁴N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The design of studies aimed at finding the association between the genetic factor and the studied feature (disease) involves a comparison of the ratio of genotypes or allelic proportions in the study group with those in the control group. At the stage of determining the ratio of genotypes of the studied polymorphisms in the reference group, researchers meet a number of problems, which are the subject of the present work.

Aim of the work is to provide scientific rationale for the feasibility of creating a national information system comprising genetic data of the relatively healthy population of Russia, incorporating its ethnic diversity.

Materials and methods. The study group, total 1020 people, was genotyped for a number of single nucleotide polymorphisms of human genes. A comparative characteristic of the frequency distribution of the studied polymorphisms with those presented in international databases as reference data was carried out using χ^2 index.

Results. The frequency of SNP rs4986790 of the *TLR4* gene significantly differs from the EUR population ($p = 0.032$) and the CEU subpopulation ($p = 0.047$). The allele frequencies of the rs1800795 (*IL6*) and rs1800896 (*IL10*) polymorphisms in the study population differ from the CEU subgroup ($p = 0.030$ and 0.012 , respectively). The frequency of SNP rs2295119 (*HLA-DPA2*) in the study group is significantly different from the EUR population ($p = 0.034$).

Conclusion. The analysis carried out in this work confirms the need to create a domestic information system containing data on the occurrence of SNP alleles and genotypes for a conditionally healthy population and in subgroups with various pathological conditions.

Keywords: genetic polymorphism; SNP; allele frequency; Ensembl; Information systems; sampling

For citation: Vlasenko N.V., Chanyshv M.D., Dubodelov D.V., Serkov A.A., Solopova G.G., Saczuk A.V., Sniczar A.V., Semenenko T.A., Kuzin S.N., Akimkin V.G. Distribution of human gene polymorphisms allele frequencies associated with viral infections. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 404–414.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-189> EDN: <https://elibrary.ru/bguooy>

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the study participants. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor (Protocol No. 114 dated April 22, 2021).

Введение

Особенностями современного мира являются свобода перемещения людей и усиливающееся смешивание популяций, что, по мнению специалистов, ведет к уменьшению генетического разнообразия в масштабах человеческой популяции. Так, L.C. Dunn и соавт. [1] высказали мнение, что сохранение современных тенденций в течение 2000 лет (примерно 75 поколений) может привести к формированию генетически единого населения Земли. Вместе с тем в настоящее время отмечается столь значительное генетическое разнообразие населения мира, что при проведении эпидемиологических исследований необходимо учитывать расовую, этническую и даже субэтническую принадлежность изучаемой популяции. На сегодняш-

ний день исследование как исторически-эволюционных, так и современных аспектов развития человека, его взаимодействия с природной средой является одним из приоритетов мировой науки. Важным направлением является поиск генетических детерминант, значимых в отношении определения особенностей персонифицированного подхода при оказании медицинской помощи пациентам с различными патологиями, особенно аутоиммунной и инфекционной природы. Полиэтиологичность многих заболеваний человека, сложность патогенетических механизмов и множественность вариантов течения (от острых форм с реконвалесценцией и бессимптомного течения до фульминантной формы, а также тяжелых хронических форм со злокачественным течением и др.), непредсказуемость исходов, различная восприимчи-

вость к возбудителям инфекционных заболеваний привели к формированию точки зрения о влиянии генетических факторов человека на формирование патологических процессов.

Так, в Постановлении Правительства РФ от 01.12.2004 № 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих» выделены значимые заболевания вирусной этиологии: туберкулез, вирусные гепатиты В и С, ВИЧ и инфекции, передаваемые половым путем. В отношении течения и исходов заболеваний, обусловленных данными инфекционными агентами, проводятся исследования по выявлению специфических молекулярно-генетических маркеров, которые характеризуются универсальностью в отношении как заболеваний аутоиммунной, так и инфекционной природы, что в значимой мере отражает актуальность подобного рода исследований.

Дизайн исследований, направленных на оценку связи какого-либо генетического фактора с изучаемым признаком (болезнью), в обязательном порядке предполагает сравнение соотношения генотипов или аллельной пропорции в исследуемой группе с данными контрольной группы. Главным требованием к контрольной группе является ее полное соответствие этнической структуре населения на территории выполнения работы. Как правило, контрольная группа формируется из лиц, представляющих индикаторные группы условно здорового населения (доноры крови и др.) с отсутствием изучаемого признака (болезни). Для оценки релевантности отобранной группы необходимо проведение первичной оценки распределения частот аллелей и генотипов среди условно здорового населения в сравнении с уже имеющимися данными, принятыми в качестве эталона.

В Российской Федерации, в соответствии со статистическими данными, по состоянию на 2022 г. проживает 146,9 млн человек. Население характеризуется чрезвычайным этническим разнообразием, представленным 180 народностями, проживающими на территории страны. С учетом столь высокого историко-географического, а также социокультурного разнообразия населения невозможно представить единообразие распределения генотипов среди всего населения, что подтверждается множеством работ по этногенетике, одним из родоначальников которой является отечественный исследователь Ю.Г. Рычков. В изданной под его редакцией монографии «Генофонд населения России и сопредельных стран» уделено пристальное внимание ряду белковых систем организма человека, их полиморфизму и на данном примере констатировано наличие существенных различий в соотношении выявляемых частот генотипов среди населения разных регионов РФ [2].

Ввиду существенного этнического разнообразия нашей страны, исследователи при проведении этапа определения соотношения генотипов изучаемых полиморфизмов группы сравнения сталкиваются с проблемами, актуализирующими вопрос формирования

информационной системы на территории Российской Федерации, включающей данные о распределении частот полиморфизмов генов человека в разных регионах страны.

Цель работы – научное обоснование целесообразности формирования отечественной информационной системы, включающей генетические данные условно здорового населения РФ с учетом его этнического многообразия.

Материалы и методы

Исследование выполнено в лаборатории вирусных гепатитов Центрального НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. С целью формирования представления о распределении частот аллелей ряда однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) была сформирована группа исследования, состоящая из условно здорового населения г. Москвы. Критериями отбора являлись: возраст старше 18 лет, отсутствие инфекционных заболеваний. В группу исследования были включены медицинские работники ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России ($n = 283$), доноры крови НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева ($n = 427$), медицинские работники ГБУЗ ГКБ им. В.П. Демихова ($n = 310$). С учетом того, что численность выборки повышает ее количественную репрезентативность, общее число участников составило 1020 человек [3]. Группа исследования была сформирована из медицинских работников и доноров крови Москвы с абсолютным преобладанием славянского населения. Существующие миграционные потоки касаются в основном других сфер, таких как строительство, коммунальное хозяйство и др. Однако в области медицины мигранты практически не представлены, ввиду чего отклонение выборки по этническому составу было минимально и не оказывало значимого влияния на получаемые результаты. От всех участников получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Протокол № 114 от 22.04.2021). Все образцы были протестированы при помощи иммуноферментного анализа на отсутствие маркеров инфекционных заболеваний, включающих социально значимые заболевания – вирусные гепатиты В, С, а также гепатиты А, Е, корь, полиомиелит и ветряную оспу. ДНК выделяли из периферической крови при помощи реагента «Гемолитик» и набора реагентов «Рибо-ПРЕП» («АмплиСенс», Россия). Для исследования был отобран следующий ряд ОНП генов: *TLR4* (rs4986790), *MERTK* (rs4374383), *IL1B* (rs1143634, rs1143627), *IL1RN* (rs4251961, rs419598), *IFNL4* (rs12979860, rs8099917), *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800896), *SERPINA1* (rs28929474), *HLADPA2* (rs2295119), *TULP1* (rs9380516). Представленные гены кодируют интерлейкины (IL), вовлекаемые в каскады биохимических реакций воспалительного процесса, возникающего при различных патологических состояниях, а также ряд полиморфизмов,

активно исследуемых в отношении как заболеваний инфекционной этиологии, так и аутоиммунной природы. Группа исследуемых полиморфизмов взята из проводимых нами ранее исследований по выявлению специфических маркеров, ассоциированных с вирусными гепатитами В и С. Методика определения полиморфизмов основана на детекции аллелей ОНП с использованием конформационно блокированных (LNA) аллель-специфичных зондов, детектируемых по двум или четырем каналам флуоресцентной детекции аналогично методике, использованной в ранее проведенной работе [4]. Верификацию полученных результатов проводили при помощи секвенирования по Сэнгеру. Сравнительную характеристику полученного распределения частот аллелей исследуемых ОНП выполняли с использованием баз данных международного проекта Ensembl [5] и интегрированных в него результатов «1000 Genomes Project». Производили сравнение с данными распределения частот аллельных вариантов для субпопуляций CEU (Utah Residents with Northern and Western European Ancestry), FIN (Finnish in Finland) и популяции EUR (European). Статистическую обработку данных осуществляли с использованием стандартной четырехпольной таблицы и расчетом показателя χ^2 .

Результаты

Сравнительный анализ распределения частот аллелей ОНП, полученного для изучаемой группы условно здорового населения, и данных, представленных в интернет-ресурсе Ensembl, показал следующие результаты: ОНП rs4374383 (*MERTK*), rs1143627 (*IL1B*), rs8099917 и rs12979860 (*IL-28*), rs28929474 (*SERPINA1*) не имели достоверно значимых отличий со сравниваемыми группами. Наиболее близкое распределение частот аллелей изучаемых полиморфизмов было зарегистрировано в отношении обобщенной популяции EUR. ОНП rs1143634 (*IL1B*), rs1800795 (*IL6*), rs1800896 (*IL10*), rs4251961 (*IL-1RN*) обладали более высоким сходством с субпопуляцией FIN, в свою очередь частоты полиморфизмов rs419598 (*IL1RN*), rs9380516 (*TULP1*) и rs2295119 (*HLA-DPA2*) наибольшим образом совпадали с частотами аллелей, характерных для подгруппы CEU. При этом следует отметить критические точки, для которых критерий достоверности различий между группами оказались статистически значимы ($p < 0,05$). Так, частоты встречаемости аллелей ОНП rs4986790 гена *TLR4* статистически значимо отличались от данных как для группирующей популяции EUR ($p = 0,032$), так и для субпопуляции CEU ($p = 0,047$). Полиморфизмы rs1800795 (*IL6*) и rs1800896 (*IL10*) также статистически значимо различались в отношении подгруппы CEU ($p = 0,030$ и $0,012$ соответственно). Также следует отметить, что полиморфизм rs2295119 (*HLADPA2*) имел статистически значимое частотное расхождение с обобщающей популяцией EUR и оказался близок к появлению такового в отношении субпопуляции FIN. Обобщающие данные представлены в **таблице**.

На **рисунке** показано распределение частот аллелей среди представителей 5 основных популяций мира, двух изучаемых в настоящей работе субпопуляций FIN и CEU, наиболее близких к населению европейской части РФ, и группы MOS, представляющей собственные данные, полученные для условно здорового населения Московского региона.

На рисунке видно, что каждый полиморфизм в той или иной степени имеет разное распределение аллельных вариантов среди основных популяций мира. Особый интерес вызывают статистически значимые различия с субпопуляциями. Альтернативная аллель полиморфизма rs2295119 (*HLADPA2*) (G/T) определяется в диапазоне от 12 до 26% среди популяций мира, что позволяет ученым в полной мере изучать роль этого генетического варианта в отношении разного рода патологических состояний. Частота встречаемости альтернативной аллели среди участников настоящего исследования для когорты MOS статистически значимо отличалась от аллельного распределения популяции EUR и близка к появлению статистически значимого различия в отношении субпопуляции FIN.

ОНП rs9380516 (*TULP1*) проявляли максимальную гетерогенность в популяции SAS (25%), однако этот полиморфизм является собой пример достаточно высокой усредненности распределения частот аллелей. В популяциях AMR и AFR имело место минимальное значение частоты встречаемости альтернативной аллели, составляющее 11%.

ОНП rs1800795 (*IL6*) отличался широким диапазоном распространенности альтернативной аллели: от 0% в популяции EAS до 52% в популяции CEU. В данном случае необходимо заострить внимание на том, что в соответствии с базами данных по распределению частот, популяция EAS, включающая представителей таких государств, как Китай, Вьетнам и Япония, абсолютно гомогенна по референсному аллелю (G). Однако встречается довольно значительное число работ, посвященных выявлению ассоциативной связи этого полиморфизма с патологиями разной этиологии среди азиатов [6–8]. В научной литературе опубликованы несколько метаанализов, основанных на результатах исследований, в том числе из регионов, население которого не обладает гетерогенностью аллелей по полиморфизму rs1800795 согласно порталу Ensembl [9, 10].

Количественной характеристикой сцепленности наследуемых признаков является коэффициент детерминации R^2 , значение которого варьирует от 0 до 1. Сцепленность генетических полиморфизмов напрямую зависит от их взаимного расположения на хромосоме, а также ряда иных факторов. Выявление групп сцепления при выполнении исследований по проблеме определения ассоциации ОНП с характеристиками патологического процесса является необходимой составляющей. Вместе с тем в существующих международных базах зафиксированы значительные различия относительно одних и тех же ОНП. В настоящем исследовании использовали несколько пар полиморфизмов, относящихся к одному гену. Так, пара доста-

Таблица. Сравнительная характеристика распределения частот аллелей полиморфизмов населения Московского региона с населением Европы

Table. Comparative characteristics of the distribution of polymorphism allele frequencies in the population of the Moscow region with the population of Europe

Индивидуальный номер ОНП (rs), ген SNP (rs) ID, gene	Аллель Allele	Условно здоровое население Conditionally healthy population		1000 GENOMES (EUR)			1000 GENOMES (CEU)			1000 GENOMES (FIN)		
		n, абс. n, abs.	частота аллеля allele frequency	n, абс. n, abs.	частота аллеля allele frequency	<i>p</i>	n, абс. n, abs.	частота аллеля allele frequency	<i>p</i>	n, абс. n, abs.	частота аллеля allele frequency	<i>p</i>
rs4986790 <i>TLR4</i>	A	871	0,92	949	0,943	0,032	190	0,96	0,047	175	0,884	0,114
	G	77	0,08	57	0,057		8	0,04		23	0,116	
rs4374383 <i>MERTK</i>	G	1020	0,6	627	0,623	0,261	130	0,657	0,133	131	0,662	0,101
	A	676	0,4	379	0,377		68	0,343		67	0,338	
rs1143634 <i>IL1B</i>	G	1550	0,76	757	0,752	0,594	152	0,768	0,841	151	0,763	0,967
	A	486	0,24	249	0,248		46	0,232		47	0,237	
rs1143627 <i>IL-1B</i>	A	1321	0,65	652	0,648	0,942	128	0,646	0,622	123	0,621	0,428
	G	713	0,35	354	0,352		70	0,354		75	0,379	
rs4251961 <i>IL1RN</i>	T	1356	0,67	639	0,635	0,086	123	0,621	0,197	140	0,707	0,249
	C	678	0,33	367	0,365		75	0,379		58	0,293	
rs419598 <i>IL1RN</i>	T	1380	0,7	712	0,708	0,743	139	0,702	0,998	138	0,697	0,885
	C	586	0,3	294	0,292		59	0,298		60	0,303	
rs12979860 <i>IFNL4</i>	C	309	0,67	695	0,691	0,465	144	0,727	0,309	145	0,732	0,246
	T	151	0,33	311	0,309		54	0,273		53	0,268	
rs8099917 <i>IFNL4</i>	T	264	0,82	837	0,832	0,772	168	0,848	0,486	172	0,869	0,186
	G	56	0,18	169	0,168		30	0,152		26	0,131	
rs1800795 <i>IL6</i>	G	963	0,57	588	0,584	0,343	96	0,485	0,030	108	0,545	0,585
	C	739	0,43	418	0,416		102	0,515		90	0,455	
rs1800896 <i>IL10</i>	T	1166	0,57	550	0,547	0,175	95	0,48	0,012	119	0,601	0,442
	C	870	0,43	456	0,453		103	0,52		79	0,399	
rs28929474 <i>SERPINA1</i>	C	453	0,98	989	0,983	0,814	192	0,97	0,203	193	0,975	0,378
	T	7	0,02	17	0,017		6	0,03		5	0,025	
rs9380516 <i>TULP1</i>	C	1599	0,79	814	0,809	0,154	163	0,823	0,231	164	0,828	0,173
	T	433	0,21	192	0,191		35	0,177		34	0,172	
rs2295119 <i>HLA-DPA2</i>	G	684	0,85	888	0,883	0,034	175	0,884	0,207	178	0,899	0,069
	T	122	0,15	118	0,117		23	0,116		20	0,101	

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия в сравниваемых группах.

Note. Statistically significant differences are shown in bold

точно хорошо изученных полиморфизмов (rs8099917 и rs12979860), относящихся к гену, кодирующему интерферон-λ3 (IFN-λ3), по данным интернет-ресурса LD pair tool [11], основанного на международной базе данных dbSNP, имеет широкий разброс значений коэффициента корреляции R² – от полного отсутствия взаимосвязи в популяции AFR (R² = 0,02) до незначительной взаимосвязи аллелей в популяции EUR (R² = 0,04) и почти 100%-ная корреляция в популяции EAS (R² = 0,98).

Пара ОНП rs419598 и rs4251961 гена-антагониста рецептора IL-1 (*IL1RN*) наследуются независимо друг

от друга во всех популяциях мира с наивысшими значениями: R² = 0,24 в популяции SAS и R² = 0,23 в популяции EUR. Распространенность альтернативной аллели ОНП rs4251961 значительно различается в популяциях. Так, минимальная встречаемость выявлена в популяции EAS и составляет 9%, напротив, в популяциях SAS и EUR наблюдается максимальная гетерогенность аллелей данных локусов со встречаемостью альтернативной аллели 38 и 36% соответственно. В отношении ОНП rs419598 диапазон встречаемости альтернативной аллели также широк и составляет от 3% в популяции AFR и до 33% – в AMR.

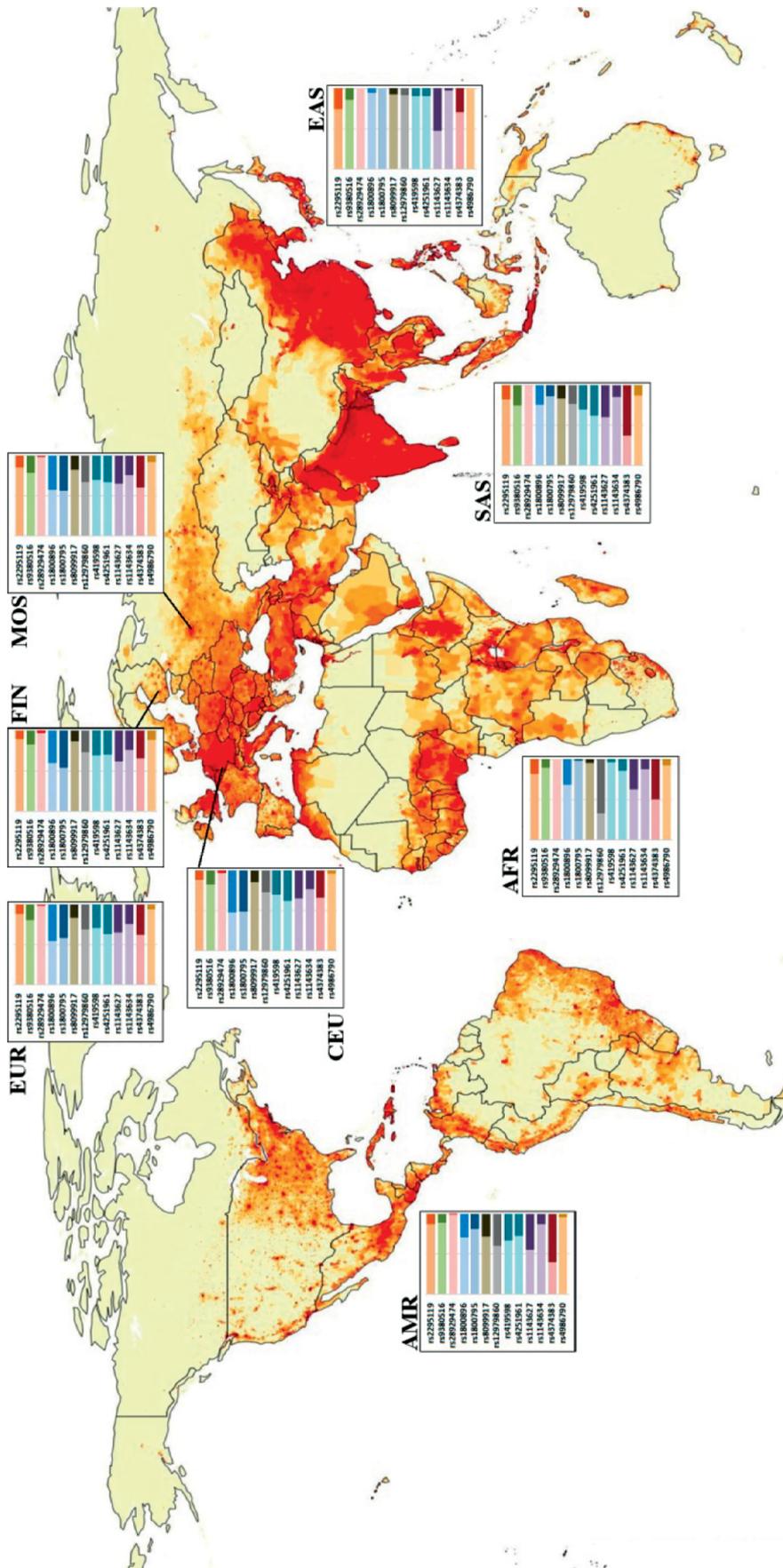


Рисунок. Соотношение частот аллелей ряда полиморфизмов среди основных популяций мира.

Данные представлены в международных базах данных ресурса Ensembl. MOS – собственные данные, полученные на территории Московского региона. Основа для изображения взята с ресурса <https://worldinmaps.com/world/population-and-settlement/population-density/>

Figure. The ratio of allele frequencies of a number of polymorphisms among the main populations of the world.

The data are presented in the Ensembl international database. MOS – own data obtained on the territory of the Moscow region. The basis for the image was taken from the resource <https://worldinmaps.com/world/population-and-settlement/population-density/>

В европейской популяции (EUR) альтернативная аллель наблюдается у 29% населения.

Полиморфизмы гена *IL1B* (rs1143627 и rs1143634) наследуются независимо друг от друга. Обобщающий для всех популяций коэффициент R^2 составляет 0,03. Альтернативная аллель ОНП rs1143634 выявляется с частотой от 2% в популяции EAS и до 25% в популяции EUR. Распределение частот аллелей полиморфизма rs1143627 также значительно дифференцировано среди населения мира, его нижняя граница составляет 35% популяции в EUR и достигает 52% в популяции EAS.

Пара ОНП rs8099917 и rs12979860 относится к гену, кодирующему IFN- λ 4. По данным интернет-ресурса LD pair tool, коэффициент R^2 для этой пары ОНП отличается широким разбросом значений: полное отсутствие взаимосвязи между двумя генетическими признаками в популяции AFR ($R^2 = 0,02$), незначительная статистическая взаимосвязь аллелей в случае популяции EUR ($R^2 = 0,04$) и практически 100%-ная корреляция в популяции EAS ($R^2 = 0,98$). Объяснить это явление в настоящий момент не представляется возможным, в связи с чем оно также требует дальнейших углубленных исследований.

Полиморфизм rs28929474 гена *SERPINA1* является примером практически 100%-ного генетического единообразия в населении мира. Согласно ресурсу Ensembl, вариативность данного локуса зафиксирована только в отношении популяций EUR и AMR, и на альтернативную аллель приходится всего 2 и 0,4% населения соответственно. При детализации популяции EUR на субпопуляции выявляется достаточно интересная закономерность: процент встречаемости альтернативной аллели в субпопуляции CEU составляет 3%, FIN – 2,5%, GBR – 1,1%, IBS – 1,9% и TSI – 0%, в то время как группа MOS имеет характерные для обобщающей популяции EUR 2%. Данный полиморфный локус характеризуется всего двумя возможными вариантами строения: гетерозиготой СТ и гомозиготой по цитозину (CC). Ген *SERPINA1* кодирует α -1-антитрипсин – ингибитор протеаз семейства серпинов. Полиморфный локус rs28929474, как правило, рассматривается в комбинации со вторым полиморфизмом гена *SERPINA1*, а именно rs17580. В настоящее время установлено, что наиболее распространенной причиной возникновения тяжелого дефицита α -1-антитрипсина и сопутствующих патологических состояний, таких как патологии легких, цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома, васкулит и панникулит, является наличие гомозиготного сочетания указанной пары полиморфизмов, а именно PiZZ-вариант [12].

Обсуждение

С развитием методов молекулярной биологии появились новые возможности по изучению строения генов, а следовательно, и выявлению вариантов строения кодирующих и регуляторных регионов генов человека. Важной исторической вехой является проект «Геном человека», ставший отправной точкой для

проведения многочисленных исследований, направленных на изучение роли генов в развитии и течении заболеваний и всего спектра других научных задач в сфере медицины. Также одним из наиболее успешных, масштабных и ранних проектов по генетике человека является программа 1000 геномов (1000 Genomes Project), завершившаяся в 2000-х гг. [13]. Благодаря этому проекту стал возможным анализ полученных в исследованиях данных на основании референсных последовательностей, представленных в сформированных базах данных. С развитием молекулярных методов исследований и повышением доступности секвенирования появился достаточно обширный ряд ресурсов по генетике человека, животных, насекомых и растений. Такие проекты, как ALPNA, HarMap и др., взаимно дополняют данные о генетическом разнообразии человеческой популяции, но, тем не менее, представленная в этих проектах информация не может в полной мере учесть все генетическое разнообразие населения мира. В настоящее время в международных базах данных представлены 5 основных популяций: африканская (AFR), американская (AMR), восточноазиатская (EAS), европейская (EUR) и южноазиатская (SAS). Каждая из них имеет дополнительное разделение на субпопуляции. Так, в европейской популяции представлены 5 субпопуляций: CEU (Utah Residents with Northern and Western European Ancestry), FIN (Finnish in Finland), GBR (British in England and Scotland), IBS (Iberian populations in Spain) и TSI (Toscani in Italy). Очевидно, что при проведении исследований на территориях, не отображенных в базах данных по генетике человека, например в Российской Федерации, ученые ориентируются на наиболее близкие субпопуляции. В текущем исследовании показано, что ряд ОНП, типированных в когорте населения европейской части Российской Федерации, наибольшим образом схож с субпопуляцией коренных жителей Финляндии (FIN), другие ОНП более близки по частотному распределению к усредненным показателям распределения для обобщенной популяции EUR. Такая ситуация несколько ограничивает применение имеющихся международных баз данных в исследованиях по изучению ассоциации ОНП с разного рода патологическими состояниями. Результаты исследований ряда отечественных научных групп [14] не представляется возможным объединить в единый информационный ресурс, агрегирующий данные так называемого «базового» распределения частот аллелей и генотипов ОНП среди населения РФ. При этом, с учетом современного уровня развития науки, создание такого рода ресурса является актуальной задачей.

Достоверность проводимых медико-биологических исследований – чрезвычайно важное условие при поиске генетических детерминант, влияющих на разные стороны патологического процесса: от его формирования, вариантов течения, осложнений и до исходов как инфекционных, так и соматических заболеваний. Вместе с тем в научных публикациях, посвященных этой проблеме, можно встретить про-

творечивые сведения, что обусловлено отсутствием релевантного референса. Сравнение распределения частот полиморфизмов, полученных в исследовании, с международными базами данных дополнительно осложняется малыми выборками, представленными по отдельным субпопуляциям. К примеру, в отношении ОНП rs1800795 (*IL6*) для субпопуляций CEU и FIN интернет-ресурс Ensembl имеет данные о распределении частот аллелей для 198 человек и генотипов на выборке, включающей 99 участников, что критически мало для сравнительной характеристики [15]. Анализ научной литературы по этому профилю показал, что значительная часть исследований выполнена на малых выборках как групп пациентов с изучаемым признаком, так и групп сравнения, которые представлены, как правило, численностью, не превышающей 150 человек [16–18]. В итоге указанная численность (150 человек) не может обеспечить достаточную точность для большого класса исследований. N. Fox и соавт. [19] разработали своего рода справочную таблицу с указанием величины допустимой ошибки и установлением необходимой численности выборки для получения заданной вероятности ошибки. Согласно предложенным критериям, при условии погрешности выборки, составляющей 5%, рекомендуемая численность групп должна составлять от 350 человек. Очевидно, что соблюдение требований к репрезентативности исследуемых и контрольных групп – необходимое условие выполнения научных работ по данной проблематике. Вместе с тем представляется чрезвычайно важным актуализировать проблему отсутствия в Российской Федерации собственной информационной системы, сформированной с учетом расового и этнического многообразия населения.

В настоящей работе приведены весьма показательные примеры существенной генетической неоднородности населения, даже в пределах весьма ограниченной территории, что при исследованиях в областях как клинической, так и профилактической медицины предопределяет необходимость учета того, что авторы назвали «генетическим портретом населения». Многие современные медико-биологические исследования направлены на развитие персонализированного подхода к пациенту в медицине и, как следствие, выявление генетических маркеров, указывающих на риски развития того и иного патологического состояния. Однако результаты подобных исследований также могут оказаться востребованными в качестве параметров мониторинга в системе эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями. При создании математических моделей, прогнозирующих уровень заболеваемости, смертность, частоту осложнений и другие параметры мониторинга, характеризующие эпидемический процесс, необходимо учитывать максимально возможное количество факторов, в том числе и генетическую детерминированность населения к перечисленным факторам. Однако такие расчеты возможны только при постоянном выявлении новых генетических детерминант и мониторинге распространен-

ности частот аллелей маркерных генов. Вместе с тем в настоящее время для разработки математических моделей в РФ совершенно недостаточно данных о распространенности аллелей маркерных генов человека, что требует активизации и увеличения масштабов научных исследований по данной проблематике.

Учитывая приведенные в текущей работе различия в распределении частот аллелей полиморфизмов генов человека, получение достоверно значимых результатов генетически-статистических исследований крайне затруднительно. Проводимые исследования на территории РФ, в соответствии с требованиями к отбору групп исследования, в том числе и группе сравнения, в конечном итоге могут быть незначимы в силу отсутствия подтверждения соответствия группы сравнения среднему показателю среди условно здорового населения по исследуемому признаку. Стоит отметить, что отобранная когорта в качестве группы сравнения может соответствовать частотам распределения аллелей, представленным в международных базах данных [20]. Однако увеличение выборки указывает на общепопуляционное несоответствие распределения частот аллелей полиморфизмов, что может свидетельствовать о случайном характере соответствия группы сравнения референсным данным. Заболевания инфекционной природы, например вирусные гепатиты, иммунодефицит, обусловленный ВИЧ и т.д., пристально изучаются научным сообществом. Различные исходы заболевания напрямую связаны с генетическими детерминантами, обуславливающими реакцию иммунной системы человека на возбудителя. Поиск специфических генетических маркеров, предсказывающих исход, реакцию организма на применяемое лечение, требует отбора групп с наличием изучаемого признака (группа исследования) и с отсутствием такового (группа сравнения). Несоответствие групп сравнения общепопуляционным данным может приводить к ложноположительным ассоциациям с состояниями, обусловленными вирусными агентами.

Заключение

Существующие выборки данных, несмотря на широкую географию их поступления, охватывающую практически всю планету, тем не менее являются фрагментарными, поскольку описывают характеристики локальных популяций. Свою роль играет и малое число участников исследований, составляющих эти популяции, что в конечном итоге не позволяет сформировать полноценное представление о распространенности вариантов генов, а также использовать такие данные для математического моделирования влияния ОНП на развитие эпидемических процессов в масштабах отдельной популяции. Для получения статистически значимых результатов целесообразным представляется составление общенациональной информационной системы, содержащей сведения о генетическом портрете населения регионов РФ, который будет общедоступным для научно-исследовательских организаций как для ее пополнения путем внесения новых данных, так и для

использования в конкретных прикладных математических моделях.

Проведенный в настоящей работе анализ по сравнению распределения частот ОНП для условно здорового населения с базами данных международного проекта Ensembl подтверждает необходимость формирования собственной информационной системы, содержащей как данные о встречаемости аллелей и генотипов ОНП среди условно здорового населения, так и в подгруппах с разными патологическими состояниями. Выявлены статистические различия распределения частот ряда полиморфизмов в исследуемой группе MOS в сравнении с референсными показателями международных баз данных, неточность установленного распределения частот аллелей среди крупных популяций, показанных на примере полиморфизма rs1800795 гена *IL6* и публикаций из Китая, в которых описаны многочисленные примеры несоответствия референсным значениям. Отсутствие полноценной информации по большинству регионов Российской Федерации указывает на необходимость развития отечественной базы данных, характеризующую генетическое разнообразие населения страны. Получение референсных данных, сформированных с учетом расового и этнического многообразия населения РФ, обеспечит достоверность результатов исследований по выявлению специфических маркеров, влияющих на развитие патологических состояний человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuper L., ed. *Race, Science and Society*. Paris: The Unesco Press; 1975.
2. Рычков Ю.Г., ред. *Генофонд и геогеография народонаселения. Том 1. Генофонд населения России и сопредельных стран*. СПб.: Наука; 2000.
3. Лихванцев В.В., Ядгаров М.Я., Берикашвили Л.Б., Каданцева К.К., Кузовлев А.Н. Определение объема выборки. *Анестезиология и реаниматология*. 2020; (6): 7786. <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology202006177>
4. Дрибноходова О.П., Корчагин В.И., Миронов К.О., Дунаева Е.А., Титков А.В., Аксельрод Э.В. и др. Сравнительный анализ частот аллельных вариантов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR в выборке пациентов, перенесших ишемический инсульт, и у здорового населения в Московском регионе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019; 119(3-2): 18–23. <https://doi.org/10.17116/jnevro201911903218> <https://elibrary.ru/mffvtv>
5. Ensembl genome browser 110. Available at: <https://www.ensembl.org/index.html>
6. Yin Y.W., Sun Q.Q., Zhang B.B., Hu A.M., Wang Q., Liu H.L., et al. The lack of association between interleukin-6 gene -174 G/C polymorphism and the risk of type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of 18,152 subjects. *Gene*. 2013; 515(2): 461–5. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.11.062>
7. Xia J., Sun R.L. Association between interleukin-6 rs1800795 polymorphism and the decreased risk of type 2 diabetes mellitus: an updated meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2019; 12(1): 86–97.
8. Zhang X., Ma L., Peng F., Wu Y., Chen Y., Yu L., et al. The endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus is associated with IL-6 gene promoter polymorphism in Chinese population. *Endocrine*. 2011; 40(1): 124–9. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9442-9>
9. Yang Y., Xiao J., Tang L., Wang B., Sun X., Xu Z., et al. Effects of IL-6 polymorphisms on individual susceptibility to allergic diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front. Genet*. 2022; 13: 822091. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.822091>
10. Cheng Z., Zhang C., Mi Y. IL-6 gene rs1800795 polymorphism and diabetes mellitus: a comprehensive analysis involving 42,150 par-

- ticipants from a meta-analysis. *Diabetol. Metab. Syndr*. 2022; 14(1): 95. <https://doi.org/10.1186/s13098-022-00851-8>
11. National Institutes of Health. LDlink. Available at: <https://ldlink.nci.nih.gov/>
 12. Диагностика и лечение легочной патологии при дефиците альфа-1-антитрипсина: доклад Европейского респираторного общества. *Пульмонология*. 2018; 28(3): 273–95. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-273-295>
 13. Risch N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*. 2000; 405(6788): 847–56. <https://doi.org/10.1038/35015718>
 14. Воевода М.И. Полиморфизм и связь с факторами риска некоторых генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям в этнических группах Сибири (молекулярно-эпидемиологические и эволюционно-генетические аспекты). *Атеросклероз*. 2009; 5(1): 3–27. <https://elibrary.ru/nxqejt>
 15. Ensembl genome browser 110. rs1800795 SNP – Explore this variant – Homo_sapiens. Available at: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=7:22726526-22727526;v=rs1800795;-vdb=variation;vf=729516845
 16. Зотова И.И., Капустин С.И., Грицаев С.В., Минеева Н.В., Кробицец И.И., Сидорова Ж.Ю. и др. Аллельный полиморфизм гена GPIIb как фактор, ассоциированный с вероятностью развития иммунной тромбоцитопении и тяжестью геморрагического синдрома. *Онкогематология*. 2018; 13(2): 93–9. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-2-93-99> <https://elibrary.ru/uuawru>
 17. Елькина А.Ю., Акимова Н.С., Шварц Ю.Г., Мартынович Т.В., Федотов Э.А. Показатели регуляции сосудистого тонуса и полиморфизм генов, ассоциированный с сердечно-сосудистым риском, у молодых, относительно здоровых лиц. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2019; 18(2): 45–50. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2019-2-45-50> <https://elibrary.ru/zelfjj>
 18. Белокриницкая Т.Е., Фролова Н.И., Страмбовская Н.Н. Генетический полиморфизм, ассоциированный с риском развития нарушений обмена гомоцистеина, у здоровых коренных жителей Забайкальского края: этнические и репродуктивные аспекты. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2013; (5): 13–6. <https://elibrary.ru/rtuewh>
 19. Fox N., Hunn A., Mathers N. Sampling and sample size calculation. In: *The NIHR RDS for the East Midlands*. Yorkshire and the Humber; 2009
 20. Власенко Н.В., Чурилова Н.С., Лоскутова Т.А., Миронов К.О., Есьман А.С., Дунаева Е.А. и др. Оценка эпидемиологической значимости молекулярно-генетических факторов в отношении напряженности поствакцинального иммунитета против гепатита В. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022; 99(2): 150–59. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-246> <https://elibrary.ru/mtosqk>

REFERENCES

1. Kuper L., ed. *Race, Science and Society*. Paris: The Unesco Press; 1975.
2. Rychkov Yu.G., ed. *Gene Pool and Geneogeography of the Population. Volume 1. The Gene Pool of the Population of Russia and Neighboring Countries [Genofond i geneografiya narodonaseleeniya. Tom 1. Genofond naseleniya Rossii i sopredel'nykh stran]*. St. Petersburg: Nauka; 2000. (in Russian)
3. Likhvantssev V.V., Yadgarov M.Ya., Berikashvili L.B., Kadantseva K.K., Kuzovlev A.N. Sample size estimation. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2020; (6): 7786. <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology202006177> (in Russian)
4. Dribnokhodova O.P., Korchagin V.I., Mironov K.O., Dunaeva E.A., Titkov A.V., Aksel'rod E.V., et al. A comparative analysis of allele frequencies of rs1801133 and rs1801131 of MTHFR in patients with stroke and healthy people from the Moscow region. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019; 119(3-2): 18–23. <https://doi.org/10.17116/jnevro201911903218> <https://elibrary.ru/mffvtv> (in Russian)
5. Ensembl genome browser 110. Available at: <https://www.ensembl.org/index.html>
6. Yin Y.W., Sun Q.Q., Zhang B.B., Hu A.M., Wang Q., Liu H.L., et al. The lack of association between interleukin-6 gene -174 G/C

- polymorphism and the risk of type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of 18,152 subjects. *Gene*. 2013; 515(2): 461–5. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.11.062>
7. Xia J., Sun R.L. Association between interleukin-6 rs1800795 polymorphism and the decreased risk of type 2 diabetes mellitus: an updated meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2019; 12(1): 86–97.
 8. Zhang X., Ma L., Peng F., Wu Y., Chen Y., Yu L., et al. The endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus is associated with IL-6 gene promoter polymorphism in Chinese population. *Endocrine*. 2011;40(1):124–9. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9442-9>
 9. Yang Y., Xiao J., Tang L., Wang B., Sun X., Xu Z., et al. Effects of IL-6 polymorphisms on individual susceptibility to allergic diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front. Genet.* 2022; 13: 822091. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.822091>
 10. Cheng X., Zhang C., Mi Y. IL-6 gene rs1800795 polymorphism and diabetes mellitus: a comprehensive analysis involving 42,150 participants from a meta-analysis. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2022; 14(1): 95. <https://doi.org/10.1186/s13098-022-00851-8>
 11. National Institutes of Health. LDlink. Available at: <https://ldlink.nci.nih.gov/>
 12. Diagnosis and treatment of pulmonary disease in α 1-antitrypsin deficiency: a statement of European Respiratory Society. *Pul'monologiya*. 2018; 28(3): 273–95. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-273-295> (in Russian)
 13. Risch N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*. 2000; 405(6788): 847–56. <https://doi.org/10.1038/35015718>
 14. Voevoda M.I. Polymorphism and connection with risk factors of some genes of predisposition to cardiovascular diseases in ethnic groups in Siberia (molecular-epidemiological and evolution-genetic aspects). *Ateroskleroz.* 2009; 5(1): 3–27. <https://elibrary.ru/nxqejt> (in Russian)
 15. Ensembl genome browser 110. rs1800795 SNP – Explore this variant – Homo_sapiens. Available at: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=7:22726526-22727526;v=rs1800795;-vdb=variation;vf=729516845
 16. Zotova I.I., Kapustin S.I., Gritsaev S.V., Mineeva N.V., Krobnetz I.I., Sidorova Zh.Yu., et al. GPIIB allelic polymorphism as a factor associated with the probability of immune thrombocytopenia and the severity of hemorrhagic syndrome. *Onkogematologiya*. 2018; 13(2): 93–9. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-2-93-99> <https://elibrary.ru/uauwru> (in Russian)
 17. El'kina A.Yu., Akimova N.S., Shvarts Yu.G., Martynovich T.V., Fedotov E.A. Vascular control parameters and gene polymorphism associated with cardiovascular risk in young and relatively healthy individuals. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2019; 18(2): 45–50. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2019-2-45-50> <https://elibrary.ru/zclfjj> (in Russian)
 18. Belokrinskaya T.E., Frolova N.I., Strambovskaya N.N. Gene polymorphism associated with risk of development of homocysteine exchange disorders among young healthy women in Transbaikalia: ethnic and reproductive aspects. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2013; (5): 13–6. <https://elibrary.ru/rtuewh> (in Russian)
 19. Fox N., Hunn A., Mathers N. Sampling and sample size calculation. In: *The NIHR RDS for the East Midlands. Yorkshire and the Humber; 2009*
 20. Vlasenko N.V., Churilova N.S., Loskutova T.A., Mironov K.O., Es'man A.S., Dunaeva E.A., et al. Evaluation of the epidemiological significance of molecular genetic factors in relation to the intensity of post-vaccination immunity against hepatitis B. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022; 99(2): 150–59. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-246> <https://elibrary.ru/mtosqh> (in Russian)

Информация об авторах:

Власенко Наталья Викторовна  – научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: nvzuz@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2388-1483>

Чанышев Михаил Дамирович – научный сотрудник лаборатории геномных исследований ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: chanish@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6943-2915>

Дубоделов Дмитрий Васильевич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: gradient27@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Серков Артем Алексеевич – лаборант-исследователь лаборатории вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: toms8191@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0006-4086-8324>

Солопова Галина Геннадьевна – канд. мед. наук, заведующая отделением инфекционного контроля ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: galina.solorova@fnkc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1680-7269>

Сацук Анастасия Владимировна – канд. мед. наук, врач-эпидемиолог ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: vnpoemp@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3293-2008>

Сницарь Артем Владимирович – заместитель главного врача по медицинской части ГБУЗ «ГКБ имени В.П. Демидова ДЗМ», Москва, Россия. E-mail: snitsarav@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6053-4651>

Семененко Татьяна Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела эпидемиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: semenenko@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Кузин Станислав Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: drkuzin@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

Акимкин Василий Геннадиевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: crie@pcr.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

Участие авторов: Власенко Н.В. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, написание статьи; Чанышев М.Д. – анализ и интерпретация данных, подготовка рисунков, написание статьи; Кузин С.Н. – руководство исследованием, концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, написание статьи; Сацук А.В. – сбор материалов исследований и клинических данных; Солопова Г.Г. – сбор материалов исследований и клинических данных; Дубоделов Д.В. – сбор материалов исследований и клинических данных; Серков А.А. – проведение экспериментов; Сницарь А.В. – сбор материалов исследований и клинических данных; Семененко Т.А. – корректировка текста публикации; Акимкин В.Г. – утверждение концепции исследования и принятие финального решения о публикации.

Поступила 10.08.2023
Принята в печать 02.10.2023
Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Natalia V. Vlasenko  – Researcher, Laboratory of viral hepatitis Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: vlasenko@cmd.su; <https://orcid.org/0000-0002-2388-1483>.

Mikhail D. Chanyshev – Researcher, Laboratory of genomic research Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: chanish@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6943-2915>

Dmitriy V. Dubodelov – Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: gradient27@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Artem A. Serkov – Research laboratory assistant, Laboratory of viral hepatitis Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: toms8191@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0006-4086-8324>

Galina G. Solopova – PhD, Deputy Chief Physician for Infection Control Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia. E-mail: galina.solopova@fnkc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1680-7269>

Anastasija V. Sacuk – PhD, epidemiologist Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia. E-mail: vnpoemp@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3293-2008>

Artem V. Sniczar – Deputy Chief Medical Officer, Demikhov Moscow City Clinical Hospital, Moscow, Russia. E-mail: snitsarav@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6053-4651>

Tatiana A. Semenenko – D. Sci. (Med.), Professor, Head of the Epidemiology Department, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: semenenko@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Stanislav N. Kuzin – D. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute for Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: drkuzin@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

Vasily G. Akimkin – D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: crie@pcr.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Contribution: Vlasenko N.V. – concept and design of the study, conducting experiments, collecting, analyzing and interpreting data, writing an article; Chany'shev M.D. – analysis and interpretation of data, preparation of drawings, writing an article; Kuzin S.N. – research management, research concept and design, data analysis and interpretation, article writing; Satsuk A.V. – collection of research materials and clinical data; Solopova G.G. – collection of research materials and clinical data; Dubodelov D.V. – collection of research materials and clinical data; Serkov A.A. – conducting experiments; Snitsar A.V. – collection of research materials and clinical data; Semenenko T.A. – correction of the text of the publication; Akimkin V.G. – approval of the research concept and making the final decision on publication.

Received 10 August 2023
Accepted 02 October 2023
Published 31 October 2023

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-194>

© КОСТИНА Л.В., ФИЛАТОВ И.Е., ЕЛИСЕЕВА О.В., ЛАТЫШЕВ О.Е., ЧЕРНОРЫЖ Я.Ю., ЮРЛОВ К.И., ЛЕСНОВА Е.И., ХАМЕТОВА К.М., ЧЕРЕПУШКИН С.А., САВОЧКИНА Т.Е., ЦИБЕЗОВ В.В., КРЫШЕНЬ К.Л., АЛЕКСЕЕВА Л.И., ЗАЙКОВА О.Н., ГРЕБЕННИКОВА Т.В., 2023

Исследование безопасности и иммуногенности вакцины на основе VLP для профилактики ротавирусной инфекции на модели новорожденных карликовых свиней

Костина Л.В.¹✉, Филатов И.Е.¹, Елисеева О.В.¹, Латышев О.Е.¹, Чернорыж Я.Ю.¹, Юрлов К.И.¹, Леснова Е.И.¹, Хаметова К.М.¹, Черепушкин С.А.¹, Савочкина Т.Е.¹, Цибезов В.В.¹, Крышень К.Л.², Алексеева Л.И.², Зайкова О.Н.¹, Гребенникова Т.В.¹

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмолловский, Россия

Резюме

Введение. В России почти половина случаев острых кишечных инфекций установленной этиологии в 2022 г. приходится на ротавирусную инфекцию (РВИ). Специфического лечения ротавирусного гастроэнтерита не существует. Имеется необходимость создания современных эффективных и безопасных препаратов для борьбы с РВИ, не способных размножаться (реплицироваться) в организме вакцинируемого. Перспективным подходом является создание вакцин на основе вирусоподобных частиц (VLP).

Цель работы. Изучение безопасности и иммуногенности вакцины «Гам-VLP-рота» против РВИ на основе VLP ротавируса А человека на новорожденных карликовых свиньях при многократном внутримышечном введении.

Материалы и методы. В эксперименте были задействованы новорожденные карликовые свиньи. Безопасность тестируемой вакцины оценивали на основании данных термометрии, клинического осмотра, динамики массы тела, клинических и биохимических показателей крови, а также некропсии и гистологического исследования животных. Для оценки иммуногенности исследовали клеточный, гуморальный и секреторный иммунный ответ на введение вакцины.

Результаты. Оценка общего состояния животных в период иммунизации, данные клинико-лабораторных и патоморфологических исследований свидетельствуют о безопасности вакцины «Гам-VLP-рота» при трехкратном внутримышечном введении. Установлена хорошая местная переносимость тестируемой вакцины. Формируется устойчивый гуморальный иммунитет после трехкратной вакцинации «Гам-VLP-рота», антиген-специфические IgG функционально активны в нейтрализации ротавируса А человека. Показано, что в минимальной исследуемой концентрации (30 мкг/доза) после трехкратной вакцинации у животных вырабатывался клеточно-опосредованный иммунный ответ. Полученные результаты титра IgA в сыворотке крови и в смывах кишечника свидетельствуют о формировании как системного иммунологического ответа, так и специфического секреторного иммунного ответа к ротавирусу А человека.

Заключение. Трехкратная внутримышечная иммунизация карликовых свиней вакциной «Гам-VLP-рота» формирует устойчивый защитный гуморальный, секреторный и клеточный иммунитет у исследуемых животных. Исследуемая вакцина безопасна и имеет хорошую местную переносимость.

Ключевые слова: ротавирус А человека; вакцина; вирусоподобные частицы; доклинические исследования; безопасность; иммуногенность; карликовые свиньи

Для цитирования: Костина Л.В., Филатов И.Е., Елисеева О.В., Латышев О.Е., Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Леснова Е.И., Хаметова К.М., Черепушкин С.А., Савочкина Т.Е., Цибезов В.В., Крышень К.Л., Алексеева Л.И., Зайкова О.Н., Гребенникова Т.В. Исследование безопасности и иммуногенности вакцины на основе VLP для профилактики ротавирусной инфекции на модели новорожденных карликовых свиней. *Вопросы вирусологии.* 2023; 68(5): 415–428. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-194> EDN: <https://elibrary.ru/bnjgqr>

Финансирование. Работа финансирована государственной тематикой Министерства здравоохранения Российской Федерации «Разработка подходов для создания вакцины против инфекции, вызванной ротавирусом типа А» (регистрационный номер АААА-А18-118051490143-3).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации (Протокол № 1 от 01.04.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-194>

Study of the safety and immunogenicity of VLP-based vaccine for the prevention of rotavirus infection in neonatal minipig model

Ludmila V. Kostina¹✉, Ilya E. Filatov¹, Olesya V. Eliseeva¹, Oleg E. Latyshev¹, Yana Yu. Chernoryzh¹, Kirill I. Yurlov¹, Ekaterina I. Lesnova¹, Kizkhalum M. Khametova¹, Stanislav A. Cherepushkin¹, Tatyana E. Savochkina¹, Valery V. Tsibezov¹, Kirill L. Kryshen², Liubov I. Alekseeva², Olga N. Zaykova¹, Tatyana V. Grebennikova¹

¹National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

²RMC «HOME OF PHARMACY» JSC, 188663, St. Petersburg, Russia

Abstract

Introduction. In Russia, almost half of the cases of acute intestinal infections of established etiology in 2022 are due to rotavirus infection (RVI). There is no specific treatment for rotavirus gastroenteritis. There is a need to develop modern, effective and safe vaccines to combat rotavirus infection that are not capable of multiplying (replicating) in the body of the vaccinated person. A promising approach is to create vaccines based on virus-like particles (VLPs).

Objective. Study of the safety and immunogenicity of a vaccine against rotavirus infection based on virus-like particles of human rotavirus A in newborn minipigs with multiple intramuscular administration.

Materials and methods. Newborn minipigs were used as an animal model in this study. The safety of the tested vaccine was assessed based on thermometry data, clinical examination, body weight gain, clinical and biochemical blood parameters, as well as necropsy and histological examination. When studying the immunogenic properties of the Gam-VLP-*rota* vaccine in doses of 30 and 120 µg, the cellular, humoral and secretory immune response was studied.

Results. The results of assessing the general condition of animals during the immunization period, data from clinical, laboratory and pathomorphological studies indicate the safety of the vaccine against human rotavirus infection based on VLP (Gam-VLP-*rota*) when administered three times intramuscularly. Good local tolerance of the tested vaccine was demonstrated. The results of the assessment of humoral immunity indicate the formation of a stable immune response after three-time immunization with Gam-VLP-*rota*, stimulation of the production of antigen-specific IgG antibodies and their functional activity to neutralize human rotavirus A. It was shown that following the triple immunization with the minimum tested concentration of 30 µg/dose, animals developed a cell-mediated immune response. The results of the IgA titer in blood serum and intestinal lavages indicate the formation of both a systemic immunological response and the formation of specific secretory immunity to human rotavirus A.

Conclusion. Thus, three-time intramuscular immunization of minipigs with the Gam-VLP-*rota* vaccine forms stable protective humoral and cellular immunity in experimental animals. Evaluated vaccine is safe and has good local tolerability.

Keywords: *human rotavirus A; vaccine; virus-like particles; preclinical study; minipigs*

For citation: Kostina L.V., Filatov I.E., Eliseeva O.V., Latyshev O.E., Chernoryzh Ya.Yu., Yurlov K.I., Lesnova E.I., Khametova K.M., Cherepushkin S.A., Savochkina T.E., Tsibezov V.V., Kryshen K.L., Alekseeva L.I., Zaykova O.N., Grebennikova T.V. Study of the safety and immunogenicity of VLP-based vaccine for the prevention of rotavirus infection in neonatal minipig model. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 415–428 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-194> EDN: <https://elibrary.ru/bnjqgp>

Funding. The study was supported by state task of the Ministry of Health of Russia Development of approaches to create a vaccine against rotavirus type A infection, No. AAAA-A18-118051490143-3.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus author guidelines for animal use (IAVES, July 23, 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research and manufacturing centre «Home of pharmacy» (protocol No БЭК 4.25/21 dated 02 June 2021).

Введение

Ротавирусная инфекция (РВИ) – основная причина острого гастроэнтерита у детей до 5 лет, которая приводит к госпитализации 1,76 млн [1] и смерти 128,5 тыс. детей этого возраста ежегодно [2]. Российская

Федерация относится к регионам с высоким уровнем заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ). Почти ½ случаев ОКИ установленной этиологии (49%) в 2022 г. приходилась на РВИ. Заболеваемость РВИ в России в 2022 г. составила 61,7

на 100 тыс. населения. Наиболее высокие показатели заболеваемости РВИ в Российской Федерации зарегистрированы среди детей в возрасте 1–2 лет (1063,08 на 100 тыс. населения) и до 1 года (699,21) [3].

Ротавирус (РВ) относится к семейству реовирусов и представляет собой вирус с двухцепочечной РНК (дцРНК). Геном вируса состоит из 11 сегментов дцРНК, кодирующих 6 структурных белков (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 и VP7) и 6 неструктурных белков (NSP1–6). РВ имеет трехслойную оболочку, внутренний слой которой образован белком VP2, средний – VP6, а внешний – белками VP4 и VP7, которые являются главными мишенями вируснейтрализующих антител (ВНА) [4]. VP6-специфические антитела вырабатываются в большом количестве после инфицирования и вакцинации и являются основными антителами, продуцируемыми В-клетками в ответ на РВИ [5].

По данным Референс-центра по мониторингу ОКИ, в 2022 г. на территории Российской Федерации произошло уменьшение удельного веса доминирующего в 2021 г. генотипа G9P[8] и превалирование генотипа G1P[8]. При этом наиболее часто выявляемыми типами РВ были G1P[8], G3P[8], G4P[8], G2P[4], G9P[8] [3, 6, 7].

Специфического лечения ротавирусного гастроэнтерита не существует. Одобренные Всемирной организацией здравоохранения ротавирусные вакцины – это живые пероральные аттенуированные штаммы РВ человеческого и/или животного происхождения: RotaTeq (Merck & Co. Inc., США), Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals, Бельгия), Rotavac (Bharat Biotech International Ltd, Индия) и ROTASIL (Serum Institute India, Индия). Также существуют две вакцины, одобренные на национальном уровне: Rotavin-M1 (POLYVAC, Вьетнам) и Lanzhou lamb (Lanzhou Institute, Китай). Иммунизация против РВИ на территории Российской Федерации проводится в соответствии с календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям с 2014 г. (Приказ Минздрава России № 125н от 21.03.2014 «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям») двумя пентавалентными вакцинами RotaTeq и Рота-V-Эйд (Индия) [4, 8, 9, 10].

Результаты многолетнего глобального опыта массового применения ротавирусных вакцин доказали их высокую эффективность для профилактики РВИ [4, 8]. При этом частые повторные случаи РВИ были обусловлены тем, что приобретенный постинфекционный и поствакцинальный иммунитет является серотип-специфичным и не всегда способен обеспечить перекрестную защиту. Главной проблемой использования живых аттенуированных вакцин против РВИ является, прежде всего, риск возникновения инвагинации кишечника, возникающий в результате размножения ослабленных живых вакцин в кишечнике человека. Таким образом, актуальной проблемой отечественного здравоохранения явля-

ется создание безопасной и эффективной вакцины против РВИ с учетом наиболее распространенных генотипов РВ, решение этой проблемы возможно с помощью применения перспективного подхода – получения вирусоподобных частиц (VLP). VLP имеют сходную с нативным вирусом пространственную структуру и антигенные свойства, однако лишены вирусного генетического материала, что обеспечивает их безопасность.

Ранее нами была разработана и оптимизирована технология синтеза 3-слойных VLP, состоящих из белков РВ А: VP2, VP4, VP6, VP7. Полученные частицы содержали белки VP4 и VP7 6 генотипов, наиболее представленных на территории России [14].

На основе полученных VLP РВ А человека была разработана кандидатная вакцина («Гам-VLP-рота») против РВИ. Представленное исследование направлено на изучение безопасности и иммуногенности этой вакцины на новорожденных карликовых свиньях.

Материалы и методы

Исследуемые объекты. Вакцина «Гам-VLP-рота» для внутримышечного введения с адьювантом SEPPIC SWE против РВИ на основе рекомбинантных VLP РВ А человека, состоящих из двух внутренних белков VP2 и VP6 и белков внешнего слоя VP4 и VP7 генотипов G1, G2, G4, G9, P4 P8, актуальных для эпидемических изолятов, которые наиболее распространены в Российской Федерации [11].

Животные. Исследованы новорожденные карликовые свиньи (21♂, 23♀). Животные были получены в АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»; содержались в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях [12]. Целесообразность выбора новорожденных поросят карликовых свиней была обусловлена возрастной восприимчивостью (до 6 нед) животных к инфекции. Предполагали использование вакцины преимущественно в педиатрии [13].

Новорожденные поросята были получены от свиноматок, не имеющих антител к РВ А человека. Все животные имели паспорт здоровья и были свободны от патогенной микрофлоры, эндо- и эктопаразитов.

Дизайн исследования

Использовали вакцину с концентрациями антигена 30 и 120 мкг на 1 дозу (мкг/доза), которые планировалось применять в клинических исследованиях, а также с концентрацией антигена 600 мкг/доза для оценки возможного проявления токсических эффектов.

Были сформированы следующие экспериментальные группы: 1-я группа – 11 животных, которым вводили вакцину «Гам-VLP-рота» 30 мкг/доза; 2-я группа – 10 животных, вакцина «Гам-VLP-рота» 120 мкг/доза; 3-я группа – 6 животных, вакцина «Гам-VLP-рота» 600 мкг/доза; 4-я группа – 9 животных, буферный раствор для разведения VLP с адьювантом (носитель); 5-я группа – 8 животных, плацебо (физ. раствор). Животные 1–5-й групп были использованы для

оценки безопасности, животные 1, 2 и 5-й групп – для оценки иммуногенности кандидатной вакцины.

Вакцину вводили в объеме 0,5 мл внутримышечно трехкратно, с интервалом 9–10 сут. Первую иммунизацию проводили на 4–5-й день после опороса. Носитель и плацебо вводили аналогично.

Оценка безопасности вакцины против ротавирусной инфекции

Безопасность тестируемой вакцины оценивали на основании данных термометрии, клинического осмотра, динамики массы тела, клинических и биохимических показателей крови, а также некропсии и гистологического исследования животных. Регистрацию массы тела, термометрию и клинический осмотр проводили ежедневно на протяжении всего эксперимента.

При клиническом осмотре регистрировали поведение животного, реакцию на раздражители, дыхание, состояние шерстного и кожных покровов, упитанность, состояние слизистых оболочек, данные осмотра места введения, факт гибели и др.

Для оценки биохимических и гематологических показателей производили отбор крови из яремной вены перед каждой иммунизацией и перед каждой эвтаназией в соответствии с Директивой 2010/63/EU от 22.09.2010 Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях [12]. Определяли основные показатели гематологии и биохимии по стандартным методикам.

Эвтаназия и патоморфологическое исследование

Эвтаназию животных осуществляли на 9–10-е сутки после последней иммунизации в соответствии с Директивой 2010/63/EU от 22.09.2010 Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях [12].

Для исследования безопасности вакцины у эвтаназированных животных проводили патоморфологическое и гистологическое исследования внутренних органов и тканей. Также была проведена макроскопическая оценка кишечника на наличие инвагинаций.

Оценка иммуногенности вакцины против ротавирусной инфекции

При оценке иммуногенных свойств вакцины «Гам-VLP-рота» в дозах 30 и 120 мкг исследовали клеточный, гуморальный и секреторный иммунный ответ.

Оценка секреторного иммунитета

Для изучения секреторного иммунитета проводили определение уровня специфических IgA-антител к белку VP6 в смывах тонкого кишечника с помощью метода непрямого иммуноферментного анализа (ИФА), как описано ранее [14].

Оценка гуморального иммунитета

При оценке гуморального иммунного ответа исследовали уровень специфических IgG-антител к белку VP6 методом непрямого ИФА [14] и уровень ВНА

в сыворотке крови поросят, иммунизированных вакциной в дозах 30, 120 мкг, и животных, которым вводили плацебо. Сыворотки отбирали перед каждой иммунизацией и перед плановой эвтаназией.

При оценке уровня ВНА был выбран вариант с множественностью заражения 100 ТЦИД₅₀. Готовили разведения вирусного стока с максимальной инфекционной активностью 6,66 lg ТЦИД₅₀/мл. Исследуемые сыворотки разводили в 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 и 1280 раз, соединяли с вышеуказанными разведениями вирусного стока в лунках 96-луночной панели и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °С. Затем смесь разведенных сывороток с вирусом вносили в 80–90% монослой клеточной линии MARC-145 и через 4–5 сут инкубации при 37 °С и 5% CO₂ проводили учет результатов путем микроскопирования монослоя с целью определения цитопатических изменений в клетках. Нейтрализующим титром сыворотки считали то ее наибольшее разведение, при котором еще наблюдается нейтрализация вирусов, предупреждающая образование цитопатического действия в культуре клеток.

Оценка клеточного иммунитета

Оценку клеточно-опосредованного иммунного ответа проводили с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) и количественного определения клеток, секретирующих интерфероном (IFN)- γ в ELISpot.

У животных, иммунизированных вакциной в дозах 30, 120 мкг, и группы плацебо на 10-е сутки после 1-й и 2-й иммунизации отбирали периферическую кровь, после 3-й – периферическую кровь, селезенку и брыжеечные лимфатические узлы, выделяли фракцию моноклеарных клеток [15]. Моноклеары крови, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов помещали в 96-луночные культуральные панели в концентрации 10⁵ клеток в лунку. Антигены-стимуляторы добавляли по 100 мкл в лунку к клеткам до конечных концентраций. Клетки культивировали в полноростовой среде RPMI-1640, с 20% эмбриональной телячьей сывороткой (2 мМ глутамин, 4,5 г/л глюкозы, 50 мкг/мл гентамицина, 0,2 ед/мл инсулина) при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Все манипуляции выполняли в стерильных условиях.

Для стимуляции *in vitro* использовали антигены: суспензию VLP (VP6-VP7 (генотип G2), VP6-VP7 (генотип G1), VP6-VP7 (генотип G9), VP6-VP7 (генотип G4), VP6-VP4 (генотип P4), VP6-VP4 (генотип P8)); неспецифический АГ – ККГЛ; адъювант – SEPPIC SWE; буфер TNC (10 мМ Tris-HCl, 140 мМ NaCl, 10 мМ CaCl₂, pH 7,4), на котором разводилась суспензия VLP; полноростовую среду. Пролиферацию моноцитов оценивали с помощью РБТЛ через 4 сут с помощью инвертированного микроскопа (увеличение $\times 400$). Результаты реакции выражали в виде индекса стимуляции пролиферации (ИСП) – отношения среднего количества бластов в присутствии стимуляторов к среднему количеству бластов в отсутствие стимуляторов. Положительным считали результат, если ИСП превышает 2.

Количественное определение клеток, секретирующих *IFN-γ*, проводили с помощью набора Porcine *IFN-γ* ELISpot (R&D Systems, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Анализ данных

Данные были проверены на соответствие закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, были подсчитаны среднее значение (*M*) и ошибка среднего (*SEM*), которые представлены на диаграммах и в итоговых таблицах вместе со значением *n* (число наблюдений). Результаты титра антиген-специфических *IgA* представляли в виде индивидуальных значений, среднего геометрического (*GM*) и 95% доверительного интервала (95% ДИ).

Для сравнения двух независимых выборок, подчиняющихся нормальному распределению, использовали *t*-критерий Стьюдента, для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. При анализе данных более 2 групп с признаками нормального распределения использовали однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализ

(ANOVA) с последующим сравнением с помощью критерия Тьюки. Межполовые различия не определяли. Данные самцов и самок считали вместе.

Различия определяли при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполняли с помощью лицензионного программного обеспечения GraphPad Prism 9.1.1 (GraphPad Software, США) или Statistica 10.0 (StatSoft, США).

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации (Протокол № 1 от 01.04.2021).

Результаты

Оценка безопасности вакцины «Гам-VLP-рота» против ротавирусной инфекции

Общее состояние животных на протяжении всего периода иммунизации соответствовало норме. Динамика массы тела как интегральный показатель здоровья животных на протяжении всего периода иммунизации во всех группах была положительной (рис. 1).

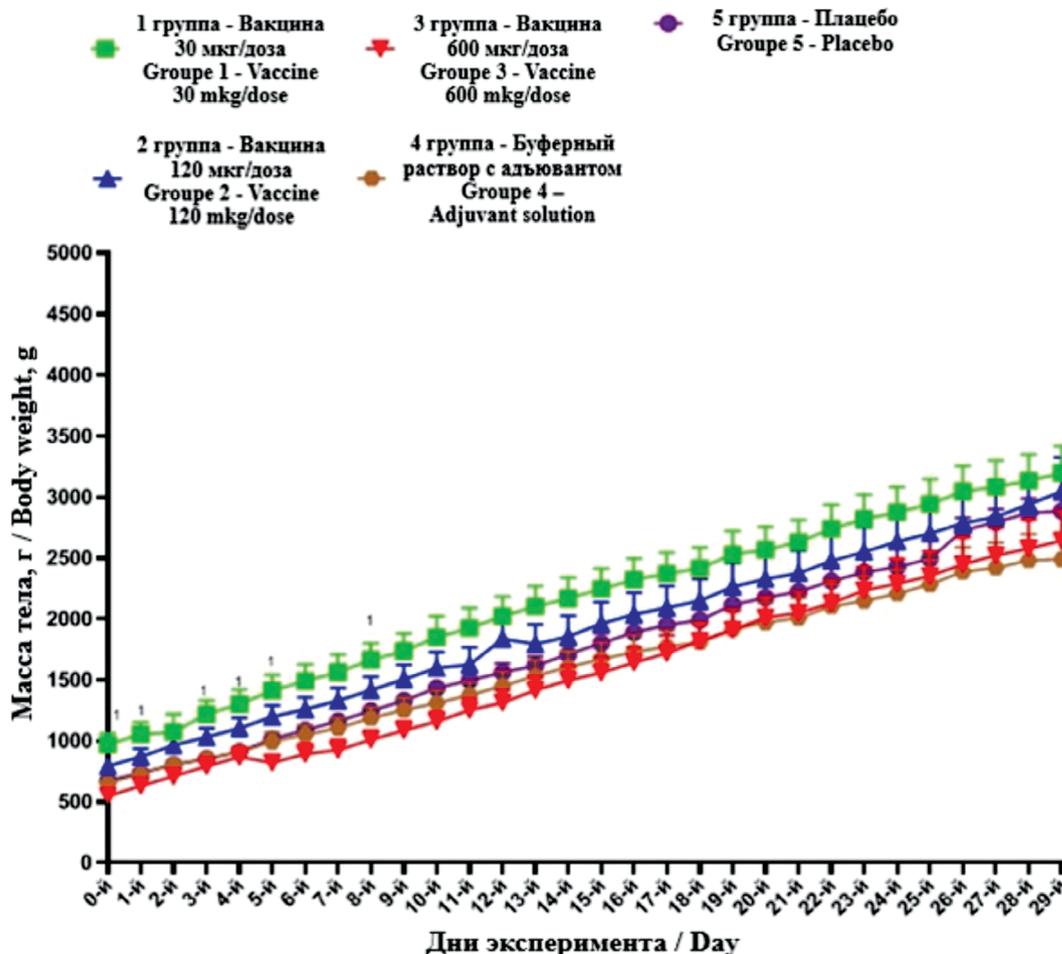


Рис. 1. Динамика массы тела поросят в период иммунизации.

Fig. 1. Body weight dynamics in newborn pigs during the immunization period.

Нормальная температура тела новорожденных поросят составляет 39–40 °С. По мере взросления в норме температура тела снижается и составляет 37–39 °С. Результаты измерения ректальной температуры тела (**рис. 2**) свидетельствовали об отсутствии пирогенных свойств исследуемой вакцины.

Клинический и биохимический анализ крови (количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, уровень гемоглобина, гематокрит, а так же аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), мочевины, общий белок, креатинин, общий холестерин, альбумин (ALB), глобулины (GLOB), отношение ALB/GLOB, триглицериды, общий билирубин, щелочная фосфатаза, глюкоза) проводили перед каждой иммунизацией и перед плановой эвтаназией. При исследовании образцов крови, отобранных перед 1, 2 и 3-й иммунизациями и перед эвтаназией, результаты однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) и анализа при помощи критерия Тьюки не выявили клинически значимых изменений показателей среди всех исследуемых групп, а также статистически значимых отличий показателей крови между опытными и контрольной группами. Таким об-

разом, по результатам клинического и биохимического анализа крови не обнаружено негативного влияния тестируемой вакцины на гематологические и биохимические показатели при трехкратной иммунизации.

Результаты оценки патоморфологических исследований органов и тканей и данные макро- и микроскопического исследования места введения свидетельствовали о безопасности и хорошей местной переносимости вакцины «Гам-VLP-рота». Дополнительная оценка кишечника на предмет инвагинаций не выявила характерных патологических изменений.

Оценка иммуногенности вакцины «Гам-VLP-рота» против ротавирусной инфекции

Результаты определения секреторных IgA-антител в смывах кишечника животных методом ИФА представлены в **табл. 1**.

Результаты оценки уровня IgA методом ИФА в смывах кишечника свидетельствовали о формировании секреторного иммунного ответа у животных в ответ на трехкратную иммунизацию. Было обнаружено дозозависимое увеличение титра антиген-специфических IgA.

Результаты определения титра специфических IgG-антител представлены на **рис. 3**. Максимальный титр

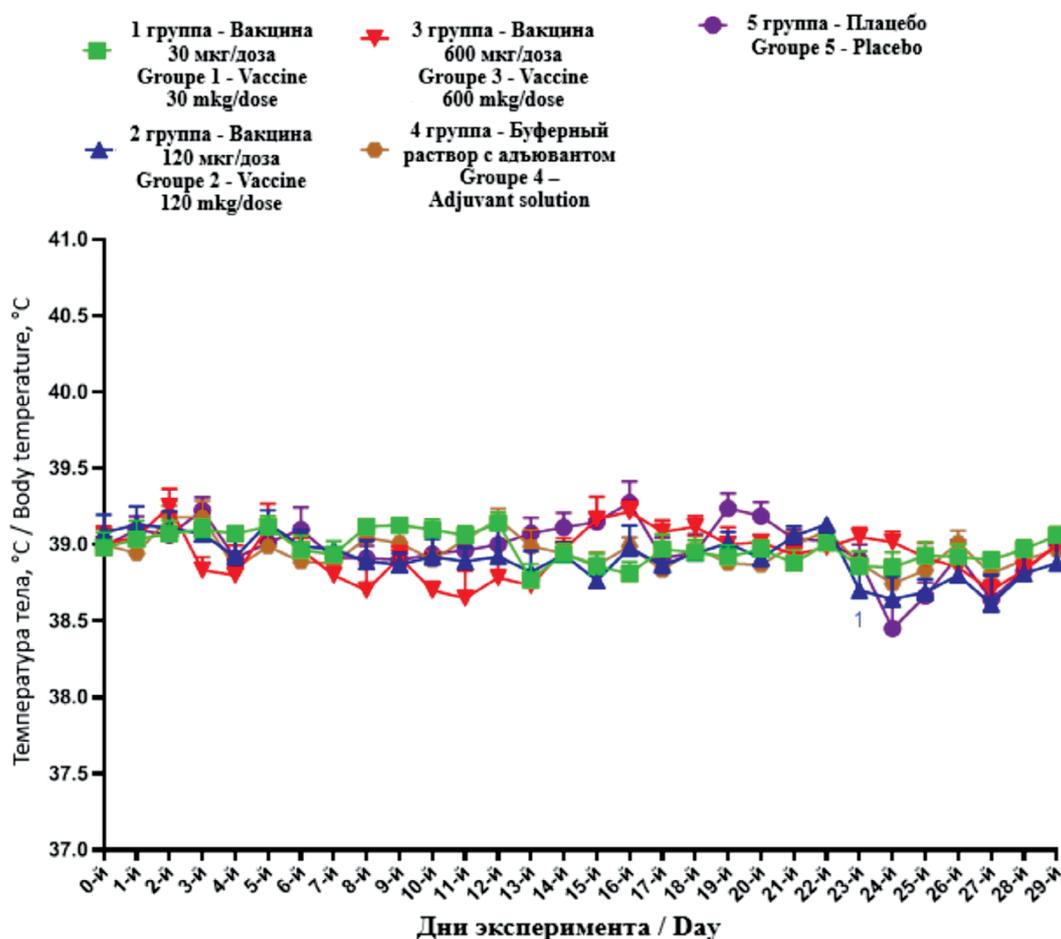


Рис. 2. Динамика температуры тела поросят в период иммунизации.

Fig. 2. Body temperature dynamics in newborn pigs during the immunization period.

антител наблюдали после 3-й иммунизации, после 1-й иммунизации титр антиген-специфических антител отсутствовал. Результаты свидетельствовали о формировании устойчивого гуморального иммунного от-

вета после трехкратной иммунизации вакциной «Гам-VLP-рота» как в дозе 30 мкг, так и в дозе 120 мкг.

Таблица 1. Значения обратного титра антиген-специфических секреторных антител IgA в смывах кишечника. Индивидуальные значения, среднее геометрическое (GM) и 95% доверительный интервал (95% ДИ)

Table 1. Reciprocal values of the titer of antigen-specific secretory IgA antibodies in intestinal lavages. Individual values, geometric mean (GM) and 95% confidence interval (95% CI)

Группа Group	Номер животного Animal number	Значение титра IgA IgA titer value
1-я группа 30 мкг/доза 1 st group 30 mcg/dose	1.6.	3200
	1.7.	100
	1.8.	400
	1.9.	1600
	GM (95% ДИ) GM (95% CI)	672,7 (58,31–7762)
2-я группа 120 мкг/доза 2 nd group 120 mcg/dose	2.1.	1600
	2.2.	800
	2.3.	3200
	2.4.	400
	GM (95% ДИ) GM (95% CI)	1131 (272,4–4699)

Результаты определения уровня ВНА свидетельствовали о функциональной способности сформированных антител нейтрализовать РВ А человека (рис. 4). Наблюдали дозозависимое увеличение уровня нейтрализующих антител. Максимальный титр (GM=746) был зарегистрирован после 3-й иммунизации в группе животных, которым вводили вакцину с содержанием антигена 120 мкг/доза.

Реакцию РБТЛ проводили на 10-е сутки после 1, 2 и 3-й иммунизации, средние значения ИСП в крови по группам представлены на рис. 5. Значения ИСП крови, селезенки и брыжеечных лимфоузлов поросят после 3-й иммунизации представлены на рис. 6. Трехкратная иммунизация вакциной «Гам-VLP-рота» в концентрации 120 мкг/доза стимулировала пролиферацию лимфоцитов у поросят, среднее значение ИСП после 1-й иммунизации составило $2,1 \pm 0,04$, после 2-й – $2,1 \pm 0,03$, после 3-й – $1,7 \pm 0,04$. Однако, несмотря на превышение порогового значения после 1-й и 2-й иммунизации, различия у животных экспериментальных групп достоверно не отличались в зависимости от числа иммунизаций, а также по сравнению с группой плацебо, где ИСП составил $1,1 \pm 0,1$, $1,0 \pm 0,1$ и $1,3 \pm 0,2$ соответственно после 1, 2 и 3-й иммунизации ($p > 0,05$). После 1-й иммунизации исследуемой вакциной в минимальной концентрации (30 мкг/доза) ИСП увеличивался до

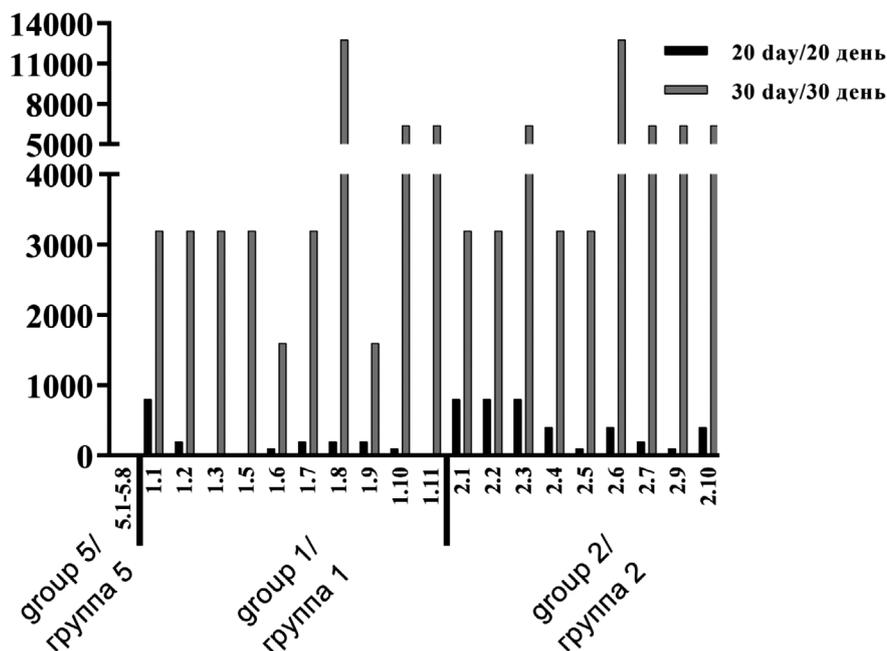


Рис. 3. Титр специфических IgG-антител в сыворотке крови поросят после трехкратной иммунизации.

По оси абсцисс указаны исследуемые группы. По оси ординат приведены обратные значения титра IgG. GM (95% ДИ) на 20-е сутки иммунизации – 200 (105,3–379,7) и 342,9 (180,7–650,5), на 30-е сутки иммунизации – 3675,8 (2330,5–5797,7) и 5079,7 (3485,3–7403,5) в 1-й и 2-й группах соответственно.

Fig. 3. Specific IgG antibody titer in the blood serum of newborn pigs after three-time immunization.

The X-axis indicates the groups. The Y-axis shows the reciprocal values of the IgG antibody titer. GM (95% CI) on day 20 of immunization – 200 (105.3–379.7) and 342.9 (180.7–650.5), on day 30 of immunization – 3675.8 (2330.5–5797.7) and 5079.7 (3485.3–7403.5) in 1st and 2nd groups, respectively.

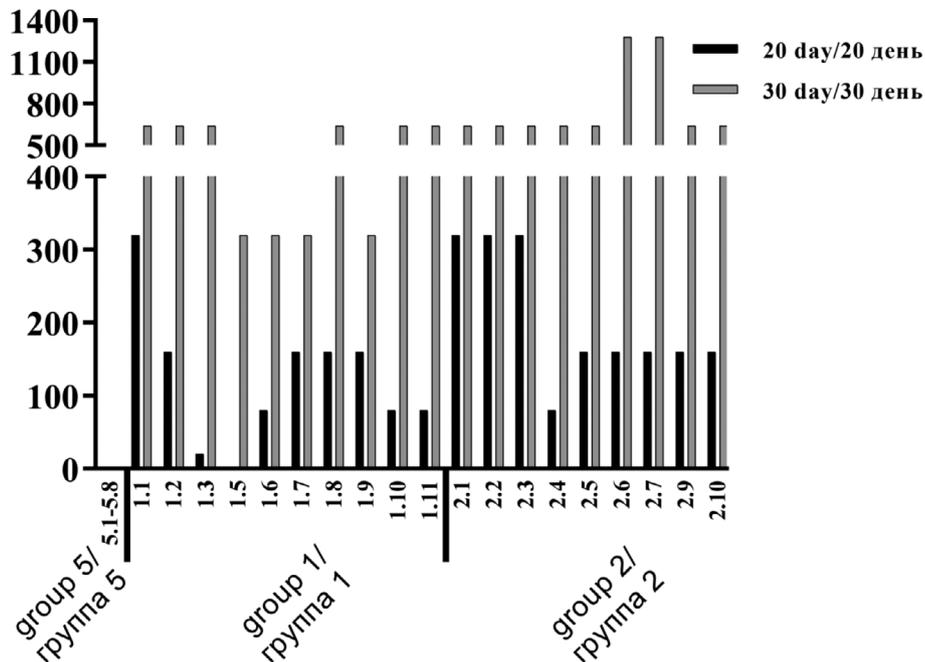


Рис. 4. Результаты определения титра вируснейтрализующих антител к ротавирусу А в сыворотке крови поросят, вакцинированных трехкратно.

По оси абсцисс указаны исследуемые группы. По оси ординат приведены обратные значения титра сывороток. GM (95% ДИ) на 20-е сутки иммунизации – 108,9 (59,6–198,8) и 186,6 (130,8–266,3), на 30-е сутки иммунизации – 485,0 (375,5–626,6) и 746,6 (590,3–944,2) в 1-й и 2-й группах соответственно.

Fig. 4. Titers of neutralizing antibodies to rotavirus A in the blood serum of newborn pigs vaccinated three times.

The X-axis indicates the groups. The Y-axis shows the reciprocal values of serum antibody titers. GM (95% CI) on the 20th day of immunization – 108.9 (59.6–198.8) and 186.6 (130.8–266.3), on the 30th day of immunization – 485.0 (375.5–626.6) and 746.6 (590.3–944.2) in 1st and 2nd groups, respectively.

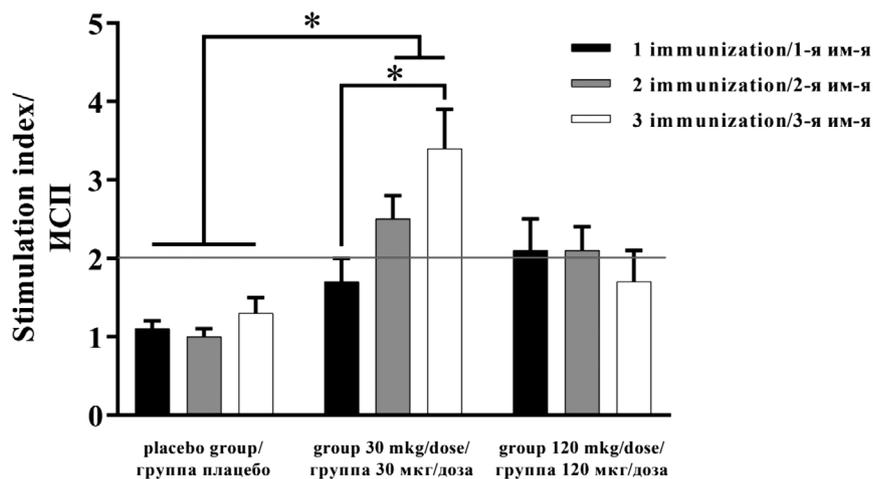


Рис. 5. Реакция бласттрансформации моноцитов периферической крови поросят после 1, 2 и 3-й иммунизации.

По оси абсцисс указаны исследуемые группы. По оси ординат приведены значения ИСП. * – статистически значимые различия $p < 0,05$.

Fig. 5. Peripheral blood monocytes proliferation response in newborn pigs after the first, second and third immunization.

The X-axis indicates the groups. The Y-axis shows the stimulation index values. * – statistically significant differences $p < 0.05$.

$1,7 \pm 0,3$ по сравнению с группой плацебо (ИСП $1,1 \pm 0,1$), но не достигал порогового значения ИСП, равного 2. Наиболее интенсивная индукция пролиферации, статистически значимо отличающаяся от группы плацебо ($p < 0,05$), была зарегистрирована после 2-й ($2,5 \pm 0,3$) и 3-й ($3,4 \pm 0,5$) иммунизации.

В 1-й группе (30 мкг/доза) после 3-й иммунизации

вакциной «Гам-VLP-рота» было отмечено статистически значимое увеличение количества пролиферирующих лимфоцитов в крови (ИСП $4,6 \pm 0,6$), селезенках (ИСП $3,4 \pm 0,6$) и брыжеечных лимфоузлах (ИСП $3,6 \pm 0,6$) по сравнению с группой плацебо (ИСП $1,0 \pm 0,1$, $1,0 \pm 0,1$ и $1,3 \pm 0,3$ соответственно) ($p < 0,05$). Во 2-й группе (120 мкг/доза) достоверное

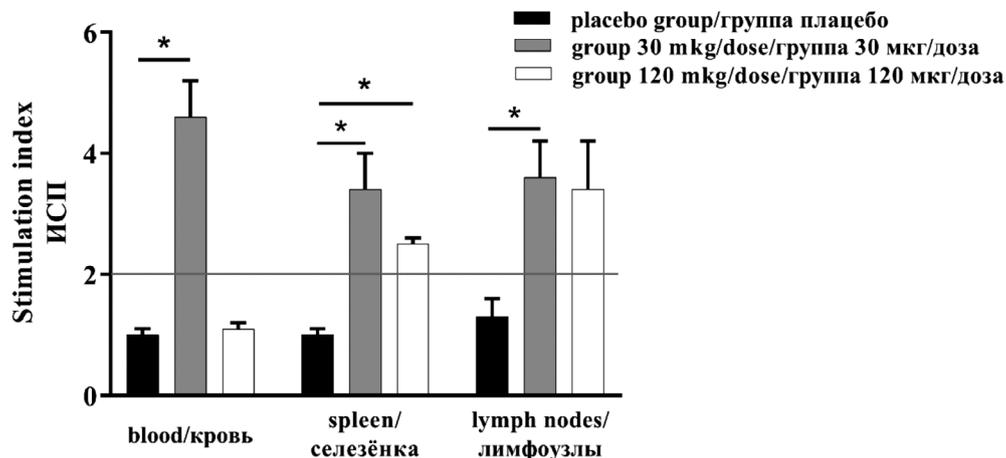


Рис. 6. Реакция бласттрансформации мононуклеаров крови, селезенки и брыжеечных лимфоузлов поросят после 3-й иммунизации. По оси абсцисс указан предмет исследования: кровь – периферическая кровь поросят; селезенка – селезенки поросят; лимфоузлы – брыжеечные лимфоузлы поросят. По оси ординат приведены значения ИСП. * – статистически значимые различия $p < 0,05$.

Fig. 6. Proliferation response of mononuclear cells in blood, spleen, and mesenteric lymph nodes in newborn pigs after the third immunization. The X-axis indicates the types of samples: blood – peripheral blood of newborn pigs; spleen – spleens of newborn pigs; lymph nodes – mesenteric lymph nodes of newborn pigs. The Y-axis shows the stimulation index values. * – statistically significant differences $p < 0.05$.

увеличение ИСП после 3-й иммунизации (до $2,5 \pm 0,4$) было только в мононуклеарах селезенки по сравнению с группой плацебо ($p < 0,05$), в то время как увеличение ИСП (до $3,4 \pm 0,8$) в брыжеечных лимфоузлах не было статистически значимым по сравнению с группой плацебо ($p > 0,05$).

Результаты РБТЛ показали, что минимальная используемая концентрация (30 мкг/доза) вакцины «Гам-VLP-рота» при введении способна стимулировать пролиферацию моноцитов периферической крови поросят после 2-й и 3-й иммунизации, при этом значение ИСП достоверно увеличивалось в 2,6 раза по сравнению с группой плацебо ($p < 0,05$). Также только в этой группе отмечалось достоверное и значительное увеличение ИСП после 3-й иммунизации по сравнению с группой плацебо не только в крови, но и в мононуклеарах, выделенных из селезенки (в 3,4 раза) и брыжеечных лимфатических узлов (в 3 раза) ($p < 0,05$), в то время как во 2-й группе (120 мкг/доза) статистически значимое увеличение ИСП было зарегистрировано только в мононуклеарах, выделенных из селезенки (в 2,5 раза), по сравнению с группой плацебо.

Проводили количественное определение клеток, секретирующих IFN- γ , с помощью набора Porcine IFN- γ ELISpot («R&D Systems», США) в изолированных мононуклеарах селезенки и брыжеечных лимфатических узлов (5×10^5 в лунку). Результаты формирования IFN- γ -секретирующих лимфоцитов в культуре клеток, выделенных из селезенки и брыжеечных лимфатических узлов поросят, на 10-е сутки после 3-й иммунизации, представлены в **табл. 2**.

Активированные Т-клетки способны синтезировать провоспалительный цитокин IFN- γ , который необходим для элиминации вируса. С помощью метода ELISpot было показано, что IFN- γ -секретирующие клетки появляются в ответ на стимуляцию специфическим антигеном после 3-й иммунизации поросят вакциной «Гам-VLP-рота» в обеих опытных группах. После 3-й иммунизации количество таких клеток во 2-й группе (30 мкг/доза) оказалось в 12 раз больше в мононуклеарах, выделенных из брыжеечных лимфоузлов, и в 2 раза больше в мононуклеарах, выделенных из селезенки, по сравнению с группой плацебо. Наибольшее количество IFN- γ -секретирующих клеток было зарегистрировано у поросят, иммунизированных вакциной «Гам-VLP-рота» в концентрации 120 мкг/доза (2-я группа), в мононуклеарах, выделенных из брыжеечных лимфоузлов и селезенки, но увеличение по сравнению с аналогичной группой плацебо было меньше, чем в группе с введением 30 мкг/доза (в 1,5 и в 4,4 раза соответственно).

Известно, что 1-ю линию защиты от РВИ в кишечнике наряду с факторами гуморального иммунитета представляет клеточный иммунитет. Показано, что в отличие от взрослых детей с ротавирусной диареей имеют крайне низкий уровень ротавирусспецифических Т-клеток и низкий функциональный профиль. В этой связи важно, чтобы кандидатная вакцина против РВИ формировала не только гуморальный, но и клеточный иммунный ответ.

Полученные результаты показали, что поросята, получившие три дозы вакцины в минимальной исследуемой концентрации (30 мкг/доза), потенциально способны к количественному эффективному клеточно-опосредованному иммунному ответу. Клеточный ответ является защитным, что подтверждено достоверно высоким ИСП в реакции РБТЛ при трехкратном введении вакцины: ИСП $3,4 \pm 0,5$ (кровь); $3,4 \pm 0,6$ (селезенка) и $4,6 \pm 0,6$ (лимфоузлы), коррелирующим с интенсивным формированием IFN- γ -секретирующих клеток в селезенке и брыжеечных лимфоузлах.

Таблица 2. Количество IFN- γ -секретирующих лимфоцитов в культуре клеток, выделенных из селезенки и брыжеечных лимфатических узлов поросят, иммунизированных вакциной «Гам-VLP-рота», на 10-е сутки после 3-й иммунизации**Table 2.** The number of IFN- γ -secreting lymphocytes in a culture of cells isolated from the spleens and mesenteric lymph nodes of piglets immunized with the Gam-VLP-*rota* vaccine on the 10th day after the third immunization

Группа Group	Номер животного Animal ID	Селезенка / Spleen		Лимфоузлы / Lymph nodes	
		среднее количество «спотов» по животному average number of «spots» per animal	среднее количество «спотов» по группе average number of «spots» per group	среднее количество «спотов» по животному average number of «spots» per animal	среднее количество «спотов» по группе average number of «spots» per group
5-я группа плацебо 5 th group placebo	5.1	98		84	
	5.2	85	74	42	44
	5.3	39		5	
	1.6	173		156	
1-я группа 30 мкг/доза 1 st group 30 mcg/dose	1.7	129		1263	
	1.8	163	138	110	543
	1.9	86		644	
	2.1	286		94	
2-я группа 120 мкг/доза 2 nd group 120 mcg/dose	2.2	191		39	
	2.3	240	322	34	65
	2.4	571		93	

Примечание. Количество окрашенных пятен, соответствующих количеству IFN- γ -секретирующих клеток на 10⁶.

Note. Number of spots corresponding to IFN- γ secreting cells to 10⁶.

С целью оценки местно-раздражающего действия проводили ежедневный макроскопический анализ и гистологический анализ места введения (мышца правой задней конечности) животных, не участвующих в заражении и подвергнутых плановой эвтаназии после иммунизации. Макроскопических и микроскопических изменений мышечной ткани после трехкратного введения исследуемых объектов в объеме 0,5 мл/животное не обнаружили, что свидетельствует о хорошей местной переносимости тестируемой вакцины

Обсуждение

Впервые VLP PB были получены в клетках насекомых с использованием бакуловирусной системы экспрессии в 1987 г. [16]. В дальнейшем для создания VLP PB были использованы разные системы экспрессии, включая дрожжи [17], бактерии [18], растения [19], клетки насекомых [20] и клетки млекопитающих [21]. VLP, продуцируемые в клетках насекомых, считаются более безопасными, поскольку бакуловирусы не способны реплицироваться в клетках млекопитающих. Кроме того, клетки Sf-9 обычно растут в бессывороточной, не содержащей животных продуктов среде, могут быть идентифицированы с помощью анализа кариотипа и изофермента, свободны от загрязняющих микроорганизмов, случайных агентов, ретровирусов и, как было показано, не являются онкогенными. Считается, что данная технология безопасна и может быть использована для широкомасштабного производства VLP [22].

Результаты многочисленных исследований продемонстрировали, что одновременная экспрессия структурных белков PB в клетке приводит к образованию VLP путем самосборки. В отсутствие других

белков VP2 формирует однослойные частицы. Одновременная коэкспрессия белков VP2 и VP6 приводит к образованию *in vivo* двухслойных VLP (2/6-VLP), сходных с DLP, тогда как совместная экспрессия VP2, VP6 и VP7 с VP4 или без него приводит к формированию трехслойных VLP (2/6/7-VLP или 2/4/6/7-VLP), напоминающих инфекционные вирусные частицы [23]. Большинство разработанных ротавирусных VLP-вакцин находится на стадии доклинических исследований на разных моделях животных (мыши, кролики, новорожденные поросята). Показана их иммуногенность и разные уровни защиты от последующего заражения вирусом. Эффективность защиты зависела от композиции белков в VLP, способа введения, типа адъюванта и вида животных [19, 24, 25, 26].

На сегодняшний день только одна кандидатная ротавирусная VLP-вакцина проходит I стадию клинических испытаний на людях. Моновалентная вакцина Ro-VLP состоит из белков VP7, VP6 и VP2 генотипа G1P[8] и получена в клетках растения *Nicotiana benthamiana*. Авторами показана безопасность, хорошая переносимость разработанной вакцины и формирование гомотипических IgG-антител у младенцев через 4 нед после трехкратного внутримышечного введения. Тем не менее вакцина Ro-VLP не вызвала образование вируснейтрализующих гетеротипических антител к генотипам G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8], G12P[8] [27].

В настоящей работе нами проведено исследование безопасности и иммуногенности вакцины «Гам-VLP-рота», разработанной на основе VLP, на новорожденных карликовых свиньях. Полученные данные общего состояния животных, клинико-лабораторных и патоморфологических исследований свидетельствуют

о безопасности вакцины «Гам-VLP-рота» против РВИ человека при трехкратном внутримышечном введении карликовым свиньям. По данным макро- и микроскопического исследования места введения установлена хорошая местная переносимость тестируемой вакцины. Дополнительная оценка кишечника на предмет инвагинаций как побочного эффекта ряда существующих вакцин для профилактики РВИ не выявила характерных патологических изменений.

Оценка иммуногенных свойств вакцины «Гам-VLP-рота» при трехкратной внутримышечной иммунизации карликовых свиней показывает образование высоких уровней специфических IgG- (в сыворотке) и IgA-антител (в сыворотке и кишечнике), ВНА, а также формирование клеточно-опосредованного иммунного ответа с достоверно высоким ИСП в реакции РБТЛ, коррелирующим с интенсивным формированием IFN- γ -секретирующих клеток. Таким образом, трехкратная внутримышечная иммунизация вакциной «Гам-VLP-рота» формирует выраженный защитный гуморальный, секреторный и клеточный иммунный ответ у карликовых свиней.

ЛИТЕРАТУРА

- Hallowell B.D., Chavers T., Parashar U., Tate J.E. Global estimates of rotavirus hospitalizations among children below 5 years in 2019 and current and projected impacts of rotavirus vaccination. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2022; 11(4): 149–58. <https://doi.org/10.1093/jpids/piab114>
- Troeger C., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Blacker B.F., Ahmed T., et al. Rotavirus vaccination and the global burden of rotavirus diarrhea among children younger than 5 years. *JAMA Pediatr.* 2018; 172(10): 958–65. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.1960>
- Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году». М.; 2023.
- Omatola C.A., Olaniran A.O. Rotaviruses: from pathogenesis to disease control – a critical review. *Viruses.* 2022; 14(5): 875. <https://doi.org/10.3390/v14050875>
- Vetter V., Gardner R.C., Debrus S., Benninghoff B., Pereira P. Established and new rotavirus vaccines: a comprehensive review for healthcare professionals. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2022; 18(1): 1870395. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1870395>
- Ivashchkin A.A., Yuzhakova A.G., Grebennikova T.V., Yuzhakova K.A., Kulikova N.Y., Kisteneva L.B., et al. Genetic diversity of group A rotaviruses in Moscow in 2018–2019. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 691–702. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04534-5>
- Yuzhakov A., Yuzhakova K., Kulikova N., Kisteneva L., Cherepushkin S., Smetanina S., et al. Prevalence and genetic diversity of group A rotavirus genotypes in Moscow (2019–2020). *Pathogens.* 2021; 10(6): 674. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060674>
- Намазова-Баранова Л.С., Федосеев М.В., Каложная Т.А., Шахтагинская Ф.Ч., Толстова С.В., Сельвян А.М. Новые возможности иммунопрофилактики ротавирусной инфекции в Российской Федерации. Обзор профиля инновационной ротавирусной вакцины. *Педиатрическая фармакология.* 2022; 19(6): 492–502. <https://doi.org/10.15690/pf.v19i6.2489> <https://elibrary.ru/zrbuqq>
- Rotavirus vaccines: WHO position paper – July 2021. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2021; 96(28): 301–20.
- Skansberg A., Sauer M., Tan M., Santosham M., Jennings M.C. Product review of the rotavirus vaccines ROTASIL, ROTAVAC, and Rotavin-M1. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2021; 17(4): 1223–34. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1804245>
- Черепушкин С.А., Цибезов В.В., Южаков А.Г., Латышев О.Е., Алексеев К.П., Алтаева Е.Г. и др. Синтез и характеристика вирусоподобных частиц ротавируса А (Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus: Rotavirus A) человека. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(1): 55–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-27> <https://elibrary.ru/eersag>
- Директива 2010/63/EU. Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Пер. с англ. СПб.; 2012: 1–48.
- Латышев О.Е., Елисеева О.В., Костина Л.В., Алексеев К.П., Хаметова К.М., Алтаева Е.Г. и др. Оценка иммуногенной активности клонированного штамма WA ротавируса А человека. *Вопросы вирусологии.* 2019; 64(4): 156–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-156-164> <https://elibrary.ru/sckbyy>
- Филатов И.Е., Цибезов В.В., Баландина М.В., Норкина С.Н., Латышев О.Е., Елисеева О.В. и др. Использование вирусоподобных частиц на основе рекомбинантных вирусных белков VP2/VP6 ротавируса А для оценки гуморального иммунного ответа методом ИФА. *Вопросы вирусологии.* 2023; 68(2): 161–71. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-169> <https://elibrary.ru/aywqhn>
- Степанова О.И., Каркищенко В.Н., Клёсов Р.А., Станкова Н.В., Агельдинов Р.А., Савина М.А. Методика выделения лимфоидных клеток (мононуклеаров) из цельной крови, полученной от мини-свиньи. *Биомедицина.* 2020; 16(3): 54–9. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-54-59> <https://elibrary.ru/ggmvjvo>
- Estes M.K., Crawford S.E., Penaranda M.E., Petrie B.L., Burns J.W., Chan W.K., et al. Synthesis and immunogenicity of the rotavirus major capsid antigen using a baculovirus expression system. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1488–94. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.5.1488-1494.1987>
- Li T., Lin H., Zhang Y., Li M., Wang D., Che Y., et al. Improved characteristics and protective efficacy in an animal model of E. coli-derived recombinant double-layered rotavirus virus-like particles. *Vaccine.* 2014; 32(17): 1921–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.01.093>
- Rodríguez-Limas W.A., Tyo K.E., Nielsen J., Ramírez O.T., Palomares L.A. Molecular and process design for rotavirus-like particle production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb. Cell. Fact.* 2011; 10: 33. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-33>
- Kurokawa N., Lavoie P.O., D'Aoust M.A., Couture M.M., Dargis M., Trépanier S., et al. Development and characterization of a plant-derived rotavirus-like particle vaccine. *Vaccine.* 2021; 39(35): 4979–87. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.07.039>
- Molinari P., Peralta A., Taboga O. Production of rotavirus-like particles in *Spodoptera frugiperda* larvae. *J. Virol. Methods.* 2008; 147(2): 364–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.09.002>
- Lee J.M., Chung H.Y., Kim K.I., Yoo K.H., Hwang-Bo J., Chung I.S., et al. Synthesis of double-layered rotavirus-like particles using internal ribosome entry site vector system in stably-transformed *Drosophila melanogaster*. *Biotechnol. Lett.* 2011; 33(1): 41–6. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0390-x>
- Laura A., Palomares O.T.R. Challenges for the production of virus-like particles in insect cells: the case of rotavirus-like particles. *Biochem. Eng. J.* 2009; 45(3): 158–67. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.02.006>
- Changotra H., Vij A. Rotavirus virus-like particles (RV-VLPs) vaccines: An update. *Rev. Med. Virol.* 2017; 27(6). <https://doi.org/10.1002/rmv.1954>
- Istrate C., Hinkula J., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., Svensson L., et al. Parenteral administration of RF 8-2/6/7 rotavirus-like particles in a one-dose regimen induce protective immunity in mice. *Vaccine.* 2008; 26(35): 4594–601. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.05.089>
- Azevedo M., Vlasova A., Saif L. Human rotavirus virus-like particle vaccines evaluated in a neonatal gnotobiotic pig model of human rotavirus disease. *Expert Rev. Vaccines.* 2013; 12(2): 169–81. <https://doi.org/10.1586/erv.13.3>
- El-Attar L., Oliver S.L., Mackie A., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., et al. Comparison of the efficacy of rotavirus VLP vaccines to a live homologous rotavirus vaccine in a pig model of rotavirus disease. *Vaccine.* 2009; 27(24): 3201–8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.03.043>
- Kurokawa N., Robinson M.K., Bernard C., Kawaguchi Y., Koujin Y., Koen A., et al. Safety and immunogenicity of a plant-derived rotavirus-like particle vaccine in adults, toddlers and infants. *Vaccine.* 2021; 39(39): 5513–23. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.08.052>

REFERENCES

- Hallowell B.D., Chavers T., Parashar U., Tate J.E. Global estimates of rotavirus hospitalizations among children below 5 years in 2019 and current and projected impacts of rotavirus vaccination. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2022; 11(4): 149–58. <https://doi.org/10.1093/jpids/piab114>

2. Troeger C., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Blacker B.F., Ahmed T., et al. Rotavirus vaccination and the global burden of rotavirus diarrhea among children younger than 5 years. *JAMA Pediatr.* 2018; 172(10): 958–65. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.1960>
3. State report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2022». Moscow; 2023. (in Russian)
4. Omatola C.A., Olaniran A.O. Rotaviruses: from pathogenesis to disease control – a critical review. *Viruses.* 2022; 14(5): 875. <https://doi.org/10.3390/v14050875>
5. Vetter V., Gardner R.C., Debrus S., Benninghoff B., Pereira P. Established and new rotavirus vaccines: a comprehensive review for healthcare professionals. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2022; 18(1): 1870395. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1870395>
6. Ivashchkin A.A., Yuzhakov A.G., Grebennikova T.V., Yuzhakova K.A., Kulikova N.Y., Kisteneva L.B., et al. Genetic diversity of group A rotaviruses in Moscow in 2018–2019. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 691–702. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04534-5>
7. Yuzhakov A., Yuzhakova K., Kulikova N., Kisteneva L., Cherepushkin S., Smetanina S., et al. Prevalence and genetic diversity of group A rotavirus genotypes in Moscow (2019–2020). *Pathogens.* 2021; 10(6): 674. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060674>
8. Namazova-Baranova L.S., Fedoseenko M.V., Kalyuzhnaya T.A., Shkhtakhtinskaya F.Ch., Tolstova S.V., Sel'vyan A.M. New possibilities of preventive immunization for rotavirus infection in Russian Federation. Overview of the innovative rotavirus vaccine profile. *Pediatricheskaya farmakologiya.* 2022; 19(6): 492–502. <https://doi.org/10.15690/pf.v19i6.2489> <https://elibrary.ru/zrbuqq> (in Russian)
9. Rotavirus vaccines: WHO position paper – July 2021. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2021; 96(28): 301–20.
10. Skansberg A., Sauer M., Tan M., Santosham M., Jennings M.C. Product review of the rotavirus vaccines ROTASHIL, ROTAVAC, and Rotavin-M1. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2021; 17(4): 1223–34. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1804245>
11. Cherepushkin S.A., Tsibezov V.V., Yuzhakov A.G., Latyshev O.E., Alekseev K.P., Altaeva E.G., et al. Synthesis and characterization of human rotavirus A (Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus: Rotavirus A) virus-like particles. *Voprosy virusologii.* 2021; 66(1): 55–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-27> <https://elibrary.ru/eersag> (in Russian)
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes; 2010.
13. Latyshev O.E., Eliseeva O.V., Kostina L.V., Alekseev K.P., Khametova K.M., Altaeva E.G., et al. Assessment of immunogenic activity of the cloned human rotavirus A WA strain. *Voprosy virusologii.* 2019; 64(4): 156–64. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-156-164> <https://elibrary.ru/sekbyy> (in Russian)
14. Filatov I.E., Tsibezov V.V., Balandina M.V., Norkina S.N., Latyshev O.E., Eliseeva O.V., et al. Virus-like particles based on rotavirus A recombinant VP2/VP6 proteins for assessment the antibody immune response by ELISA. *Voprosy virusologii.* 2023; 68(2): 161–71. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-169> <https://elibrary.ru/aywqhn> (in Russian)
15. Stepanova O.I., Karkishchenko V.N., Klesov R.A., Stankova N.V., Agel'dinov R.A., Savina M.A. Method for separating lymphoid cells (mononuclear cells) from the blood of mini-pigs. *Biomeditsina.* 2020; 16(3): 54–9. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-54-59> <https://elibrary.ru/ggmjvjo> (in Russian)
16. Estes M.K., Crawford S.E., Penaranda M.E., Petrie B.L., Burns J.W., Chan W.K., et al. Synthesis and immunogenicity of the rotavirus major capsid antigen using a baculovirus expression system. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1488–94. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.5.1488-1494.1987>
17. Li T., Lin H., Zhang Y., Li M., Wang D., Che Y., et al. Improved characteristics and protective efficacy in an animal model of E. coli-derived recombinant double-layered rotavirus virus-like particles. *Vaccine.* 2014; 32(17): 1921–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.01.093>
18. Rodríguez-Limas W.A., Tyo K.E., Nielsen J., Ramírez O.T., Palomares L.A. Molecular and process design for rotavirus-like particle production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb. Cell. Fact.* 2011; 10: 33. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-33>
19. Kurokawa N., Lavoie P.O., D'Aoust M.A., Couture M.M., Dargis M., Trépanier S., et al. Development and characterization of a plant-derived rotavirus-like particle vaccine. *Vaccine.* 2021; 39(35): 4979–87. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.07.039>
20. Molinari P., Peralta A., Taboga O. Production of rotavirus-like particles in Spodoptera frugiperda larvae. *J. Virol. Methods.* 2008; 147(2): 364–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.09.002>
21. Lee J.M., Chung H.Y., Kim K.I., Yoo K.H., Hwang-Bo J., Chung I.S., et al. Synthesis of double-layered rotavirus-like particles using internal ribosome entry site vector system in stably-transformed *Drosophila melanogaster*. *Biotechnol. Lett.* 2011; 33(1): 41–6. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0390-x>
22. Laura A., Palomares O.T.R. Challenges for the production of virus-like particles in insect cells: the case of rotavirus-like particles. *Biochem. Eng. J.* 2009; 45(3): 158–67. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.02.006>
23. Changotra H., Vij A. Rotavirus virus-like particles (RV-VLPs) vaccines: An update. *Rev. Med. Virol.* 2017; 27(6). <https://doi.org/10.1002/rmv.1954>
24. Istrate C., Hinkula J., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., Svensson L., et al. Parenteral administration of RF 8-2/6/7 rotavirus-like particles in a one-dose regimen induce protective immunity in mice. *Vaccine.* 2008; 26(35): 4594–601. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.05.089>
25. Azevedo M., Vlasova A., Saif L. Human rotavirus virus-like particle vaccines evaluated in a neonatal gnotobiotic pig model of human rotavirus disease. *Expert Rev. Vaccines.* 2013; 12(2): 169–81. <https://doi.org/10.1586/erv.13.3>
26. El-Attar L., Oliver S.L., Mackie A., Charpilienne A., Poncet D., Cohen J., et al. Comparison of the efficacy of rotavirus VLP vaccines to a live homologous rotavirus vaccine in a pig model of rotavirus disease. *Vaccine.* 2009; 27(24): 3201–8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.03.043>
27. Kurokawa N., Robinson M.K., Bernard C., Kawaguchi Y., Koujin Y., Koen A., et al. Safety and immunogenicity of a plant-derived rotavirus-like particle vaccine in adults, toddlers and infants. *Vaccine.* 2021; 39(39): 5513–23. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.08.052>

Информация об авторах:

Костина Людмила Владимировна  – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: lvkostina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9556-1454>

Филатов Илья Евгеньевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: filat69rus@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5274-224X>

Елисеева Олеся Васильевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: olesenka80@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0723-9749>

Латышев Олег Евгеньевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией иммунологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: oleglat80@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5757-3809>

Чернорыж Яна Юрьевна – канд. мед. наук, научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0001-9848-8515>

Юрлов Кирилл Иванович – научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>

Леснова Екатерина Ивановна – научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Хаметова Кизхалум Маликовна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории средств специфической профилактики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kizkhalum@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8461-600X>

Черепушкин Станислав Андреевич – научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: cherepushkin1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1734-5369>

Савочкина Татьяна Евгениевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: tasavochkina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4366-8476>

Цибезов Валерий Владимирович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории средств специфической профилактики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: tsibezov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2150-5764>

Крышень Кирилл Леонидович – канд. биол. наук, руководитель отдела специфической токсикологии и микробиологии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., п. Кузьмолловский, Россия. E-mail: kryshen.kl@doclinika.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>

Алексеева Любовь Игоревна – младший научный сотрудник отдела специфической токсикологии и фармакодинамики, руководитель исследований АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., п. Кузьмолловский, Россия. E-mail: alekseeva.li@doclinika.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6510-9897>

Зайкова Ольга Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия; научный сотрудник АНО «НИИ ДПБ», Москва, Россия. E-mail: zaykova_o_n@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4708-2069>

Гребенникова Татьяна Владимировна – д-р биол. наук, профессор, чл-корр. РАН, зав. лабораторией молекулярной диагностики, руководитель Испытательного центра ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, заместитель директора по науке Института вирусологии им. Д.И. Ивановского, Москва, Россия. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Участие авторов: Костина Л.В., Филатов И.Е. – проведение экспериментов, подготовка текста; Елисеева О.В., Латышев О.Е., Чернорыж Я.Ю., Черепушкин С.А., Зайкова О.Н. – сбор, анализ и интерпретация данных; Юрлов К.И., Леснова Е.И., Хаметова К.М., Савочкина Т.А., Цибезов В.В. – проведение экспериментов; Крышень К.Л., Алексеева Л.И., Гребенникова Т.В. – концепция и дизайн исследования, редактирование окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 11.09.2023

Принята в печать 20.10.2023

Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Ludmila V. Kostina  – PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: lvkostina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9556-1454>

Ilya E. Filatov – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: filat69rus@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5274-224X>

Olesya V. Eliseeva – PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: olesenka80@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0723-9749>

Oleg E. Latyshev – PhD, Head Laboratory of Immunology, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: oleglat80@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5757-3809>

Yana Yu. Chernoryzh – PhD, Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0001-9848-8515>

Kirill I. Yurlov – Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>

Ekaterina I. Lesnova – Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Kizkhalum M. Khametova – PhD, Researcher, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: kizkhalum@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8461-600X>

Stanislav A. Cherepushkin – Researcher at the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: cherepushkin1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1734-5369>

Tatyana E. Savochkina – Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: tasavochkina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4366-8476>

Valery V. Tsibezov – PhD, Leading Researcher, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: tsibezov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2150-5764>

Kirill L. Kryshen – PhD, head of specific toxicity and microbiology department RMC «HOME OF PHARMACY» JSC, Leningrad region, Kuzmolovsky village, Russia. E-mail: kryshen.kl@doclinika.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>

Liubov I. Alekseeva – study director RMC «HOME OF PHARMACY» JSC, Leningrad region, Kuzmolovsky village, Russia. E-mail: alekseeva.li@doclinika.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6510-9897>

Olga N. Zaykova – PhD, senior researcher, Laboratory of Molecular Diagnostics in FSBI «National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation», researcher in Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal diseases, Moscow, Russia. E-mail: zaykova_o_n@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0003-4708-2069>

Tatyana V. Grebennikova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Corresponding Member RAS, Head Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Contribution: Kostina L.V., Filatov I.E. – performing the experiments, composing of the article; Eliseeva O.V., Latyshev O.E., Chernoryzh Ya.Yu., Cherepushkin S.A., Zaykova O.N. – collecting, analyzing and interpreting the data; Yurlov K.I., Lesnova E.I. Khametova K.M., Savochkina T.E., Tsibezov V.V. – performing the experiments, Kryshen K.L., Alekseeva L.I., Grebennikova T.V. – concept and design of the research, editing the final version of the article for its publication.

Received 11 September 2023

Accepted 23 October 2023

Published 31 October 2023

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-195>

© ИВИН Ю.Ю., БУТУСОВА А.А., ГЛАДНЕВА Е.Е., КОЛОМИЙЦЕВА Г.Я., ХАПЧАЕВ Ю.Х., ИШМУХАМЕТОВ А.А., 2023



Роль белков L и 2A вируса энцефаломиокардита типа 1 в ингибировании синтеза клеточных белков и накоплении вирусных белков при инфекции

Ивин Ю.Ю.¹✉, Бутусова А.А.¹, Гладнева Е.Е.¹, Коломийцева Г.Я.², Хапчаев Ю.Х.¹, Ишмухаметов А.А.^{1,3}

¹ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, г. Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119234, г. Москва, Россия;

³Институт трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 117418, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Инфицирование клеток вирусом энцефаломиокардита типа 1 (EMCV-1, *Cardiovirus A: Picornaviridae*) сопровождается подавлением синтеза клеточных белков. Главную роль в ингибировании клеточной трансляции отводят «секьюрити»-белкам L и 2A. Механизм возможного влияния белка L на клеточную трансляцию неизвестен. Существуют гипотезы о механизме влияния белка 2A на эффективность кэп-зависимой трансляции, которые основаны на его взаимодействии с факторами трансляции и субъединицами рибосом. Экспериментальные данные противоречивы и не позволяют сформулировать единую модель взаимодействия белков L и 2A с трансляционным аппаратом клетки.

Цель. Изучить роль «секьюрити»-белков L и 2A в подавлении трансляции клеточных белков и эффективности трансляции и процессинга вирусных белков зараженных клеток.

Материалы и методы. Для исследования свойств вирусных белков L и 2A получены мутантные варианты EMCV-1: *Zfmut*, имеющий дефектный белок L; $\Delta 2A$, кодирующий частично делетированный белок 2A; *Zfmut*& $\Delta 2A$, содержащий мутации в обоих белках. Течение трансляционных процессов в зараженных клетках изучали с помощью вестерн-блот-гибридизации и пульс-метода включения радиоактивно меченных аминокислот (¹⁴C) в новосинтезированные белки.

Результаты. Функциональная инактивация белка 2A не влияет на ингибирование синтеза клеточных белков. Обнаружена прямая корреляция между наличием активного белка L и специфической инактивацией синтеза клеточных белков на раннем этапе вирусной инфекции. На поздних стадиях инфекции происходит неспецифическое подавление трансляционных процессов зараженной клетки, сопровождающееся фосфорилированием eIF2 α . Частичное удаление белка 2A из генома EMCV-1 не влияет на течение этого процесса, в то время как инактивация белка L ускоряет наступление полного ингибирования синтеза белков. При частичной делеции белка 2A нарушается процессинг белков вирусного капсида. Подавление функций белка L приводит к снижению эффективности вирусной трансляции.

Заключение. Белок 2A не влияет на ингибирование трансляции в клетках HeLa. Белок L играет важную роль не только в специфическом ингибировании клеточной трансляции, но и в поддержании эффективного синтеза вирусных белков. Белок 2A принимает участие не только в первичном, но и во вторичном процессинге капсидных белков EMCV-1.

Ключевые слова: EMCV; «секьюрити»-белки; лидерный белок L; 2A; ингибирование трансляции; процессинг

Для цитирования: Ивин Ю.Ю., Бутусова А.А., Гладнева Е.Е., Коломийцева Г.Я., Хапчаев Ю.Х., Ишмухаметов А.А. Роль белков L и 2A вируса энцефаломиокардита типа 1 в ингибировании синтеза клеточных белков и накоплении вирусных белков при инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 428–444. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-195> EDN: <https://elibrary.ru/eeiuhq>

Финансирование. Работа выполнена на средства в рамках выполнения темы Государственного задания (тема № ФНЗГ-2022-0001 «РНК-содержащие вирусы: фундаментальные аспекты взаимодействия с клеткой, репликации, эволюции и молекулярной эпидемиологии»).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-195>

The role of the encephalomyocarditis virus type 1 proteins L and 2A in the inhibition of the synthesis of cellular proteins and the accumulation of viral proteins during infection

Yury Yu. Ivin¹✉, Anna A. Butusova¹, Ekaterina E. Gladneva¹, Galina Ya. Kolomijtseva², Yusuf K. Khapchaev¹, Aydar A. Ishmukhametov^{1,3}¹Federal State Autonomous Scientific Institution M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs of the Russian Academy of Sciences (Polio Institute), 108819, Moscow, Russia;²A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU, 119234, Moscow, Russia;³Institute for Translational Medicine and Biotechnology, Sechenov First Moscow State Medical University, 117418, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Infection of cells with encephalomyocarditis virus type 1 (EMCV-1, *Cardiovirus A: Picornaviridae*) is accompanied by suppression of cellular protein synthesis. The main role in the inhibition of cellular translation is assigned to the L and 2A «security» proteins. The mechanism of the possible influence of the L protein on cellular translation is unknown. There are hypotheses about the mechanism of influence of 2A protein on the efficiency of cap-dependent translation, which are based on interaction with translation factors and ribosome subunits. However, the available experimental data are contradictory, obtained using different approaches, and do not form a unified model of the interaction between the L and 2A proteins and the cellular translation machinery.

Aim. To study the role of L and 2A «security» proteins in the suppression of translation of cellular proteins and the efficiency of translation and processing of viral proteins in infected cells.

Materials and methods. Mutant variants of EMCV-1 were obtained to study the properties of L and 2A viral proteins: *Zfmut*, which has a defective L; Δ 2A encoding a partially deleted 2A; *Zfmut& Δ 2A* containing mutations in both proteins. Translational processes in infected cells were studied by Western-blot and the pulse method of incorporating radioactively labeled amino acids (¹⁴C) into newly synthesized proteins, followed by radioautography.

Results. The functional inactivation of the 2A protein does not affect the inhibition of cellular protein synthesis. A direct correlation was found between the presence of active L protein and specific inactivation of cellular protein synthesis at an early stage of viral infection. Nonspecific suppression of the translational processes of the infected cell, accompanied by phosphorylation of eIF2 α , occurs at the late stage of infection. Partial removal of the 2A protein from the EMCV-1 genome does not affect the development of this process, while inactivation of the L protein accelerates the onset of complete inhibition of protein synthesis. Partial deletion of the 2A disrupts the processing of viral capsid proteins. Suppression of L protein functions leads to a decrease in the efficiency of viral translation.

Conclusion. A study of the role of EMCV-1 L and 2A proteins during the translational processes of an infected cell, first performed using infectious viral pathogens lacking active L and 2A proteins in one experiment, showed that 2A protein is not implicated in the inhibition of cellular translation in HeLa cells; L protein seems to play an important role not only in the specific inhibition of cellular translation but also in maintaining the efficient synthesis of viral proteins; 2A protein is involved not only in primary but also in secondary processing of EMCV-1 capsid proteins.

Keywords: EMCV-1; *cardioviruses*; *picornaviruses*; «security» proteins; leader protein; 2A; translation inhibition; processing

For citation: Ivin Yu.Yu., Butusova A.A., Gladneva E.E., Kolomijtseva G.Ya., Khapchaev Yu.K., Ishmukhametov A.A. The role of encephalomyocarditis virus type 1 proteins L and 2A in the inhibition of the synthesis of cellular proteins and the accumulation of viral proteins during infection. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(?): 428–444 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-195> EDN: <https://elibrary.ru/eeiuhq>

Funding. The study was supported by the State Assignment (project no. FNZG-2022-0001 «RNA-containing viruses: fundamental aspects of interaction with the cell, replication, evolution, and molecular epidemiology»)

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

Вирусы являются внутриклеточными паразитами, которые используют энергетические и синтетические системы клетки-хозяина для осуществления собственного размножения. Не является исключением также и клеточная система синтеза белков. В ходе развития вирусных инфекций в клеточных лини-

ях и организмах накопление вирусных структурных и неструктурных белков осуществляется за счет использования клеточных рибосом. Как правило, при этом трансляционный аппарат хозяина подвергается воздействию со стороны вирусов. Более того, данное воздействие может быть использовано вирусным агентом для контроля синтеза клеточных белков с целью ограничения работы систем врожденного

иммунитета. Серотип вируса энцефаломиокардита (EMCV) типа 1 (EMCV-1) принадлежит к виду *Cardiovirus A* рода *Cardiovirus* семейства *Picornaviridae*¹. Род включает в себя несколько представителей вирусов позвоночных животных: EMCV, вирус энцефаломиелита мышей Тейлера (TMEV), кардио-вирусы полевок, а также два представителя вирусов человека: вирус Саффорд (SAFV) и вирус вилюйского энцефалита (VHEV), который в последние годы идентифицировали как представителя этого рода [1]. Известно, что SAFV может поражать нервную, сердечно-сосудистую и эндокринную системы человека и вызывать энтерит, миокардит и, предположительно, рассеянный склероз [2, 3]. VHEV изучен слабо, однако исследователи предполагают, что он вызывает тяжелые нейродегенеративные заболевания человека [4]. Вирусы EMCV и TMEV являются модельными представителями рода, широкое и всестороннее изучение которых поможет в понимании функционирования остальных представителей. Серотипы EMCV инфицируют множество позвоночных животных разных отрядов; более того, описаны случаи заражения человека [5], что делает этот модельный вирус еще более привлекательным для изучения. EMCV имеет икосаэдрический капсид диаметром 27–30 нм и геном размером 7,5 т.н., который кодирует полипротеин, подвергающийся поэтапному процессингу на 12 отдельных белков, один дополнительный белок кодируется в альтернативной рамке считывания [5]. Геном EMCV имеет структурированный участок РНК в 5'-нетранслируемой области, который ответственен за связывание с рибосомальным комплексом, – внутренний участок посадки рибосом (IRES) II типа [5]. Он позволяет протекать процессу синтеза вирусного полипротеина по иному механизму, чем тот, по которому синтезируется подавляющее большинство белков клеток-хозяина.

Классический кэп-зависимый механизм инициации трансляции эукариот заключается в том, что узнавание клеточной мРНК и вовлечение ее в инициаторный комплекс 43S/мРНК происходит благодаря связыванию 5'-концевой структуры кэпа m⁷G с комплексом eIF4F. Этот комплекс состоит из кэп-связывающего фактора eIF4E, РНК-хеликазы eIF4A и белка eIF4G, связывающего несколько факторов и формирующего мостик между РНК и рибосомой. Помимо этого, для инициации трансляции и связывания мРНК необходимо привлечение eIF4B, eIF4H и поли-А-связывающего белка (PABP). Формирование комплекса 43S, второй части инициаторного комплекса 43S/мРНК, проходит путем ассоциации малой субъединицы рибосомы 40S с факторами eIF1, eIF1A, eIF3, eIF5, а также важнейшего фактора eIF2, переносящего комплекс инициаторной аминокислоты Мет-тРНК [6]. Гуанозинтрифосфат (GTP), связанный с eIF2-Мет-тРНК, гидролизует после формирования комплекса 43S, и комплекс eIF2 с гуанозиндифосфатом (GDP) высвобождается. Для дальнейшего связывания eIF2-

GDP с Мет-тРНК и начала нового раунда инициации трансляции необходим обмен GDP на GTP, который осуществляет белок eIF2B [7]. Один из способов контроля уровня синтеза белков заключается в изменении статуса фосфорилирования субъединицы α фактора eIF2 по остатку серина-57. Фосфорилированная форма eIF2-GDP (eIF2 α -P) превращается из субстрата eIF2B в ингибитор, таким образом содержание активированного комплекса eIF2-GTP резко сокращается [7]. В эукариотических клетках фосфорилирование eIF2 α осуществляют четыре известные киназы, активирующиеся при различных видах стресса или сигнала: PKR, PERK, GCN2 и HRI [8, 9].

Для инициации белкового синтеза по IRES-зависимому механизму с участием пикорнавирусной РНК, лишенной кэп-структуры m⁷G, кэп-связывающий фактор eIF4E не является необходимым [10]. Более того, для инициации синтеза пикорнавирусных белков не является необходимым связывание поли-А-хвоста генома с PABP и формирование кольцевой структуры 43S/RNA. Существуют четыре известных типов IRES, различающиеся по структуре и клеточным факторам инициации, необходимым для формирования инициаторного комплекса. Наиболее распространенные типы IRES пикорнавирусов I (представители рода *Enterovirus*) и II (представители родов *Aphthovirus* и *Cardiovirus*) нуждаются в факторах eIF1, eIF1A, eIF2, eIF3, eIF5, eIF4A, eIF4B [11]. Также необходимым является наличие С-концевой части eIF4G, ответственной за связывание eIF3, eIF4A, eIF4B и вирусной (+) РНК. Избирательное подавление синтеза клеточных белков в ходе инфекции становится возможным благодаря подобному альтернативному механизму инициации трансляции [12, 13].

Необходимо отметить, что клеточные механизмы контроля трансляции могут управлять и синтезом вирусных белков, являясь частью противовирусного иммунитета. К примеру, фосфорилирование eIF2 α блокирует синтез не только клеточных белков, но и белков EMCV-1 [14].

Известные механизмы избирательного подавления клеточной трансляции при пикорнавирусной инфекции основываются на различии в необходимом наборе инициаторных факторов для кэп- и IRES-зависимой инициации трансляции. Эти механизмы, как правило, связаны с активностью белков L и 2A. Они входят в особую разнообразную группу неструктурных белков, называемых «секьюрити»-белками или факторами вирулентности. В полипротеине L и 2A фланкируют белки капсида [15]. Так, протеазы 2A^{pro} представителей рода *Enterovirus* и L^{pro} рода *Aphthovirus* расщепляют фактор инициации eIF4G, отделяя N-конец, который содержит сайты связывания eIF4E и PABP, и лишая возможности клеточным мРНК ассоциироваться с eIF4F посредством структуры кэпа m⁷G и поли-А-хвоста [16–18]. Более того, белок 2A^{pro} энтеровирусов в ходе инфекции вызывает деградацию PABP [19]. Этот набор реакций в ходе инфекции приводит к избирательному подавлению кэп-зависимой трансляции. Среди «секьюрити»-белков представителей

¹The Picornaviridae Pages. Available at: <https://picornaviridae.com/>

рода *Cardiovirus* отсутствуют указанные протеазы, у L и 2A не обнаружены какие-либо виды протеолитической активности, однако подавление трансляции клетки-хозяина при этом имеет место [20]. Это подавление не связано с расщеплением факторов инициации eIF4G и PABP, что свидетельствует об альтернативном механизме ингибирования синтеза клеточных белков. Однако роль в ингибировании приписывают также «секьюрити»-белкам L и 2A [21, 22].

Лидерный белок L EMCV состоит из 67 аминокислотных остатков и имеет в составе функциональный домен Zn-палец [23], связывающий ион Zn^{2+} в качестве лиганда, и кислотный домен, подвергающийся фосфорилированию клеточными киназами [24]. Показано, что домен Zn-палец ответственен за подавление апоптотической программы в клетках HeLa [25], принимает участие в фосфорилировании нуклеопоринов и нарушении ядерно-цитоплазматического транспорта [26], в подавлении синтеза интерферонов- α/β [27].

Белки 2A представителей рода *Cardiovirus*, и EMCV в частности, также имеют несколько функциональных доменов. На границе между белками 2A и 2B расположен мотив NPG(P), по которому происходит котрансляционный разрыв полипептидной цепи, что играет ключевую роль в первичном процессинге полипротеина – в ходе синтеза происходит отделение предшественника L-P1-2A от остальных неструктурных белков [28]. В ранних исследованиях в составе белка 2A был предсказан сигнал ядерной локализации (с 94 по 102 а.о.) [21, 29]. Показано, что белок направляется в ядро и данный мотив играет, по-видимому, решающую роль. Однако недавно было обнаружено, что этот участок играет ключевую роль в функционировании белка 2A как трансактиватора –1 рибосомального сдвига при синтезе белков кардиовирусов [30]. Участок с 95 по 100 а.о. (для EMCV), названный аргининовой петлей, связывается с РНК-шпилькой, формирующейся в 5'-концевой области 2B-кодирующего фрагмента генома. Связывание белка 2A со шпилькой вызывает котрансляционный рибосомальный сдвиг рамки считывания в так называемом «скользком» сайте, который расположен перед шпилькой. Рибосомальный сдвиг вызывает образование белка 2B*, на котором заканчивается синтез полипептидной цепи. Показано, что запуск рибосомального сдвига коррелирует с накоплением белка 2A в клетке и происходит через 4–8 ч после начала инфекции. Таким образом, белок 2A функционирует как переключатель уровня синтеза белков, которые располагаются на 3'-конце генома [30–33].

Существует множество гипотез и свидетельств вероятного участия белков L и 2A EMCV в модификации трансляционного аппарата клеток. Эксперименты в клеточных линиях ВНК-21 и L929 с вирусом с частично deletированным белком L указывали на возможное участие этого белка в ингибировании клеточной трансляции: в отсутствие белка L была обнаружена задержка процесса подавления клеточного белкового синтеза [22]. Белку 2A посвящено большое число исследований, касающихся изучения его

возможной роли в ингибировании клеточной трансляции. Подтверждающие данные были обнаружены в экспериментах как *in vitro* (на модели изучения белкового синтеза с использованием репликонных конструкций [21]), так и *in vivo* (на вирусной модели в культуре клеток ВНК-21 [34]). В обоих случаях исследователи вносили делеции в последовательность белка 2A. Разработаны несколько моделей, которые пытаются объяснить возможную роль 2A в этом процессе. Одна из них основана на нарушении функционирования фактора инициации eIF4E, который не является необходимым для IRES-зависимой трансляции EMCV [11], причем предполагается несколько возможных сценариев влияния. По одному из них белок 2A может влиять на уровень фосфорилирования 4E-BP, что приводит к ингибированию eIF4E. Данный феномен был обнаружен в экспериментах в культуре клеток ВНК [34], но не был найден в других культурах [29]. По другому сценарию предполагается, что белок 2A напрямую связывается с eIF4E посредством С-концевого мотива, содержащего аминокислотные остатки с 126-го по 134-й, который аналогичен по составу с eIF4E-связывающим доменом 4E-BP [29]. Авторы предсказали указанный сайт связывания, а также получили результаты *in vitro* взаимодействия 2A и eIF4E, которое нарушалось при введении мутаций в потенциальный сайт связывания. Однако эксперименты с инфицированием клеток мутантными EMCV по предсказанному сайту показали отсутствие эффекта на клеточную трансляцию [29]. Более того, последние данные о структурных особенностях белка 2A продемонстрировали отсутствие гомологии между предполагаемым сайтом связывания белка 2A с eIF4E и таковым в составе белка 4E-BP [31, 33], что ставит под сомнение легитимность этой модели.

Альтернативная модель, объясняющая возможную роль 2A в процессе ингибирования клеточной трансляции, основана на взаимодействии белка 2A с рибосомальным комплексом. Потенциальное взаимодействие с субъединицами рибосом было установлено еще несколько десятилетий назад [35, 36], однако в последние годы эти данные были подтверждены кристаллографическими исследованиями, в которых выяснили, что белок 2A взаимодействует с рибосомальной РНК посредством РНК-связывающего домена, который участвует во взаимодействии со шпилькой при активации –1 рибосомального сдвига [31, 33]. Данная модель не объясняет механизм специфичного подавления клеточной трансляции.

Несмотря на обилие гипотез, которые могут объяснить вероятную роль белка 2A в подавлении клеточной трансляции, результаты разных исследователей противоречат друг другу. Механизм возможного влияния белка L на трансляционные процессы также остается неизвестным.

Цель исследования заключалась в уточнении роли «секьюрити»-белков L и 2A в подавлении трансляции клеточных белков, которая наблюдается при инфекции EMCV-1, а также роли этих белков в трансляции

вирусного генома. Для этого мы инактивировали оба белка L и 2A в геноме штамма Mengo EMCV-1, получив 3 мутантных вируса: два вируса имели мутацию по одному из белков; один – лишенный активных «секьюрити»-белков, был получен впервые. Такой подход позволяет изучать влияние этих белков в одних и тех же стандартных и контролируемых условиях.

Материалы и методы

Вирусы и клеточные культуры

В работе использовали клеточные культуры HeLa-V и ВНК-21. Клетки культивировали в питательной среде ДМЕМ, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Gibco), при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Вирус EMCV-1 штамма Mengo дикого типа (далее – *WT*) был получен путем трансфекции клеток ВНК-21 полногеномной вирусной РНК, образовавшейся после *in vitro* транскрипции плазмидной ДНК рМ16.1 [37]. Перед использованием в экспериментах *WT* был дважды пассирован в культуре клеток ВНК-21. Мутантный вариант вируса EMCV-1 *Zfmut*, кодирующий белок L с двумя аминокислотными заменами Cys19/Ala и Cys22/Ala, которые разрушают функциональный домен Zn-палец, был описан ранее и, как *WT*, получен из плазмидной ДНК рМ16.1Zfmut [25, 38]. Перед использованием в экспериментах мутантный вариант EMCV-1 *Zfmut* был дважды пассирован в культуре клеток ВНК-21. Мутантные варианты вируса EMCV-1 *Δ2A* и *Zfmut&Δ2A* были получены аналогичным образом из конструкций рМ16.2Δ2A и рМ16.1Zfmut&Δ2A соответственно. Перед использованием мутантные варианты *Δ2A* и *Zfmut&Δ2A* прошли последовательные три пассажа в культуре клеток ВНК-21, процедуру клонирования методом негативных колоний и два дополнительных пассажа после клонирования. Вирус *Δ2A* кодирует частично делетированный белок 2A (с 11 по 125 а.о.), *Zfmut&Δ2A* имеет описанные мутации в обоих белках L и 2A.

Плазмидные конструкции

рМ16.1 содержит полногеномную копию штамма Mengo серотипа EMCV-1 [37]. Конструкция рМ16.1Zfmut содержит полногеномную копию штамма Mengo, имеющего две аминокислотные замены Cys19/Ala и Cys22/Ala в последовательности белка L [27]. Конструкция рМ16.1Δ2A кодирует полногеномную копию штамма Mengo, имеющего делецию длиной 115 а.о. в последовательности белка 2A (с 11 по 125 а.о.). Конструкция была получена в рамках настоящей работы на основе рМ16.1. Для этого применяли прием «перекрывающейся» полимеразной цепной реакции (ПЦР): 1) амплификация двух фрагментов, кодирующих N-концевую и C-концевую фрагменты 2A с помощью соответствующих пар олигонуклеотидов («Синтол», Москва): Δ2A_1 (5'-CTCCCAAGCAAAGCAGCG-3') – Δ2A_2 (5'-TATGCAGGATACTTTTCAGATC-3') и Δ2A_3 (5'-CTGAAAAGTATCCTGATCAAGTTTAGAGACATCCAAAGGG-3') – Δ2A_4 (5'-

TCAAGACACAACCACTTGCC-3'); 2) лигирование получившихся двух ампликонов с помощью ПЦР благодаря комплементарным участкам с помощью концевых олигонуклеотидов Δ2A_1 и Δ2A_4. Полученный фрагмент, кодирующий делетированный белок 2A, был встроен в рМ16.1 с помощью обработки эндонуклеазами рестрикции AfII и SacII и последующим лигированием с помощью лигазы T4 (ThermoFisher Scientific, Литва). Конструкция рМ16.1Zfmut&Δ2A кодирует полногеномную копию штамма Mengo, имеющего описанные ранее модификации в белке L и 2A одновременно, была сконструирована аналогично на основе конструкции рМ16.1Zfmut.

In vitro транскрипция и трансфекция

Плазмидные ДНК рМ16.1, рМ16.1Zfmut, рМ16.1Δ2A и рМ16.1Zfmut&Δ2A были линейаризованы с помощью эндонуклеазы рестрикции BamHI и очищены с помощью набора QIAquick (Qiagen, США). Геномная РНК была транскрибирована с использованием РНК-полимеразы T7 (ThermoFisher Scientific, Литва). Полученные РНК трансфицировали в клетки ВНК-21 с помощью DEAE-декстранового метода (Promega, США). Клетки инкубировали при температуре 37 °С до деградации клеточного монослоя. Содержимое флаконов подвергали двукратной процедуре заморозки/разморозки при температуре –70 °С.

Пассирование вирусов, клонирование и титрование методом негативных колоний

Используемые вирусы пассировали в культуре клеток ВНК-21 при температуре 37 °С в течение 1–2 сут до полного разрушения монослоя. Доза заражения культуры клеток при проведении пассажей составляла от 0,1 до 1 бляшкообразующей единицы (БОЕ) на клетку. Титрование вирусов проводили с применением метода негативных колоний («бляшек») в культуре клеток ВНК-21 по ранее описанному протоколу [25]. Для клонирования вирусов, направленного на получение гомогенизированных пулов мутантов, использовали аналогичную процедуру, где вместо фиксации клетки прижизненно окрашивали раствором красителя нейтрального красного (0,02% в солевом растворе Эрла). Вирусные клоны из образованных негативных колоний отбирали и использовали для последующей работы.

Определение урожая вирусов

Клетки HeLa культивировали в 6-луночных планшетах в течение суток до достижения 70–80% конfluenceности монослоя. Клетки из нескольких лунок диспергировали с помощью растворов Версена и трипсина и проводили подсчет клеток с помощью цитометра. Перед заражением клеток среду роста удаляли, лунки промывали трижды средой ДМЕМ без сыворотки. В лунки наносили по 300 мкл вирусной суспензии с расчетом множественности заражения 40 БОЕ/кл и инкубировали клетки при комнатной температуре (КТ) в течение 30 мин. Лунки промывали дважды и добавляли по 1 мл среды ДМЕМ без сыворотки. После инкубации при температуре 37 °С в течение необходимого време-

ни проводили процедуру двукратной заморозки/разморозки среды с клетками и анализировали полученную суспензию титрованием методом негативных колоний.

Изучение белкового синтеза. Пульс-метод

Клетки HeLa культивировали в 12-луночных планшетах в течение суток до достижения 70–80% конfluenceности монослоя. Заражение клеток проводили с расчетом множественности заражения 40 БОЕ/кл. Внесение радиоактивной метки и получение радиоавтографов осуществляли по методике, описанной ранее [38].

Для оценки включения метки в новосинтезированные белки на разных стадиях инфицирования использовали сцинтилляционный счетчик. Для этого выровненные по содержанию β -актина лизаты клеток наносили на мембраны из фильтровальной бумаги. Мембраны высушивали и отмывали от невстроенных меченых аминокислот кипячением в течение 5 мин в растворе 10% уксусной кислоты и 20% этанола и последующим промыванием в 96% этаноле. Высушенные мембраны помещали в пробирки и обрабатывали 10 мл коктейля солибилизатора и сцинтиллятора Ultima Gold F (Perkin Elmer). После инкубации в течение 2 ч измеряли импульсы на сцинтилляционном счетчике. Полученные данные нормировали по показаниям встройки радиоактивно меченых аминокислот в белки незараженной культуры клеток.

Вестерн-блот-гибридизация

Клеточные лизаты, полученные в ходе экспериментов по анализу белкового синтеза, анализировали методом вестерн-блот-гибридизации для оценки содержания β -актина, фосфорилированной формы eIF2 α и вирусных белков. Для этого образцы разделяли в 12% полиакриламидном геле, переносили белковые компоненты на нитроцеллюлозную мембрану. Мембрану блокировали с помощью 5% раствора сухого обезжиренного молока в трис-буферном растворе (TBS-T, 50 mM TRIS pH 7,6, 150 mM NaCl, 0,05% Tween-20) в течение 1 ч и гибридовали с необходимыми антителами или поликлональной сывороткой в описанном растворе сухого молока. Все процедуры проводили при КТ. Для детекции β -актина использовали антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP) (Sigma, A5316, разведение 1 : 25 000). Для анализа уровня фосфорилирования eIF2 α применяли комбинацию из первичных кроличьих антител против p-eIF2 α (pSer51, разведение 1 : 1000, Sigma) и вторичных антител против иммуноглобулинов кролика, конъюгированных с HRP (разведение 1 : 2500, Promega). Для детекции вирусных белков EMCV-1 использовали комбинацию из поликлональной мышинной сыворотки, полученной ранее в лаборатории, и вторичных антител против иммуноглобулинов мыши, конъюгированных с HRP (разведение 1 : 2500, Promega). Результаты гибридации визуализировали с помощью набора ECL-Plus (Promega) и рентгеновской пленки (XBM x-ray Retina blue sensitive). Анализ изображений иммуноблотов проводили с помощью программы ImageJ.

Количественный ПЦР в режиме реального времени

Для оценки количества вирусной геномной РНК использовали метод количественного ПЦР в режиме реального времени (qPCR). Клетки для эксперимента выращивали в 12-луночных планшетах и инфицировали, как указано ранее. Процедуру проводили по методике, опубликованной ранее, с использованием олигонуклеотидов: MGVL1 (5'-CGTAGGAATGCGTAGAACA-3'), MGVR1 (5'-AGCTCGTCCTTGAGGAATGT-3'), MGVP1 (5'-6-FAM-TGGGAAACCGCCACTCTTATCC-BHQ1-3') в качестве флуоресцентной пробы [25].

Результаты

Получение и фенотипическая характеристика мутантных вирусов с делецией в белке 2A

Для проведения исследований использовали вирусные пулы *WT* и *Zfmut*, которые прошли 3 пассажа на культуре клеток ВНК-21 и были подробно охарактеризованы ранее [25, 26, 38].

Мутантные вирусы *$\Delta 2A$* и *Zfmut $\Delta 2A$* , имеющие частично делетированный белок 2A (рис. 1 а), в первом пассаже после трансфекции имели неоднородный фенотип негативных колоний, что может свидетельствовать о генетической неоднородности полученных пулов. Для достижения гомогенной популяции по фенотипу проводили дополнительные пассажи в культуре клеток ВНК-21 (рис. 1 б). Необходимо отметить, что оба полученных вируса в процессе пассирования адаптировались к культуре, средний размер негативных колоний увеличился, они стали более гомогенными по размеру. Для отбора генетически однородной популяции вирусы *$\Delta 2A$* и *Zfmut $\Delta 2A$* после 4 пассажей клонировали методом негативных колоний на монослойной культуре клеток ВНК-21. Отдельные клоны размножали для получения рабочих пулов на культуре клеток ВНК-21 в течение 2 пассажей.

Полногеномное секвенирование полученных пулов вирусов по методу Сэнгера подтвердило наличие искомой делеции у мутантных вирусов *$\Delta 2A$* и *Zfmut $\Delta 2A$* , а также выявило аминокислотную замену в положении 99 белка VP2 (VP2Thr99/Ala). Данная мутация была обнаружена во всех клонах вирусов *$\Delta 2A$* и *Zfmut $\Delta 2A$* . Секвенирование мутантных вирусов разных пассажей до клонирования выявило постепенное вытеснение из популяции Thr99 на Ala99. Секвенирование *WT* и *Zfmut* показало появление данной мутации в части популяции, начиная с 4-го пассажа в клетках ВНК-21.

Аминокислотный остаток Ala/Thr99 белка VP2 занимает место в выпетливании полипептидной цепи на границе двух капсомеров, состоящих из белков VP1, VP2 и VP3 (рис. 2 а). Для характеристики влияния обнаруженной мутации был получен вирус EMCV дикого типа с заменой Thr99/Ala в белке VP2 (*VP2 Thr99Ala*). Мы не обнаружили изменений в репродуктивном цикле (рис. 2 б) и фенотипе негативных колоний (данные не приведены) по сравнению с вирусом дикого типа (*WT*). Биоинформатический анализ геномов EMCV показал, что аминокислотный остаток Ala в позиции 99 встречается в пода-

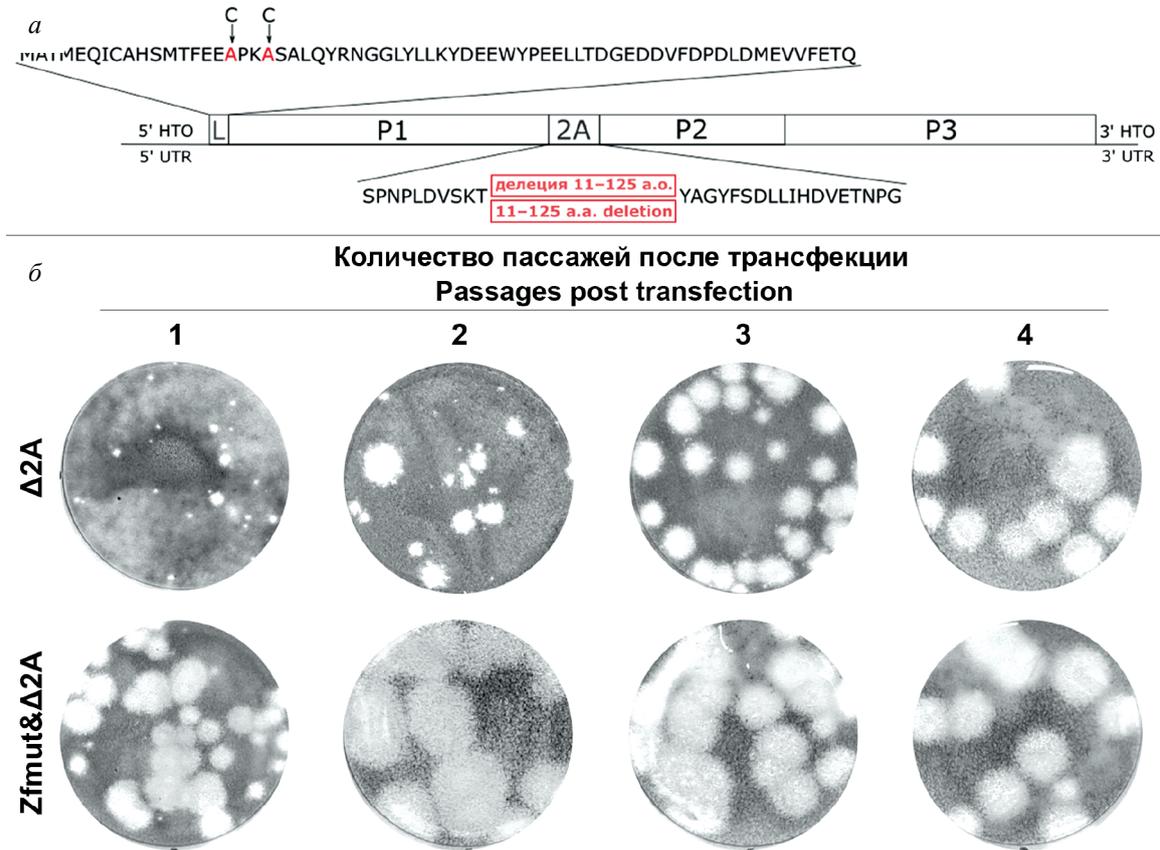


Рис. 1. Схема мутаций, внесенных в последовательность белков L и 2A вируса EMCV-1 для получения мутантных вирусов *Zfmut*, $\Delta 2A$ и *Zfmut&\Delta 2A* (а); изменение фенотипа негативных колоний полученных мутантных вирусов $\Delta 2A$ и *Zfmut&\Delta 2A* в ходе проведения пассажей на культуре клеток ВНК-21 (б).

Fig. 1. Scheme of mutations introduced into the sequence of L and 2A proteins of the EMCV-1 to obtain mutant viruses *Zfmut*, $\Delta 2A$ and *Zfmut&\Delta 2A* (a); Changes in the plaque phenotype of the obtained mutant viruses $\Delta 2A$ and *Zfmut&\Delta 2A* during passages on BHK-21 cell culture (b).

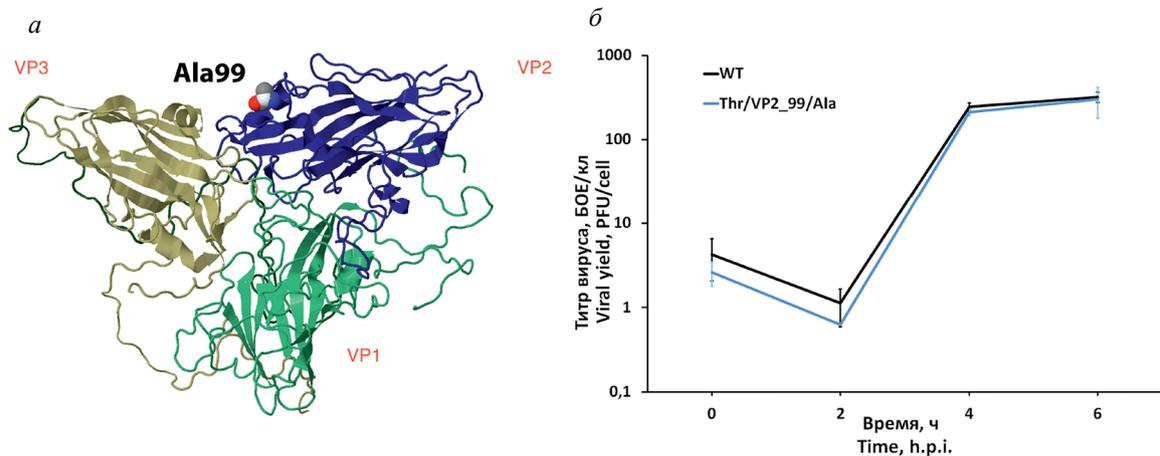


Рис. 2. Положение аминокислотного остатка в позиции № 99 белка VP2 (а); сравнение циклов репродукции EMCV-1 дикого типа (WT) и мутантного вируса с аминокислотной заменой треонина на аланин в положении 99 белка VP2 (Thr/VP2_99/Ala) (б).

Fig. 2. The location of the amino acid residue at position 99 of the VP2 protein (a). Comparison of the reproduction cycles of wild-type EMCV-1 (WT) and mutant virus with the amino acid substitution of threonine for alanine at position 99 of the VP2 protein (Thr/VP2_99/Ala) (b).

вляющем большинстве изолятов и штаммов, кроме двух последовательностей штамма Mengo (изолят М и Rz-pMwt), на основе которых была получена плазмидная конструкция рМ16.1, использованная

в работе [38]. По всей вероятности, диким генотипом можно считать VP2_Ala99, а в изоляте М произошла адаптационная замена Ala на Thr. В дальнейшем пассирование вирусов, полученных на основе

последовательности изолята М, в культуре клеток ВНК-21 приводило к возвращению исходного варианта. Обратная аминокислотная замена происходила быстрее в мутантных вирусах ($\Delta 2A$ и $Zfmut\&\Delta 2A$). Таким образом, аминокислотная замена в белке VP2 в полученных мутантных вирусах $\Delta 2A$ и $Zfmut\&\Delta 2A$, по-видимому, способствовала повышению их жизнеспособности, но не оказывает влияния на жизнеспособность при введении в *WT*.

Характеристика репродукции мутантных вирусов в клетках HeLa

Изучение свойств полученных мутантных вирусов $\Delta 2A$ и $Zfmut\&\Delta 2A$ выявило значимые различия в продукции инфекционных вирусных частиц при заражении клеточной культуры HeLa в сравнении с вирусом *WT* (рис. 3 а).

Наибольшую способность к репродукции проявлял вирус *WT*. Через 8 ч после начала инфицирования число инфекционных доз достигало $236,2 \pm 95,2$ БОЕ на 1 клетку. Инактивация одного из белков L или 2A (мутантные вирусы $Zfmut$ и $\Delta 2A$ соответственно) приводила приблизительно к 5-кратному снижению количества инфекционных частиц: $46,1 \pm 14,7$ БОЕ/кл у $Zfmut$ и $73,1 \pm 46,9$ БОЕ/кл у $\Delta 2A$. Лишение вируса обоих функциональных «секьюрити»-белков приводило к более чем 20-кратному снижению урожая вируса до $8,4 \pm 4,7$ БОЕ/кл.

Количественный анализ содержания вирусной РНК показал, что инактивация белка L привела к сниже-

нию накопления геномной РНК EMCV-1 в клетках HeLa. Уровень вирусной РНК в клетках, зараженных $Zfmut$ и $Zfmut\&\Delta 2A$, оказался существенно ниже через 6 ч после начала инфекции, чем в случае инфекции *WT* (рис. 3 б). Частичная делеция белка 2A не привела к изменению накопления вирусной РНК, как при интактном белке L, в случае мутанта $\Delta 2A$, так и при инактивированном L – $Zfmut\&\Delta 2A$.

Таким образом, снижение продукции инфекционных частиц $Zfmut$ и $Zfmut\&\Delta 2A$ относительно *WT* можно объяснить снижением накопления вирусной РНК. Однако снижение репродуктивной способности $\Delta 2A$ и $Zfmut\&\Delta 2A$ относительно *WT* и $Zfmut$ соответственно, по-видимому, не связано со сниженной репликацией.

Роль белков L и 2A в подавлении белкового синтеза инфицированных клеток HeLa

Изучение трансляционных процессов в инфицированной культуре проводили с использованием пульс-метода, применяя для детектирования *de novo* синтезированных белков аминокислоты, меченные изотопом ^{14}C . В качестве негативного контроля использовали клетки, обработанные арсенитом натрия (Ars, 100 нМ) и Т-2 токсином (50 нМ), ингибиторами синтеза белков, которые были любезно предоставлены С.Е. Дмитриевым (НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского). В качестве позитивного контроля использовали незараженные клетки (Mock). Метод позволяет оценивать эффективность образования белков в вы-

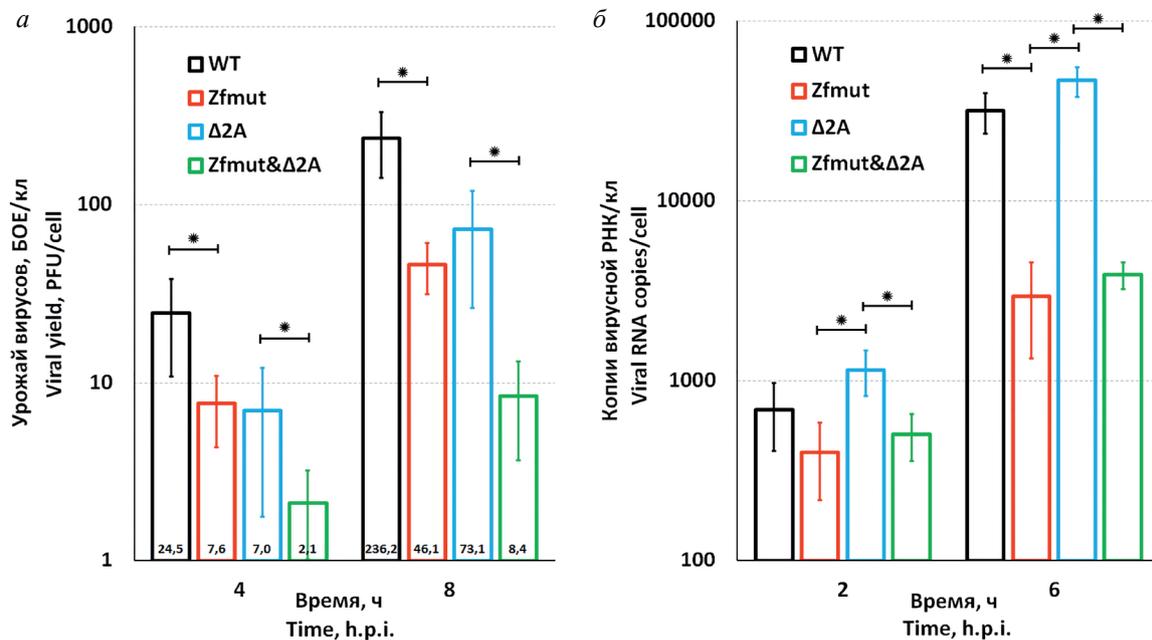


Рис. 3. Накопление инфекционных вирусных частиц (а) и копий вирусной геномной РНК (б) в ходе цикла репродукции вирусов *WT*, $Zfmut$, $\Delta 2A$ и $Zfmut\&\Delta 2A$ в клетках HeLa.

Количество бляшкообразующих единиц (БОЕ) определяли методом титрования в клетках ВНК-21. Количество копий вирусной РНК определяли методом ПЦР в режиме реального времени.

Fig. 3. Accumulation of infectious viral particles (a) and copies of viral genomic RNA (b) during the reproduction cycle of *WT*, $Zfmut$, $\Delta 2A$ and $Zfmut\&\Delta 2A$ viruses in HeLa cells.

The number of PFU was determined by plaque titration in BHK-21 cells. The number of copies of viral RNA was determined by real-time PCR.

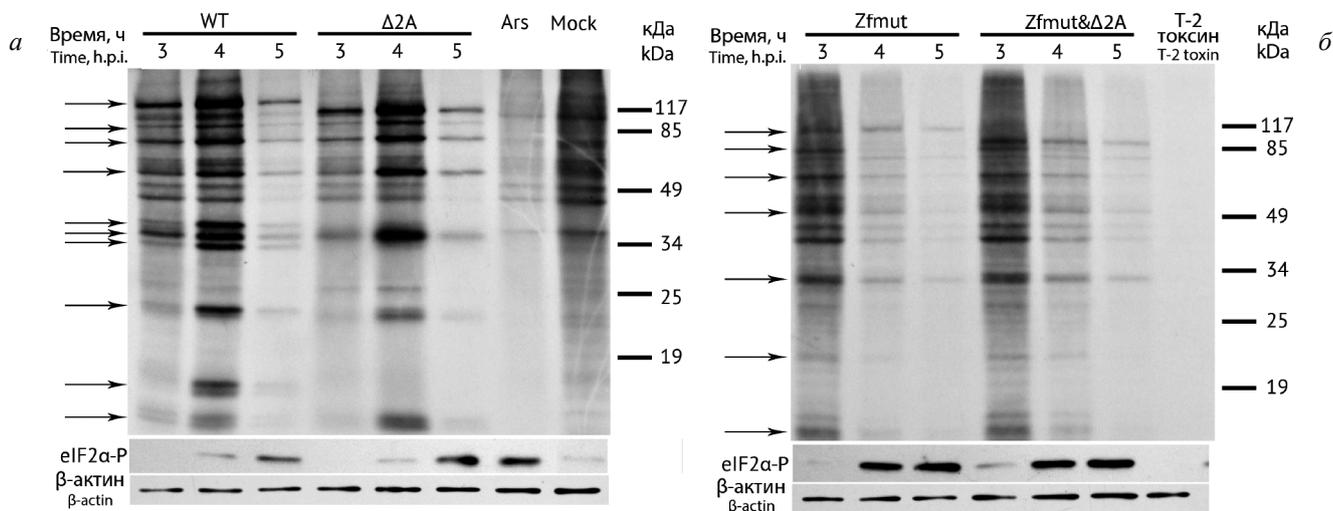


Рис. 4. Радиоавтография синтезируемых белков в клетках HeLa, зараженных вирусами *WT*, *Zfmут*, *Δ2A* и *Zfmут&Δ2A*.

Ингибиторы трансляции белков: Ars – арсенит натрия, концентрация 100 нМ, T-2 токсин – концентрация 50 нМ. Mock – незараженные клетки без воздействия ингибиторов. Сигналы, соответствующие вирусным белкам, отмечены стрелками.

Fig. 4. Autoradiography of synthesized proteins in HeLa cells infected with *WT*, *Zfmут*, *Δ2A*, and *Zfmут&Δ2A* viruses.

Protein translation inhibitors: Ars-sodium arsenite (100nM), T-2 toxin (50nM). Mock – uninfected cells without inhibitors. Signals corresponding to viral proteins are marked with arrows.

бранный момент цикла вирусного размножения, регистрируя белковые молекулы, наработанные за 30-минутный промежуток времени.

Заражение клеток HeLa вирусом *WT* приводило к меняющемуся профилю трансляции белков на разных этапах инфекции. К 3 ч после инфицирования заметно снижение уровня новосинтезированных клеточных белков – снижается их сигнал относительно неинфицированных клеток (рис. 4, 3 ч). Об этом свидетельствует падение общего уровня включения радиоактивно меченных аминокислот в белки, синтезируемые в зараженной клетке, к 3 ч на 40% (рис. 5, *WT*). Результаты радиоавтографии показывают, что в это время идет синтез вирусспецифичных белков (рис. 4). Учитывая, что синтез вирусных белков вносит вклад в общий уровень трансляции в инфицированной клетке, который мы детектировали с помощью оценки уровня включения меченых аминокислот, синтез клеточных белков ингибируется более чем на 40% относительно незараженной культуры. Более точную оценку уровня ингибирования с помощью этого метода достичь невозможно. Таким образом, на данном этапе инфекции (3 ч) мы наблюдали угнетение синтеза клеточных белков при активном синтезе вирусных. К 4 ч после инфицирования уровень встраивания меченых аминокислот повышается до 80% от уровня незараженных клеток (рис. 5 *a*). В процессе анализа результатов радиоавтографии синтезированных белков на этом этапе инфекции становится очевидным, что в повышение общей синтетической активности большой вклад вносит трансляция вирусспецифичных белков. Об этом свидетельствует усиление их сигнала на радиоавтографе (рис. 4, *WT*, 4 ч). Синтез клеточных белков на этом этапе остается более низким, чем в незараженных клетках. Следом за указан-

мым пиком синтетической активности, к 5–6 ч наступает резкое падение как синтеза вирусных белков, так и остаточной клеточной трансляции. Об этом свидетельствует резкое снижение уровня встроенных меченых аминокислот до 10–20% от нормы (рис. 5 *a*, *WT*), а также практически полное отсутствие сигналов новосинтезированных белков на радиоавтографе (рис. 4, *WT*, 5 ч). Следует отметить, что описанное падение синтеза сопровождается заметным повышением уровня фосфорилирования eIF2α по остатку Ser-51, что указывает на запуск каскадов фосфорилирования, направленных на подавление белкового синтеза (рис. 4, 5 *б*, *WT*). Таким образом, на поздней стадии инфекции *WT* наблюдается неспецифичное ингибирование трансляционных процессов в клетках HeLa, связанное с фосфорилированием eIF2α.

Частичная делеция белка 2A в геноме, которая присутствует у мутанта *Δ2A*, не привела к заметному изменению профиля трансляции в экспериментах с использованием наших методик. Инфицирование клеток HeLa мутантом *Δ2A*, как и *WT*, приводило к заметному подавлению клеточной трансляции на 3 и 4 ч, повышению синтеза вирусных белков к 4 ч и полному подавлению трансляции к 5 ч (рис. 4, *Δ2A*). Финальное подавление синтеза также сопровождалось фосфорилированием eIF2α по остатку Ser-51 (рис. 5 *б*, *Δ2A*). График уровня встраивания радиоактивно меченных аминокислот при инфекции *Δ2A* повторяет таковой при *WT*-инфекции (рис. 5 *a*). Таким образом, результаты проведенных экспериментов указывают на то, что белок 2A вируса EMCV-1 не принимает участия в модификации биосинтеза белков в зараженных клетках HeLa.

При инфекции клеток HeLa вирусами, имеющими в составе мутантный белок L (*Zfmут* и *ZfmутΔ2A*),

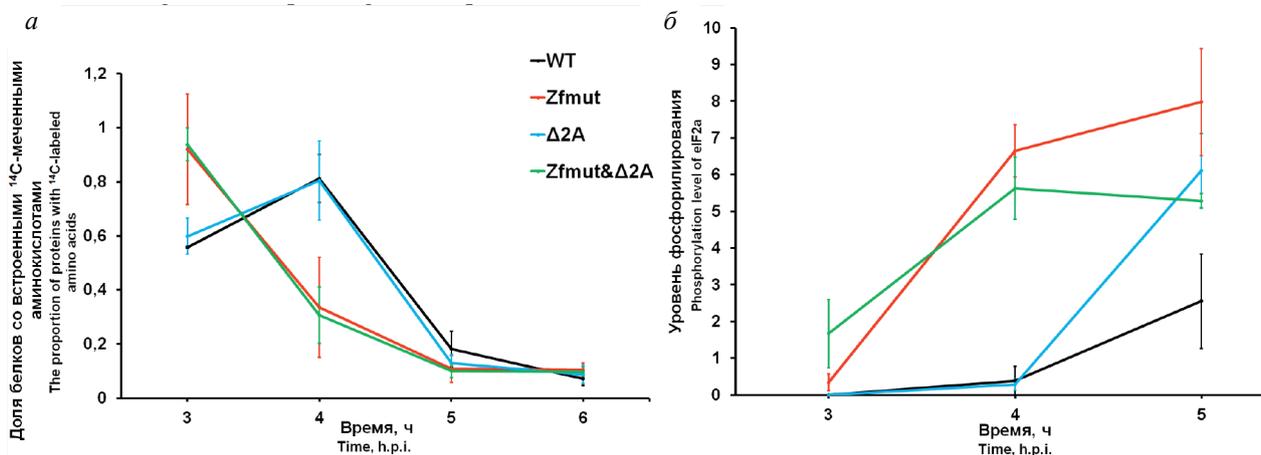


Рис. 5. Уровень включения аминокислот, меченных изотопом ^{14}C , в синтезируемые белки в ходе инфекции клеток HeLa мутантными вирусами *WT*, *Zfmud*, $\Delta 2A$ и *Zfmud&\Delta 2A*. Значение, равное 1, соответствует уровню включения аминокислот, меченных изотопом ^{14}C , в белки незараженной культуры (а); уровень фосфорилирования фактора инициации трансляции eIF2 α в клетках HeLa в ходе инфекции вирусами *WT*, *Zfmud*, $\Delta 2A$ и *Zfmud&\Delta 2A*. Значение, равное 1, соответствует уровню фосфорилирования eIF2 α в незараженных клетках (б).

Значения получены при обработке результатов иммуноблоттинга. Обработка изображения проводилась с использованием программы ImageJ.

Fig. 5. The level of incorporation of ^{14}C -labeled amino acids into synthesized proteins during infection of HeLa cells with *WT*, *Zfmud*, $\Delta 2A$ and *Zfmud&\Delta 2A* viruses. A value of 1 corresponds to the level of incorporation of ^{14}C -labeled amino acids into the proteins of an uninfected culture (a). Level of phosphorylation of translation initiation factor eIF2 α in HeLa cells during infection with *WT*, *Zfmud*, $\Delta 2A$ and *Zfmud&\Delta 2A* viruses. A value of 1 corresponds to the level of eIF2 α phosphorylation in uninfected cells (b).

Values obtained by processing the results of immunoblotting. Image processing was carried out using the ImageJ program.

профиль белкового синтеза изменялся иначе, чем это происходило в случае инфекции *WT* или $\Delta 2A$. К 3 ч после начала инфекции синтез клеточных белков идет со схожей интенсивностью, что и в незараженных клетках. Об этом свидетельствуют яркие сигналы множества синтезирующихся клеточных белков на радиоавтографе (рис. 4, *Zfmud* и *Zfmud\Delta 2A*, 3 ч) и высокий общий уровень встраивания меченых аминокислот в белки относительно показателей *WT* и $\Delta 2A$ (~100%, рис. 5 а). На этой стадии инфекции замечен синтез вирусспецифических белков (рис. 4, *Zfmud* и *Zfmud\Delta 2A*, отмечены стрелками). Следует отметить, что уровень сигнала вирусных белков *Zfmud* и *Zfmud\Delta 2A* снижен по сравнению с *WT* и $\Delta 2A$. К 4 ч наступает резкое снижение синтетических процессов в клетках, зараженных *Zfmud* и *Zfmud\Delta 2A*, синтез клеточных и вирусных белков ингибируется (рис. 4). Этот процесс сопровождается повышением уровня фосфорилирования eIF2 α (рис. 4 и 5 б). Подобное глобальное ингибирование белкового синтеза при инфекции *WT* и $\Delta 2A$ происходит на 1 ч позже. Эксперименты продемонстрировали, что в отсутствие активного белка L запуск фосфорилирования eIF2 α и, следовательно, ингибирования всего белкового синтеза происходит раньше. К тому же в отсутствие активного белка L (*Zfmud* и *Zfmud\Delta 2A*) не происходит специфического частичного подавления синтеза клеточных белков на ранней стадии инфекции, как это наблюдается при инфекции *WT* или $\Delta 2A$.

Таким образом, была обнаружена зависимость между наличием активного белка L в составе EMCV и специфичным подавлением синтеза клеточных бел-

ков на ранней стадии вирусного цикла (3 ч), не связанным с фосфорилированием eIF2 α . Белок 2A на этот процесс влияния не оказывает.

Роль белков L и 2A в накоплении вирусных белков и их процессинге

Для оценки эффективности вирусной трансляции и процессинга структурных вирусных белков мы анализировали паттерн вирусных белков методом иммуноблоттинга с помощью сыворотки против структурных белков EMCV-1 через 4 ч после начала инфекции, когда наблюдается наибольшая эффективность синтеза вирусных белков *WT* и $\Delta 2A$ (рис. 4). В качестве стандартного образца, содержащего отдельные структурные вирусные белки, использовали вирус *WT* рабочего пула, который был очищен методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия (*очWT*). В составе этого образца обнаружены три отдельных капсидных белка: VP1 – 31 кДа, VP2 – 29 кДа и VP3 – 25 кДа (рис. 6 а, 1). С помощью пульс-метода мы регистрировали эффективность накопления вирусных белков на данном этапе инфекции. Анализ с помощью иммунной сыворотки против белков EMCV-1 позволил обнаружить сигналы, соответствующие вирусным белкам. Расшифровку белкового паттерна проводили с использованием стандартного образца *очWT* (VP0, VP1, VP2 и VP3), а также по данным литературы [5, 22, 34, 39]. У *WT* и *Zfmud* самым большим белком-предшественником после первичного процессинга полипротеина являлся (L)P1-2A массой ~116 кДа, в случае мутантов $\Delta 2A$ и *Zfmud&\Delta 2A*, ожидаемо, предшественник (L)P1- $\Delta 2A$

имел меньшую массу (сравнимую с массой удаленного фрагмента – 14 кДа) (рис. 6 а), равную таковой у полипротеина (L)P1. Указанные предшественники были обнаружены и с помощью радиоавтографии (рис. 6 б). Были выделены несколько сигналов, соответствующих вирусспецифичным белкам: № 1, 2, 3, 4. Анализ подвижности в полиакриламидном геле и данные литературы позволили предположить, что сигнал № 1 соответствует предшественнику неструктурных белков P3, № 2 – белку 3CD, № 3 – предшественнику VP4-VP2-VP3 (61 кДа); № 4 – полимеразе 3D (52 кДа). Можно обобщить, что сигналы 1–4 соответствуют либо белкам-предшественникам капсидных белков, либо неструктурным белкам.

Результаты иммуноблоттинга (рис. 6 а) показывают, что после 4 ч инфекции вирусами *WT* и $\Delta 2A$ в клетках HeLa синтезировалось и накопилось больше вирусных белков, чем в случае инфекции *Zfmut* и *Zfmut $\Delta 2A$. Количественный анализ результатов иммуноблоттинга также свидетельствует о том, что синтез всех детектируемых белков при введении мутации в L существенно ингибируется (рис. 7). Наблюдаемый факт, вероятно, связан с тем, что полная блокировка трансляции в клетке, инфицируемой мутантами по L, произошло на 1 ч раньше (к 4 ч вместо 5 ч) (рис. 4, 5 а), поэтому трансляция генома вирусов, мутантных по белку L, шла на 1 ч меньше. Можно заключить, что инактивация в составе генома белка L приводит*

к снижению эффективности трансляции вирусных белков.

Количественный анализ сигналов отдельных вирусных белков после окрашивания мышью сывороткой лизатов зараженных клеток продемонстрировал особенности в эффективности накопления разных групп белков при частичной делеции 2A (рис. 7). Не было обнаружено отличий в накоплении полипротеина-предшественника (L)P1-2A у вируса *WT* и аналогичного ему (L)P1- $\Delta 2A$ у мутантного вируса $\Delta 2A$, а также в эффективности накопления белкового продукта № 4 у этих вирусов (рис. 7 а). Мы наблюдали умеренное снижение накопления белкового продукта № 3 мутантного вируса $\Delta 2A$ по сравнению с *WT* (рис. 7 а). Предшественник капсидных белков VP0, расщепляющийся на VP2 и VP4, накапливается в клетках HeLa, зараженных $\Delta 2A$, также с немного сниженной эффективностью, чем при инфекции *WT* (рис. 7 б). Накопление отдельных капсидных белков VP1, VP2 и VP3 вируса $\Delta 2A$ существенно ингибировано (на 50–80%, рис. 6 а, 7 б). Сигналы вирусных белков на радиоавтографе также показывают существенное угнетение образования капсидных белков VP1, VP3 и предшественника VP0 в клетках, зараженных $\Delta 2A$, по сравнению с инфекцией *WT* (рис. 6 б). Стоит заметить, что при сравнении эффективности накопления вирусных белков в клетках HeLa, зараженных *Zfmut* и *Zfmut $\Delta 2A$, также заметно уменьшение сигнала*

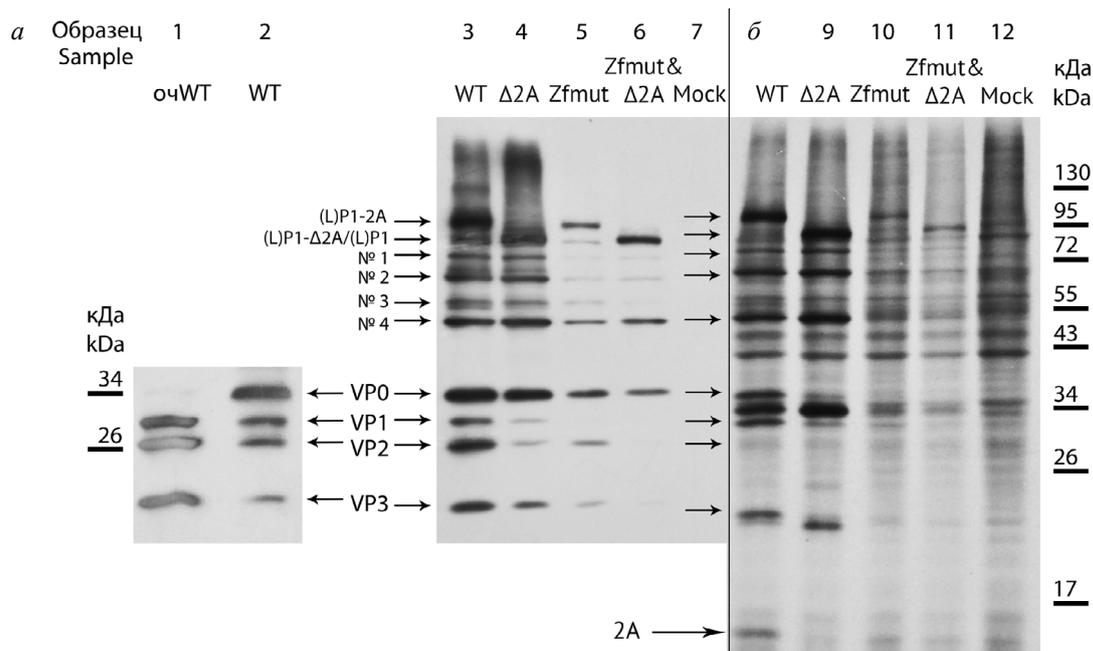


Рис. 6. Изучение накопления белков исследуемых вирусов в ходе инфекции клеток HeLa с помощью специфической мышью иммунной сыворотки (а) и радиоавтографии с использованием аминокислот, меченных изотопом ^{14}C (б).

Для панели а и б использовали одни и те же лизаты зараженных клеток. Образцы: 1 – *WT* EMCV-1, очищенный с помощью ультрацентрифугирования в градиенте хлорида цезия; 2 – *WT* из рабочего пула; 3–12 – образцы из клеток HeLa спустя 4 ч после заражения исследуемыми вирусами; Mock – незараженные клетки. Количество образцов 3–12 выровнено по содержанию β-актина.

Fig. 6. Study of the accumulation of proteins of the studied viruses during the infection of HeLa cells using specific mouse immune serum (а) and autoradiography using amino acids labeled with the ^{14}C isotope (б).

For panels а and б, the same lysates of infected cells were used. Samples: 1 – *WT* EMCV-1 purified by cesium chloride gradient ultracentrifugation; 2 – *WT* from the working pool; 3–12 – samples from HeLa cells 4h after infection with the studied viruses; Mock – uninfected cells. The number of samples 3–12 are aligned according to the content of β-actin.

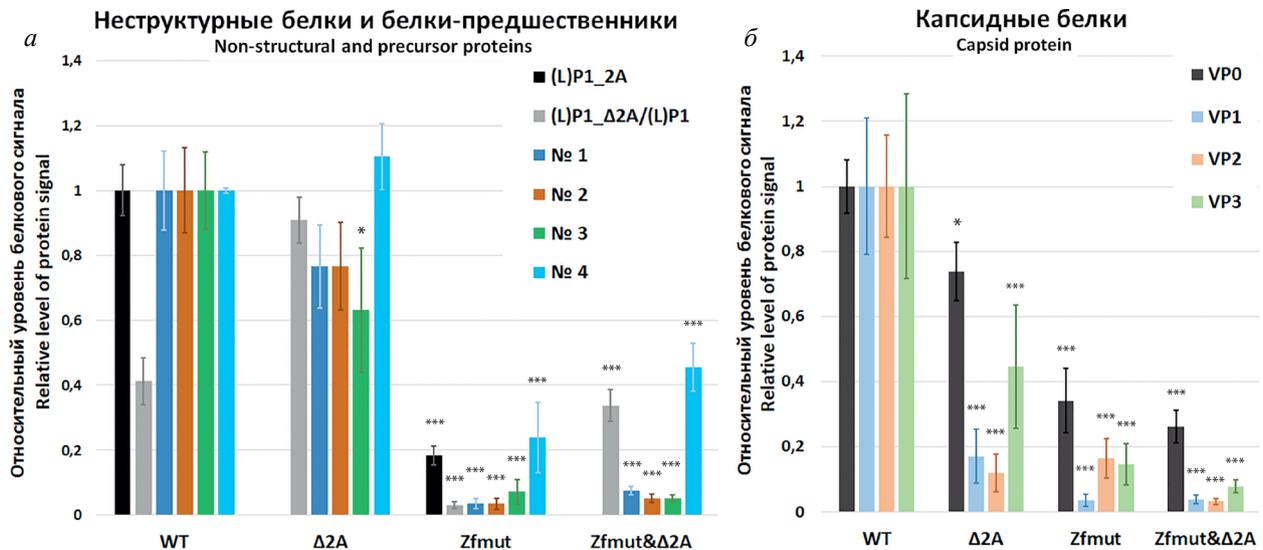


Рис. 7. Относительный уровень сигнала вирусных белков, накопленных к 4 ч после начала инфекции клеток HeLa вирусами *WT*, *Zfm1*, *Δ2A* и *Zfm1&Δ2A*.

a – уровень сигнала неструктурных белков и белков-предшественников капсидных белков; *b* – уровень сигнала капсидных белков. Данные получены в ходе обработки результатов иммуноблоттинга лизатов зараженных клеток с использованием специфической мышиной сыворотки против белков EMCV-1 (рис. 6 *a*). Уровень, равный 1, соответствует уровню сигнала каждого отдельного белка вируса *WT*. Величину сигнала отдельных белков нормировали на сигнал у вируса *WT*. Обработку изображения проводили с использованием программы ImageJ. * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$.

Fig. 7. Relative signal level of viral proteins accumulated by 4 h.p.i. of HeLa cells with *WT*, *Zfm1*, *Δ2A* and *Zfm1&Δ2A* viruses.

a – signal level of non-structural proteins and precursor proteins of capsid proteins; *b* – signal level of capsid proteins. The data were obtained by processing the results of immunoblotting of lysates of infected cells using specific mouse serum against EMCV-1 proteins (fig. 6 *a*). A level of 1 corresponds to the signal level of each individual protein of the *WT* virus. The value of the signal of individual proteins was normalized to the signal of the *WT* virus. Image processing was carried out using the ImageJ program. * – $p < 0.05$, *** – $p < 0.001$.

белков капсида у «двойного» мутанта при равенстве синтеза остальных белков (рис. 6, 7). Таким образом, синтез полипротеинов-предшественников капсидных белков и неструктурных белков при частичной делеции 2A не изменяется либо снижается умеренно. Образование отдельных белков, формирующих зрелый капсид вируса при делеции 2A, существенно ингибировано. Полученные данные указывают на то, что при частичной делеции белка 2A нарушается процессинг капсидных белков.

Обсуждение

«Секьюрити»-белки L и 2A представителей семейства *Picornaviridae* имеют множество функций в зараженной клетке [15]. Одной из них является участие в подавлении кэп-зависимой клеточной трансляции, необходимой для эффективного синтеза вирусных белков и продуктивного течения вирусной инфекции. Этот функциональный аспект хорошо изучен для белков, имеющих ферментативную активность внутри клетки, таких как L^{pro} вируса ящура или 2A^{pro} энтеровирусов. Проявляя протеолитическую специфическую активность в зараженных клетках, они расщепляют трансляционные факторы, необходимые для кэп-зависимой трансляции, которые не нужны для IRES-зависимой: eIF4G и PABP [17, 18, 40]. Белки L и 2A представителей рода *Cardiovirus*, к которому относится серотип EMCV-1, не имеют известной ферментативной активности, eIF4G и PABP не расще-

пляются при инфекции, однако ингибирование трансляции происходит [20]. Однако белки 2A и L EMCV являются главными кандидатами на роль подавления клеточного синтеза [21, 22, 34]. Как правило, для доказательства действия того или иного белка авторы предыдущих исследований инaktivировали изучаемый белок путем введения мутаций или делеций участков белков. В своей работе мы придерживались аналогичной стратегии. Функциональную инактивацию белка L проводили путем внесения аминокислотных замен в Zn-связывающий домен (Cys19/Ala и Cys22/Ala), который ответственен за многие известные функции L: подавление развития апоптотической программы, ингибирование синтеза интерферонов, нарушение ядерно-цитоплазматического транспорта [25, 26, 41, 42]. Введение указанных мутаций используется в большинстве исследований функциональности белка L. В работе, посвященной роли L EMCV в подавлении клеточной трансляции, был использован мутантный вирус с делецией (с 12 по 52 а.о.) [22]. В нашей предыдущей работе мы показали, что инфекция мутантными вирусами с точечными заменами (*Zfm1*) и частичной делецией ΔL приводит к одинаковому изменению синтеза белков в клетке [38]. Таким образом, применение обеих мутантных моделей для исследования трансляционных особенностей зараженной клетки можно считать допустимым. Следует заметить, что использование модели с точечными заменами в белке L (*Zfm1*) является более предпоч-

тительным, так как жизнеспособность такого мутанта, показанная нами ранее [38], снижена умеренно (в 5–10 раз, рис. 3 а) относительно *WT*. В то время как жизнеспособность мутантов с частичной делецией *L* снижена более чем в 100 раз [22, 38]. Поскольку основной работы по изучению трансляционных процессов в зараженных клетках является сравнение свойств мутантных вирусов с вирусом дикого типа, наиболее предпочтительной была модель, в которой мутантные вирусы способны размножаться с эффективностью, как можно более близкой к исходному *WT*. Это позволяет минимизировать возможные эффекты, которые возникают при чрезмерном угнетении репликации пикорнавирусов [43].

Нарушение функциональной активности белка 2A в нашей работе мы осуществляли путем удаления участка с 11 по 125 а.о. В нашей конструкции в белке сохраняются N- и C-концевые фрагменты, последовательность которых необходима для процессинга. C-концевой фрагмент (с 126 по 143 а.о.) содержит мотив NPG(P), где между остатками глицина (G) и пролина (P) осуществляется контрансляционный процессинг между молекулами (L)-P1-2A и 2B [28]. N-концевой фрагмент содержит часть сайта гидролиза вирусной протеазы 3C^{pro} (E-S), посредством которого от предшественников капсидных белков отщепляется белок 2A [39]. Полученные мутантные вирусы *Δ2A* и *ZfmutΔ2A* не имеют в составе белка 2A функционального участка с 94 по 102 а.о., играющего ключевую роль в осуществлении –1 рибосомального сдвига, контролирующего эффективность трансляции вирусных белков [31, 33]. Более того, этот фрагмент, по-видимому, направляет белок 2A в ядро [29] и участвует в связывании белка 2A с субъединицами рибосом [33]. *Δ2A* и *ZfmutΔ2A* также лишены потенциального сайта в составе белка 2A, ответственного за взаимодействие с белком L [44]. Таким образом можно с уверенностью предположить, что оставшаяся в мутантных вирусах часть белка 2A лишена известной функциональной активности. Подобный подход для изучения свойств был использован ранее, например, в исследовании роли белка 2A в подавлении клеточной трансляции [34], где были сконструированы два мутантных вируса с частичным удалением белка 2A (с 39 по 97 а.о. и с 5 по 125 а.о.). В исследовании Ю.В. Свиткина и соавт. мутантные вирусы обладали существенно сниженной жизнеспособностью (в 100–1000 раз по сравнению с *WT*) в исследуемой культуре клеток [34]. Полученные нами мутанты были адаптированы путем проведения пассажей и клонированы (рис. 1). Судя по данным анализа последовательности геномов, адаптация затронула позицию 99 белка VP2 (замена остатка треонина на аланин, рис. 2). Благодаря этому полученные мутантные вирусы по белку 2A: *Δ2A* и *ZfmutΔ2A* имеют умеренно сниженную репликативную активность: в ~5 и ~20 раз соответственно (рис. 3 а). Для исследования функций отдельных вирусных белков адаптированные вирусные мутанты, имеющие схожие репликативные свойства с исходным вирусом, более предпочтительны, чем практиче-

ски не размножающиеся мутанты [34]: концентрация остальных вирусных белков будет существенно снижена, что может влиять на течение инфекции [43].

Наши эксперименты по анализу течения синтеза белков в зараженных клетках HeLa впервые выявили две стадии ингибирования трансляционных процессов при инфекции EMCV. Причем обе из них зависят от наличия функционального белка L. На первом этапе, спустя 3–4 ч после начала инфекции, наступает угнетение синтеза клеточных белков (на ~40%, рис. 4, 5, *WT*, *Δ2A*), при этом не наблюдается повышение уровня фосфорилирования eIF2α. При наличии слабого сигнала фосфорилирования в незараженных клетках (Mock) через 3 ч после начала инфекции *WT* и *Δ2A* сигнал eIF2α-P отсутствует, что говорит о вирус-опосредованном подавлении этого процесса (рис. 4, 5). При инфицировании вирусами, мутантными по белку L, не наблюдается как специфического подавления клеточной трансляции, так и угнетения уровня eIF2α-P ниже базового, соответствующего незараженным клеткам (рис. 4, 5, *Zfmut*, *ZfmutΔ2A*). На более поздний срок инфекции приходится вторая неспецифическая стадия изменения синтеза белков. Она заключается в полном ингибировании трансляции, как клеточной, так и вирусной, сопровождающейся повышением уровня фосфорилирования eIF2α (рис. 4, 5). В отсутствие активной формы L вторая стадия наступает раньше. Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что белок L принимает непосредственное участие в специфическом подавлении синтеза клеточных белков на начальном этапе инфекции, а также влияет на уровень фосфорилирования eIF2α. Первый тезис согласуется с предыдущим исследованием о роли белка L в подавлении клеточной трансляции [22]. Второго этапа подавления трансляции авторы не обнаружили, вероятно, не дождавшись поздней стадии инфекции, которая, по-видимому, наступает существенно позднее, чем в случае клеток HeLa [22]. Вторая, неспецифическая, стадия ингибирования синтеза белков в зараженной клетке, по-видимому, осуществляется за счет активации клеточных киназ, фосфорилирующих eIF2α. В составе вирусного генома киназ не обнаружено. Данный процесс является частью клеточных программ контроля инициации клеточной трансляции в ответ на различные сигналы и осуществляется киназами PKR, PERK, HRI и GCN2 [8].

Таким образом, один или несколько указанных ферментов могут участвовать в процессе блокировки трансляционных процессов в клетках HeLa, зараженных EMCV, причем белок L, по имеющимся данным, способен влиять на работу этих киназ. В присутствии L работа киназ на время ингибируется, откладывая образование eIF2α-P на 1 ч, а в отсутствие «работоспособного» белка L подобного ингибирования не обнаруживается (рис. 4, 5). Наиболее вероятно, что наблюдаемое в ходе инфекции EMCV фосфорилирование eIF2α, которое происходит раньше в отсутствие белка L, вызвано активностью киназы PKR. Именно этот фермент участвует в противовирусной защите клетки, активируясь в ходе интерферонового

ответа [45], а также после появления в клетке двухцепочечной РНК, в том числе вирусной [46]. Показано, что в ходе инфекции EMCV нарушается активация киназы PKR [47], а белок L способен подавлять выработку интерферонов и моделировать каскады MAPK, участвующие в регуляции PKR [8, 27, 48]. Киназа HR1 активируется и фосфорилирует eIF2 α при снижении концентрации гема, тем самым регулируя синтез белков в ретикулоцитах [49]. Об активации этой киназы в ходе пикорнавирусной инфекции ничего не известно. Киназа GCN2 активируется в ответ на возникновение дефицита аминокислот в цитоплазме клеток. Показано, что она может быть активирована и в ответ на развитие вирусных инфекций, благодаря взаимодействию со специфичными РНК-структурами в составе генома, например вируса Синдбис и вируса везикулярного стоматита [50, 51]. Потенциально GCN2 может участвовать в ингибировании трансляции при инфекции EMCV, однако прежде указаний на это не было. Киназа PERK является одним из сенсорных белков, активирующихся при развитии ER-стресса (стресс эндоплазматического ретикулума) в ответ на накопление неправильно свернутых белков [52]. Развитие вирусной инфекции может способствовать активации ER-стресса. Нами ранее показано, что это происходит при заражении клеток энтеровирусами [53], следовательно, нельзя исключать роль PERK в наблюдаемом фосфорилировании eIF2 α (рис. 4, 5). Однако данные об активации PERK при инфекции представителями рода *Cardiovirus* ранее отсутствовали. Таким образом, в настоящей работе был выявлен еще один эффект, вызываемый белком L, который связан с изменением течения реакций фосфорилирования клеточных белков, помимо участия в модификации белков ядерной поры [41].

Обнаруженная активность белка L свидетельствует о его важной роли в обеспечении эффективной трансляции вирусных белков. Мы показали, что нарушение функциональности белка L путем внесения двух аминокислотных замен в домене Zn-палец приводит к существенному сокращению эффективности накопления всех вирусных белков (рис. 7). По всей видимости, это происходит из-за активации киназных каскадов, приводящих к фосфорилированию eIF2 α и ингибированию вирусной трансляции. Наши данные согласуются с ранее описанным эффектом, обнаруженным при использовании другого мутантного EMCV по белку L [24].

Результаты наших экспериментов однозначно указывают на отсутствие какой-либо роли белка 2A не только в подавлении клеточной трансляции, но и какой-либо модуляции трансляционных процессов в клетках HeLa, зараженных EMCV. Частичное удаление белка 2A, которое затронуло важнейшие функциональные участки белка, включая участок взаимодействия с субъединицей рибосом [33], не привело к каким-либо изменениям в течении трансляции клеточных белков при инфекции (рис. 4, 5). В соответствующих парах *WT/Δ2A* и *Zfmut/Zfmut&Δ2A* отсутствовала разница в характере изменения трансля-

ционной активности с течением инфекции, а также в кинетике этого изменения. Наши результаты идут вразрез с выводами, сделанным по итогам нескольких исследований [21, 34].

В одном из них вывод о том, что 2A участвует в подавлении клеточной трансляции, был сделан на основе экспериментов, в которых клетки ВНК-21 инфицировали мутантными EMCV, содержащими делеции в последовательности 2A [34]. Судя по данным, приведенным в исследовании, полученные мутантные вирусы обладали существенно сниженной способностью к размножению в клетках ВНК-21. Разница в вирусном урожае по сравнению с *WT* составила 100–1000 раз. Сравнение вирусов, на несколько порядков различающихся по репродуктивной способности, требует дополнительных контролей, которые отсутствовали в описанной работе. К тому же по имеющимся в публикации данным сложно однозначно сделать вывод о клеточной трансляционной активности ввиду отсутствия доказательств об общем содержании белков (например, актина), необходимых для достоверного выравнивания образцов. Наша вирусная модель, в которой мутантные вирусы адаптированы к экспериментальной культуре клеток и показывают высокий уровень репродуктивной активности (рис. 3), является наиболее релевантной для исследований свойств вирусных белков.

Другое исследование, давшее начало теории о влиянии 2A EMCV на клеточную трансляцию, проведено на модели репликонов без использования жизнеспособных вирусов [21], что может лишь косвенно доказать участие того или иного белка в инфекционном процессе. Генетические конструкции, созданные в исследовании А.Г. Аминова и соавт., содержали ген люциферазы (кодирует 188 а.о.) под контролем эукариотического промотора и ген 2A EMCV (кодирует 143 а.о.) под контролем IRES. В исследовании было показано, что экспрессия люциферазы при использовании бицистронной конструкции, содержащей ген 2A, существенно снижается по сравнению с экспрессией люциферазы в конструкции без гена 2A. Описанные авторами результаты могут говорить о роли белка 2A в ингибировании трансляции люциферазы в рамках данной бицистронной конструкции. О глобальной роли 2A в клеточном синтезе белков при инфекции проведенные эксперименты свидетельствовать не могут.

Необходимо отметить, что полученные нами результаты, свидетельствующие об отсутствии роли белка 2A в трансляционных процессах, согласуются с некоторыми экспериментальными данными исследователей, пытавшихся обнаружить функциональные участки 2A. В исследованиях, посвященных поиску домена 2A, который, вероятно, участвует в связывании eIF4E, было показано, что при введении множественных мутаций и делеций в аминокислотную последовательность 2A трансляционный паттерн зараженных клеток не меняется по сравнению с *WT* [29]. Введение мутаций в потенциальные активные сайты белка 2A, предсказанные с помощью *in vitro* подходов,

не привело к каким-либо изменениям в динамике подавления клеточной трансляции [29], что полностью соотносится с результатами, показанными в нашем исследовании. Многочисленные свидетельства того, что белок 2A связывается с субъединицами рибосом [31, 35, 36], напрямую не означают, что он участвует в ингибировании синтеза белков. Полученные нами данные не могут опровергнуть этот факт. Используемые нами мутантные вирусы имеют делецию, которая включает обнаруженный ранее сайт взаимодействия с рибосомальной РНК (с 95 по 100 а.о.) [31, 33], поэтому мы можем предположить, что данное взаимодействие не влечет за собой изменение трансляционной активности. Вероятно, такое взаимодействие необходимо для функционирования 2A как индуктора –1 рибосомального сдвига [33].

Единственный эффект, который мы наблюдаем при частичном удалении белка 2A, заключается в нарушении накопления отдельных капсидных белков в ходе инфекции (рис. 7). Он, по всей видимости, связан с нарушением процессинга полипротеина-предшественника P1. Полученные результаты совпадают с данными предыдущих исследований, проводимых с мутантами EMCV по белку 2A [34]. Следует отметить, что этот эффект наблюдается только при делетирующих мутациях независимо от их размера, но отсутствует при точечных заменах аминокислот [29]. По-видимому, третичная структура белка 2A, которая нарушается при делециях, необходима для эффективного процесса отщепления белков VP1, VP2 и VP3 от L-P1-2A.

Примечательно, что репликация генома $\Delta 2A$ и $Zfmut\Delta 2A$ относительно *WT* и *Zfmut* соответственно остается неизменной (рис. 3 б), общий синтез неструктурных вирусных белков и белков-предшественников также остается на прежнем уровне (рис. 7). Отсюда мы можем предположить, что нарушение процессинга, вероятно, приводит к снижению урожайности вирусов, мутантных по белку 2A (рис. 3 а).

Суммируя все вышесказанное, мы показали, что среди «секьюрити»-белков EMCV-1 именно белок L играет ключевую роль в управлении трансляцией клеточных и вирусных белков. Белок 2A не участвует в изменении трансляционной активности в зараженных клетках.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Drappier M., Opperdoes F.R., Michiels T. Nonstructural protein L* species specificity supports a mouse origin for Vilyuisk human encephalitis virus. *J. Virol.* 2017; 91(14): e00573-17. <https://doi.org/10.1128/jvi.00573-17>
- Ugai S., Iwaya A., Taneichi H., Hirokawa C., Aizawa Y., Hatakeyama S., et al. Clinical characteristics of saffold virus infection in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2019; 38(8): 781–5. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000002298>
- Tan S.Z.K., Tan M.Z.Y., Prabakaran M. Saffold virus, an emerging human cardiomyovirus. *Rev. Med. Virol.* 2017; 27(1): e1908. <https://doi.org/10.1002/rmv.1908>
- Lipton H.L. Human Vilyuisk encephalitis. *Rev. Med. Virol.* 2008; 18(5): 347–52. <https://doi.org/10.1002/rmv.585>
- Carocci M., Bakkali-Kassimi L. The encephalomyocarditis virus. *Virulence.* 2012; 3(4): 351–67. <https://doi.org/10.4161/viru.20573>
- Merrick W.C., Pavitt G.D. Protein synthesis initiation in eukaryotic cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018; 10(12): a033092. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033092>
- Jackson R.J., Hellen C.U.T., Pestova T.V. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11(2): 113–27. <https://doi.org/10.1038/nrm2838>
- Donnelly N., Gorman A.M., Gupta S., Samali A. The eIF2 α kinases: their structures and functions. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70(19): 3493–511. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1252-6>
- Wek R.C. Role of eIF2 α kinases in translational control and adaptation to cellular stress. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018; 10(7): a032870. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032870>
- Imai S., Suzuki H., Fujiyoshi Y., Shimada I. Dynamically regulated two-site interaction of viral RNA to capture host translation initiation factor. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 4977. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40582-6>
- Sorokin I.I., Vassilenko K.S., Terenin I.M., Kalinina N.O., Agol V.I., Dmitriev S.E. Non-canonical translation initiation mechanisms employed by eukaryotic viral MRNAs. *Biochemistry. (Mosc.)* 2021; 86(9): 1060–94. <https://doi.org/10.1134/S0006297921090042>
- Francisco-Velilla R., Embarc-Buh A., Abellan S., Martinez-Salas E. Picornavirus translation strategies. *FEBS Open Bio.* 2022; 12(6): 1125–41. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13400>
- Chamond N., Deforges J., Ulryck N., Sargueil B. 40S recruitment in the absence of EIF4G/4A by EMCV IRES refines the model for translation initiation on the archetype of type II IRESs. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(16): 10373–84. <https://doi.org/10.1093/nar/gku720>
- Welnowska E., Sanz M.A., Redondo N., Carrasco L. Translation of viral mRNA without active EIF2: The case of picornaviruses. *PLoS One.* 2011; 6(7): e22230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022230>
- Agol V.I., Gmyl A.P. Viral security proteins: counteracting host defences. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(12): 867–78. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2452>
- Yang X., Hu Z., Fan S., Zhang Q., Zhong Y., Guo D., et al. Picornavirus 2A protease regulates stress granule formation to facilitate viral translation. *PLoS Pathog.* 2018; 14(2): e1006901. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006901>
- Chau D.H.W., Yuan J., Zhang H., Cheung P., Lim T., Liu Z., et al. Cocksackievirus B3 proteases 2A and 3C induce apoptotic cell death through mitochondrial injury and cleavage of eIF4GI but not DAP5/P97/NAT1. *Apoptosis.* 2007; 12(3): 513–24. <https://doi.org/10.1007/s10495-006-0013-0>
- Azzinaro P.A., Medina G.N., Rai D., Ramirez-Medina E., Spinard E., Rodriguez-Calzada M., et al. Mutation of FMDV L^{pro} H138 residue drives viral attenuation in cell culture and in vivo in swine. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9: 1028077. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1028077>
- Turkki P., Laajala M., Flodström-Tullberg M., Marjomäki V. Human enterovirus group B viruses rely on vimentin dynamics for efficient processing of viral nonstructural proteins. *J. Virol.* 2020; 94(2): e01393-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01393-19>
- Jen G., Detjen B.M., Thach R.E. Shutoff of HeLa cell protein synthesis by encephalomyocarditis virus and poliovirus: a comparative study. *J. Virol.* 1980; 35(1): 150–6. <https://doi.org/10.1128/JVI.35.1.150-156.19>
- Aminev A.G., Amineva S.P., Palmenberg A.C. Encephalomyocarditis viral protein 2A localizes to nucleoli and inhibits cap-dependent mRNA translation. *Virus Res.* 2003; 95(1-2): 45–57. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(03\)00162-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(03)00162-X)
- Zoll J., Galama J.M., van Kuppeveld F.J., Melchers W.J. Mengovirus leader is involved in the inhibition of host cell protein synthesis. *J. Virol.* 1996; 70(8): 4948–52. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.8.4948-4952.1996>
- Bacot-Davis V.R., Ciomperlik J.J., Basta H.A., Cornilescu C.C., Palmenberg A.C. Solution structures of mengovirus leader protein, its phosphorylated derivatives, and in complex with nuclear transport regulatory protein, RanGTPase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014; 111(44): 15792–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411098111>
- Dvorak C.M., Hall D.J., Hill M., Riddle M., Pranter A., Dillman J., et al. Leader protein of encephalomyocarditis virus binds zinc, is phosphorylated during viral infection, and affects the efficiency of genome translation. *Virology.* 2001; 290(2): 261–71. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1193>

25. Romanova L.I., Lidsky P.V., Kolesnikova M.S., Fominykh K.V., Gmyl A.P., Sheval E.V., et al. Antiapoptotic activity of the cardiovirus leader protein, a viral "security" protein. *J. Virol.* 2009; 83(14): 7273–84. <https://doi.org/10.1128/JVI.00467-09>
26. Bardina M.V., Lidsky P.V., Sheval E.V., Fominykh K.V., van Kuppeveld F.J.M., Polyakov V.Y., et al. Mengovirus-induced rearrangement of the nuclear pore complex: hijacking cellular phosphorylation machinery. *J. Virol.* 2009; 83(7): 3150–61. <https://doi.org/10.1128/JVI.01456-08>
27. Hato S.V., Ricour C., Schulte B.M., Lanke K.H., de Bruijn M., Zoll J., et al. The mengovirus leader protein blocks interferon-alpha/beta gene transcription and inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *Cell. Microbiol.* 2007; 9(12): 2921–30. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.01006.x>
28. Donnelly M.L.L., Gani D., Flint M., Monaghan S., Ryan M.D. The cleavage activities of aphthovirus and cardiovirus 2A proteins. *J. Gen. Virol.* 1997; 78(Pt. 1): 13–21. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-78-1-13>
29. Groppo R., Brown B.A., Palmenberg A.C. Mutational analysis of the EMCV 2A protein identifies a nuclear localization signal and an eIF4E binding site. *Virology*. 2011; 410(1): 257–67. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.11.002>
30. Naphthine S., Ling R., Finch L.K., Jones J.D., Bell S., Brierley I., et al. Protein-directed ribosomal frameshifting temporally regulates gene expression. *Nat. Commun.* 2017; 8: 15582. <https://doi.org/10.1038/ncomms15582>
31. Hill C.H., Pekarek L., Naphthine S., Kibe A., Firth A.E., Graham S.C., et al. Structural and molecular basis for cardiovirus 2A protein as a viral gene expression switch. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 7166. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27400-7>
32. Loughran G., Firth A.E., Atkins J.F. Ribosomal frameshifting into an overlapping gene in the 2B-encoding region of the cardiovirus genome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011; 108(46): E1111–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102932108>
33. Caliskan N., Hill C.H. Insights from structural studies of the cardiovirus 2A protein. *Biosci. Rep.* 2022; 42(1): BSR20210406. <https://doi.org/10.1042/BSR20210406>
34. Svitkin Y.V., Hahn H., Gingras A.C., Palmenberg A.C., Sonenberg N. Rapamycin and wortmannin enhance replication of a defective encephalomyocarditis virus. *J. Virol.* 1998; 72(7): 5811–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.72.7.5811-5819.1998>
35. Medvedkina O.A., Scarlat I.V., Kalinina N.O., Agol V.I. Virus-specific proteins associated with ribosomes of Krebs-II cells infected with encephalomyocarditis virus. *FEBS Lett.* 1974; 39(1): 4–8. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(74\)80003-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(74)80003-7)
36. Groppo R., Palmenberg A.C. Cardiovirus 2A protein associates with 40S but not 80S ribosome subunits during infection. *J. Virol.* 2007; 81(23): 13067–74. <https://doi.org/10.1128/JVI.00185-07>
37. Duke G.M., Palmenberg A.C. Cloning and synthesis of infectious cardiovirus RNAs containing short, discrete poly(C) tracts. *J. Virol.* 1989; 63(4): 1822–6. <https://doi.org/10.1128/jvi.63.4.1822-1826.1989>
38. Mikitas O.V., Ivin Y.Y., Golyshev S.A., Povarova N.V., Galkina S.I., Pletjushkina O.Y., et al. Suppression of injuries caused by a lytic RNA virus (mengovirus) and their uncoupling from viral reproduction by mutual cell/virus disarmament. *J. Virol.* 2012; 86(10): 5574–83. <https://doi.org/10.1128/jvi.07214-11>
39. Parks G.D., Baker J.C., Palmenberg A.C. Proteolytic cleavage of encephalomyocarditis virus capsid region substrates by precursors to the 3C enzyme. *J. Virol.* 1989; 63(3): 1054–8. <https://doi.org/10.1128/jvi.63.3.1054-1058.1989>
40. Joachims M., Van Breugel P.C., Lloyd R.E. Cleavage of poly(A)-binding protein by enterovirus proteases concurrent with inhibition of translation in vitro. *J. Virol.* 1999; 73(1): 718–27. <https://doi.org/10.1128/jvi.73.1.718-727.1999>
41. Lidsky P.V., Hato S., Bardina M.V., Aminev A.G., Palmenberg A.C., Sheval E.V., et al. Nucleocytoplasmic traffic disorder induced by cardiociruses. *J. Virol.* 2006; 80(6): 2705–17. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.6.2705-2717.2006>
42. Hato S.V., Sorgeloos F., Ricour C., Zoll J., Melchers W.J.G., Michiels T., et al. Differential IFN-alpha/beta production suppressing capacities of the leader proteins of mengovirus and foot-and-mouth disease virus. *Cell. Microbiol.* 2010; 12(3): 310–7. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01395.x>
43. Tolskaya E.A., Romanova L.I., Kolesnikova M.S., Ivannikova T.A., Smirnova E.A., Raikhlin N.T., et al. Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliiovirus. *J. Virol.* 1995; 69(2): 1181–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.69.2.1181-1189.1995>
44. Petty R.V., Basta H.A., Bacot-Davis V.R., Brown B.A., Palmenberg A.C. Binding Interactions between the Encephalomyocarditis virus leader and protein 2A. *J. Virol.* 2014; 88(22): 13503–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.02148-14>
45. Meurs E., Chong K., Galabru J., Thomas N.S.B., Kerr I.M., Williams B.R.G., et al. Molecular cloning and characterization of the human double-stranded RNA-activated protein kinase induced by interferon. *Cell.* 1990; 62(2): 379–90. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90374-N](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90374-N)
46. Cole J. Activation of PKR: an open and shut case? *Trends Biochem. Sci.* 2007; 32(2): 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.12.003>
47. Ng C.S., Jogi M., Yoo J.S., Onomoto K., Koike S., Iwasaki T., et al. Encephalomyocarditis virus disrupts stress granules, the critical platform for triggering antiviral innate immune responses. *J. Virol.* 2013; 87(17): 9511–22. <https://doi.org/10.1128/jvi.03248-12>
48. Porter F.W., Brown B., Palmenberg A.C. Nucleoporin phosphorylation triggered by the encephalomyocarditis virus leader protein is mediated by mitogen-activated protein kinases. *J. Virol.* 2010; 84(24): 12538–48. <https://doi.org/10.1128/JVI.01484-09>
49. Han A.P. Heme-regulated eIF2alpha kinase (HRI) is required for translational regulation and survival of erythroid precursors in iron deficiency. *EMBO J.* 2001; 20(23): 6909–18. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.23.6909>
50. Berlanga J.J., Ventoso I., Harding H.P., Deng J., Ron D., Sonenberg N., et al. Antiviral effect of the mammalian translation initiation factor 2a kinase GCN2 against RNA viruses. *EMBO J.* 2006; 25(8): 1730–40. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601073>
51. Krishnamoorthy J., Mounir Z., Raven J.F., Koromilas A.E. The eIF2a kinases inhibit vesicular stomatitis virus replication independently of eIF2a phosphorylation. *Cell Cycle.* 2008; 7(15): 2346–51. <https://doi.org/10.4161/cc.6323>
52. Harding H.P., Zhang Y., Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature.* 1999; 397(6716): 271–4. <https://doi.org/10.1038/16729>
53. Shishova A., Dyugay I., Fominykh K., Baryshnikova V., Dereventsova A., Turchenko Y., et al. Enteroviruses manipulate the unfolded protein response through multifaceted deregulation of the Ire1-Xbp1 pathway. *Viruses.* 2022; 14(11): 2486. <https://doi.org/10.3390/v14112486>

Информация об авторах:

Ивин Юрий Юрьевич  – научный сотрудник лаборатории биохимии, начальник управления разработки и внедрения инновационных и полупромышленных технологий ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: ivin_uu@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0995-7944>

Бутусова Анна Александровна – младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: amadreaera@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0008-0361-9681>

Гладнева Екатерина Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: gladneva_ee@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0009-0005-8067-6768>

Коломийцева Галина Яковлевна – канд. хим. наук, доцент, заведующая отделом изотопного анализа НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия. E-mail: kolom@genebee.msu.ru; <https://orcid.org/0009-0005-5130-2695>

Хапчаев Юсуф Хаджибекович – д-р биол. наук, начальник цеха по производству полиомиелитных вакцин ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: hapchaev_uh@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1613-5228>

Ишмухаметов Айдар Айратович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия, заведующий кафедрой организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института трансляционной медицины и биотехнологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. E-mail: ishmukhametov@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>

Участие авторов: Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Поступила 11.09.2023

Принята в печать 20.10.2023

Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Yury Yu. Ivin  – researcher, Laboratory of biochemistry, Head of the Department of development and implementation innovative and pilot technology, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: ivin_uu@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0995-7944>

Anna A. Butusova – junior researcher, Laboratory of biochemistry, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: amadreaera@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0008-0361-9681>

Ekaterina E. Gladneva – junior researcher, Laboratory of biochemistry, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: gladneva_ee@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0009-0005-8067-6768>

Galina Ya. Kolomijtseva – Cand. Sci. (Chem.), Assoc. Prof, Head of the Department of isotope analysis, A. N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU, Moscow, Russia. E-mail: kolom@genebee.msu.ru; <https://orcid.org/0009-0005-5130-2695>

Yusuf K. Khapchaev – D. Sci. (Biol.), Head of the Department for the production of polio vaccines, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: hapchaev_uh@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1613-5228>

Aydar A. Ishmukhametov – D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, CEO of Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, Head of the Department of organization and technology of production of immunobiological preparations, Institute for Translational Medicine and Biotechnology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia. E-mail: ishmukhametov@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>

Contribution: All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Received 09 September 2023

Accepted 20 October 2023

Published 31 October 2023

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-197>

© НИКОЛАЕВА Л.И., СТУЧИНСКАЯ М.Д., ДЕДОВА А.В., ШЕВЧЕНКО Н.Г., ХЛОПОВА И.Н., КРУЖКОВА И.С., МЕРКУЛОВА Л.Н., КИСТЕНЕВА Л.Б., КОЛОБУХИНА Л.В., МУКАШЕВА Е.А., КРАСНОСЛОБОДЦЕВ К.Г., ТРУШАКОВА С.В., КРЕПКАЯ А.С., КУПРИЯНОВ В.В., НИКИТЕНКО Н.А., ХАДОРИЧ Е.А., БУРМИСТРОВ Е.М., ТЮРИН И.Н., АНТИПЯТ Н.А., БУРЦЕВА Е.И., 2023

Ассоциация полиморфных вариантов генов системы гемостаза с течением COVID-19

Николаева Л.И.¹✉, Стучинская М.Д.¹, Дедова А.В.¹, Шевченко Н.Г.¹, Хлопова И.Н.¹, Кружкова И.С.^{1,2}, Меркулова Л.Н.¹, Кистенева Л.Б.¹, Колобухина Л.В.^{1,2}, Мукашева Е.А.¹, Краснослободцев К.Г.¹, Трушакова С.В.¹, Крепкая А.С.¹, Куприянов В.В.¹, Никитенко Н.А.¹, Хадорич Е.А.¹, Бурмистров Е.М.¹, Тюрин И.Н.², Антипят Н.А.², Бурцева Е.И.¹

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения города Москвы, 125367, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. COVID-19 характеризуется разнообразным течением: от бессимптомного до тяжелого с летальным исходом. Комплекс неблагоприятных факторов инфицированного организма во многом определяет течение и исход болезни.

Цель работы – выявить возможные ассоциации полиморфных генов системы гемостаза с течением COVID-19.

Материалы и методы. ДНК выделяли из крови инфицированных пациентов ($n = 117$) и здоровых добровольцев, вошедших в группу сравнения ($n = 104$). Среди инфицированных пациентов были выделены 4 группы: 3 группы – в зависимости от тяжести состояния, которую оценивали по NEWS2, и группу, в которую включали пациентов, перенесших инфекцию бессимптомно. Определение однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) генов *FGB* (-455 G/A), *FII* (20210 G/A), *FV* (1691 G/A), *FVII* (10976 G/A), *FXIII A1* (103 G/T), *ITGA2* (807 C/T), *ITGB3* (1565 T/C), *SERPINE1* (-675 5G/4G) проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции, используя набор «Генетика гемостаза» («ДНК-Технология», Россия).

Результаты. Достоверных различий в аллельных вариантах анализируемых генов между группой пациентов и здоровыми участниками не выявлено. Однако при анализе показателей групп пациентов, различающихся по тяжести COVID-19, относительно группы пациентов, бессимптомно перенесших инфекцию, была обнаружена достоверная ассоциация ОНП гена *SERPINE1* (-675 5G/4G) с течением инфекции ($p = 0,0381$; $p = 0,0066$; $p = 0,0009$). Установлено, что по мере увеличения степени тяжести COVID-19 доля аллеля 5G гена *SERPINE1* (-675 5G/4G) снижалась, а доля аллеля 4G увеличивалась ($p = 0,005$; $p = 0,009$; $p = 0,0005$). Аналогичные процессы наблюдались для генотипов 5G/5G и 4G/4G.

Обсуждение. Анализ вклада ОНП генов системы гемостаза показал, что фибринолитическое звено ассоциировано с тяжестью COVID-19. Полиморфизм гена этого звена *SERPINE1* (-675 5G/4G) имел достоверную связь с течением COVID-19.

Заключение. Впервые обнаружено, что ОНП гена *SERPINE1* (-675 5G/4G) ассоциирован с тяжестью COVID-19. Генотип 5G/5G этого гена может рассматриваться как маркер более легкого течения инфекции, генотип 4G/4G – более тяжелого.

Ключевые слова: COVID-19; полиморфизм генов гемостаза; ассоциация с клиническим течением

Для цитирования: Николаева Л.И., Стучинская М.Д., Дедова А.В., Шевченко Н.Г., Хлопова И.Н., Кружкова И.С., Меркулова Л.Н., Кистенева Л.Б., Колобухина Л.В., Мукашева Е.А., Краснослободцев К.Г., Трушакова С.В., Крепкая А.С., Куприянов В.В., Никитенко Н.А., Хадорич Е.А., Бурмистров Е.М., Тюрин И.Н., Антипят Н.А., Бурцева Е.И. Ассоциация полиморфных вариантов генов системы гемостаза с течением COVID-19. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(5): 445–453. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-197> EDN: <https://elibrary.ru/guttrz>

Финансирование. Исследования выполнены в рамках государственного задания (номер гос. регистрации 122021800184–3) без дополнительного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ГБУЗ ИКБ № 1 (протоколы № 11/А от 16.10.2020 и № 8 от 28.12.2022).

Association of polymorphic variants of hemostatic system genes with the course of COVID-19

Lyudmila I. Nikolaeva¹✉, Maya D. Stuchinskaya¹, Anna V. Dedova¹, Nadezhda G. Shevchenko¹, Irina N. Khlopova¹, Irina S. Kruzhkova^{1,2}, Lilya N. Merkulova^{1,2}, Lidya B. Kisteneva^{1,2}, Lyudmila V. Kolobukhina^{1,2}, Evgenya A. Mukasheva¹, Kirill G. Krasnoslobodtsev¹, Svetlana V. Trushakova¹, Anastasia S. Krepkaya¹, Victor V. Kuprianov¹, Natalia A. Nikitenko¹, Elizaveta A. Khadorich¹, Egor M. Burmistrov¹, Igor N. Tyurin², Natalia A. Antipyat², Elena I. Burtseva¹

¹N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia;

²Infection Diseases Clinical Hospital Number 1, Moscow Department of Health, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. COVID-19 is characterized by a varied clinical course.

The aim of the work was to identify associations of SNPs in hemostatic system genes with COVID-19.

Materials and methods. DNA was isolated from blood samples of COVID-19 patients ($n = 117$) and healthy participants ($n = 104$). All patients were divided into 3 groups, depending on disease severity assessed by NEWS2. Another group consisted of participants, who had asymptomatic infection in the past. Determination of SNPs of the genes *FGB* (-455 G/A), *FII* (20210 G/A), *FV* (1691 G/A), *FVII* (10976 G/A), *FXIII A1* (103 G/T), *ITGA2* (807 C/T), *ITGB3* (1565 T/C), *SERPINE1* (-675 5G/4G) were performed by PCR using the Genetics of Hemostasis kit (DNA-Technology, Russia).

Results. In analyzed SNPs, no significant differences were detected between the group of COVID-19 patients and healthy participants. However, a significant association was revealed for gene *SERPINE1* (-675 5G/4G), when patient groups, differing in the disease severity, were analyzed relative to the group of participants with asymptomatic infection ($p = 0.0381$; $p = 0.0066$; $p = 0.0009$). It was found that as COVID-19 severity scores increased, the proportion of 5G allele of gene *SERPINE1* decreased, and the proportion of the 4G allele increased ($p = 0.005$; $p = 0.009$; $p = 0.0005$). Similar associations were observed for genotypes 5G/5G and 4G/4G.

Discussion. The gene *SERPINE1* (-675 5G/4G) is associated with the severity of COVID-19.

Conclusion. For the first time, it was discovered that 5G/5G genotype of gene *SERPINE1* (-675 5G/4G) can be a marker of a milder course of COVID-19, and the 4G/4G genotype – of a more severe one.

Keywords: COVID-19; hemostatic gene polymorphism; association with clinical course

For citation: Nikolaeva L.I., Stuchinskaya M.D., Dedova A.V., Shevchenko N.G., Khlopova I.N., Kruzhkova I.S., Merkulova L.N., Kisteneva L.B., Kolobukhina L.V., Mukasheva E.A., Krasnoslobodtsev K.G., Trushakova S.V., Krepkaya A.S., Kuprianov V.V., Nikitenko N.A., Khadorich E.A., Burmistrov E.M., Tyurin I.N., Antipyat N.A., Burtseva E.I. Association of polymorphic variants of hemostatic system genes with the course of COVID-19. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(5): 445–453. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-197> EDN: <https://elibrary.ru/guttrz>

Funding: The research was carried out within the framework of a state assignment (state registration number 122021800184–3) without additional funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethical statement. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the ethical committee of Infection Diseases Clinical Hospital No. 1 (protocols No. 11/A of October 16, 2020 and No. 8 of December 28, 2022).

Введение

Появление новой коронавирусной инфекции в 2019 г., получившей название Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), стало глобальной проблемой здравоохранения. Этиологическим агентом этой инфекции оказался новый вирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2), принадлежащий к порядку *Nidovirales*, семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus* [1]. Ранее, в 2002 и 2015 гг., произошли кратковременные

вспышки тяжелых респираторных заболеваний, которые были вызваны двумя близкими зоонозными коронавирусами: SARS-CoV и MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome) [2].

Вирус SARS-CoV-2 чаще всего передается воздушно-капельным путем, и основным местом его репликации являются клетки дыхательного эпителия. Вирус может также поражать желудочно-кишечный тракт, нервную систему, сердце, печень, почки и другие органы. Чаще всего летальный исход при

COVID-19 происходит из-за пневмонии и полиорганной недостаточности. По данным Всемирной организации здравоохранения, осенью 2023 г. в мире было зафиксировано 771 191 203 случая заболевания, из которых 6 961 014 случаев завершились летальным исходом¹.

Для COVID-19 характерны разные варианты клинического течения болезни: от бессимптомного до тяжелого, иногда завершающегося летальным исходом. У значительной доли инфицированных лиц врожденный и приобретенный иммунитет обеспечивают ограничение вирусной репликации и элиминацию вируса. Вероятно, тяжелое течение COVID-19 является мультикомпонентным сбоем в функционировании разных систем организма. В пользу этого свидетельствует более частое тяжелое течение у возрастных пациентов. Выделяют несколько факторов, предрасполагающих к более тяжелому течению болезни. Прежде всего, это неспособность иммунной системы ограничивать вирусную инфекцию, наличие хронических заболеваний дыхательной системы, склонность к развитию системной воспалительной реакции и «цитокинового шторма», нарушения в функционировании системы свертывания крови. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 отмечают коагулопатию, тромбозы, микротромбозы, системное внутрисосудистое свертывание [3, 4]. Есть данные, что инфицирование эндотелия сосудов приводит к формированию тромбов и ишемии в лимфоузлах [5]. При тяжелом течении COVID-19 отмечают высокие уровни D-димера и фибриногена [6], что отражает избыточное воспаление, вызванное повышенным уровнем провоспалительного цитокина IL-6 [7].

Внутрисосудистая коагуляция при COVID-19 может зависеть от вариабельности функциональной активности белков системы гемостаза, которая обусловлена генетическим полиморфизмом. Изучению вклада полиморфизма разных генов как фактора, обладающего влиянием на чувствительность к SARS-CoV-2 и на разное течение COVID-19, уделялось большое внимание [8–10]. К настоящему времени в геноме человека удалось выявить 49 полиморфных вариантов, ассоциированных с более тяжелым течением COVID-19 [11]. В большинстве работ по анализу генетической предрасположенности к тяжелому течению инфекции проводили сравнительные обширные геномные ассоциативные исследования с выявлением генов и их онконуклеотидных полиморфизмов (ОНП) у лиц, инфицированных SARS-CoV-2, и у лиц, входящих в соответствующую популяцию (так называемые исследования GWAS – genome-wide association study). В настоящей статье тоже выполнено сравнительное исследование, где сопоставляли ОНП генов гемостаза у пациентов с COVID-19, различающихся по клинической тяжести течения инфекции, а также с группой здоровых лиц.

Целью исследования являлся анализ возможно вклада полиморфизма генов системы гемостаза,

а именно плазменного, тромбоцитарного и фибринолитического звеньев, в разные варианты течения COVID-19.

Материалы и методы

Пациенты и группы. Образцы венозной крови были собраны от 117 пациентов в период: с октября 2020 г. по август 2023 г. Все пациенты имели вирусологически подтвержденный диагноз COVID-19, тяжесть их состояния при поступлении в клинику оценивали по шкале National Early Warning System 2 (NEWS2). В исследовании участвовали 57 мужчин и 60 женщин, медиана возраста составила 50,0 года.

В соответствии с тяжестью перенесенного заболевания пациенты были поделены на 4 группы с учетом баллов по шкале NEWS2. В 1-ю группу были включены пациенты, перенесшие COVID-19 бессимптомно ($n = 20$). В этой группе преобладали женщины ($n = 13$; 65%), медиана возраста составила 55,0 года, большая часть пациентов (65%) относилась к возрастной группе 40–69 лет. Во 2-ю группу были включены пациенты, состояние которых было оценено в 0 или 1 балл ($n = 33$). Доля женщин в этой группе составила 57,6% ($n = 19$), мужчин – 42,4% ($n = 14$), медиана возраста – 38,0 года, основная часть пациентов (84,8%) принадлежала к возрастной группе 30–69 лет. В 3-ю группу были включены пациенты, чье состояние было оценено в 2–4 балла ($n = 34$). Доля женщин составила 47% ($n = 16$), мужчин – 53% ($n = 18$), медиана возраста – 55,0 года, основная возрастная группа (91%) – 18–79 лет. В 4-ю группу были включены пациенты, тяжесть состояния которых была оценена в 5–9 баллов ($n = 30$). Доля женщин составила 40% ($n = 12$), мужчин – 60% ($n = 18$), медиана возраста – 60,0 года, основная возрастная группа (77,9%) – 30–79 лет.

Группа сравнения была сформирована из 104 здоровых добровольцев, проживающих в Московском регионе. Доля мужчин составила 20,2% ($n = 21$), женщин – 79,8% ($n = 83$), медиана возраста – 39,0 года, основная возрастная группа (84,2%) – 20–59 лет. На момент забора крови никто из участников не болел COVID-19. Однако из данных анамнеза было установлено, что все, кроме одного, переболели ранее.

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ГБУЗ ИКБ № 1 (протоколы № 11/А от 16.10.2020 и № 8 от 28.12.2022).

Идентификацию РНК SARS-CoV-2 в клиническом материале (назальные, носоглоточные смывы) осуществляли с использованием наборов «РИБО-ПРЕП» («Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя. Выявление РНК вируса SARS-CoV-2 проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени, используя коммерческую тест-систему «SARS-CoV-2/Грипп Комплекс» («ДНК-Технология», Россия), а также набор «CDC Influenza SARS-CoV-2 (Flu SC2) Multiplex Assay» (CDC, США) на детектирующих

¹WHO. Coronavirus (COVID-19): Dashboard. Available at: <https://covid19.who.int/>

амплификаторах Bio-Rad CFX-96 («Bio-Rad», США) и ДТ-лайт («ДНК-Технология», Россия).

Выделение ДНК выполняли из лейкоцитов венозной крови, используя набор реагентов «ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА» («ДНК-Технология», Россия).

Определение генотипов в полиморфных локусах генов, кодирующих или влияющих на экспрессию: факторов свертывания крови *FGB* (-455, rs1800790 G/A), *FII* (20210, rs1799963 G/A), *FV* (1691, rs6025 G/A), *FVII* (10976, rs6046 G/A), *FXIII A1* (103, rs5985 G/T); генов субъединиц рецептора тромбоцитов к коллагену (*ITGA2*, 807, rs1126643 C/T) и фибриногену (*ITGB3*, 1565, rs5918 T/C); гена-антагониста тканевого активатора плазминогена типа 1 (*SERPINE1*, -675, rs1799889 5G/4G) – проводили с использованием набора реагентов «Генетика гемостаза» («ДНК-Технология», Россия) и детектирующего амплификатора ДТ-лайт («ДНК-Технология», Россия).

Статистический анализ выполняли с применением пакета программ Statistica 10 (StatSoft, США). Соответствие частот генотипов изучаемых генов равновесию Харди-Вайнберга оценивали с помощью таблиц сопряжения и критерия χ^2 , в случае малых значений сравниваемых величин (в любой ячейке менее 10) – с применением точного симметричного теста Фишера. Нулевую гипотезу отвергали при значении $p < 0,05$. Для подтверждения значимости также рассчитывали 95% доверитель-

ный интервал (ДИ) и отношение шансов (ОШ). В случаях, если величина ОШ имела значение меньше 1, указывали шансы исхода (ШИ). Последний показатель рассчитывали как величину, обратную ОШ. Тетраэрический показатель связи (он же коэффициент Бравэ, r_B), рассчитывали по общепринятой формуле Бравэ.

Результаты

Результаты анализа полиморфных локусов генов системы гемостаза для группы сравнения представлены в **табл. 1**.

Результаты анализа полиморфных локусов генов системы гемостаза для пациентов с COVID-19 представлены в **табл. 2**.

Достоверных различий в частоте обнаружения доминантных и рецессивных аллелей во всех анализируемых генах в группе сравнения и у пациентов с COVID-19 не было обнаружено (**табл. 2**). В связи с этим был выполнен анализ ОНП в 4 группах пациентов с COVID-19, различающихся по тяжести болезни, оцененной в баллах (сведения в разделе «Материалы и методы»).

Частота обнаружения аллелей значимо различалась только для ОНП гена *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G) (**табл. 3**). Доля аллеля 5G постепенно снижалась от 1-й к 4-й группе. А доля аллеля 4G увеличивалась от 1-й к 4-й группе.

Таблица 1. Генотипы и аллели полиморфных локусов генов в группе сравнения (n = 104)

Table 1. Genotypes and alleles of polymorphic gene loci in the comparison group (n = 104)

Генотипы и аллели Genotypes and alleles	<i>FGB</i> (rs1800790 G>A)	<i>F2</i> (rs179963 G>A)	<i>F5</i> (rs6025 G>A)	<i>F7</i> (rs6046 G>A)	<i>F13A1</i> (rs5985 G/T)	<i>SERPINE1</i> (rs1799889 5G>4G)	<i>ITGA2</i> (rs1126643 C>T)	<i>ITGB3</i> (rs5918 T>C)
Доминантный генотип, n Dominant genotype, n	60	103	98	67	49	24	48	73
Гетерозиготный и рецессивный генотипы, n Heterozygous and recessive genotype, n	44	1	6	37	55	80	56	31
Аллель доминантная/рецессивная, n (%) Allele dominant/recessive, n (%)	160/48 (76,9/23,1)	207/1 (99,5/0,5)	202/6 (97,1/2,9)	168/40 (80,8/19,2)	136/72 (65,4/34,6)	97/111 (46,6/53,4)	135/73 (64,9/35,1)	177/31 (85,1/14,9)

Таблица 2. Генотипы и аллели полиморфных локусов генов у пациентов с COVID-19 (n = 117)

Table 2. Genotypes and alleles of polymorphic gene loci in COVID-19 patients (n=117)

Генотипы и аллели Genotypes and alleles	<i>FGB</i> (rs1800790 G>A)	<i>F2</i> (rs179963 G>A)	<i>F5</i> (rs6025 G>A)	<i>F7</i> (rs6046 G>A)	<i>F13A1</i> (rs5985 G/T)	<i>SERPINE1</i> (rs1799889 5G>4G)	<i>ITGA2</i> (rs1126643 C>T)	<i>ITGB3</i> (rs5918 T>C)
Доминантный генотип, n (p) Dominant genotype, n (p)	62 (0,4830)	115 (1,0000)	114 (0,3119)	89 (0,0579)	63 (0,3178)	28 (0,8812)	40 (0,0697)	93 (0,1107)
Гетерозиготный и рецессивный генотипы, n (p) Heterozygous and recessive genotype, n (p)	55 (0,4830)	2 (1,0000)	3 (0,3119)	28 (0,0579)	54 (0,3178)	89 (0,8812)	77 (0,0697)	24 (0,1107)
Аллель доминантная/рецессивная, % (p) Allele dominant/recessive, % (p)	74,4/25,6 (0,5312)	99,2/0,8 (1,0000)	98,7/1,3 (0,3169)	87,6/12,4 (0,0501)	73,9/26,1 (0,0505)	47,4/52,6 (0,8662)	59,8/40,2 (0,4296)	88,5/11,5 (0,2956)

Примечание. Величина p рассчитана относительно данных группы сравнения.

Note. The p value was calculated relative to the comparison group data.

Частоты встречаемости различных генотипов полиморфного локуса гена *SERPINE1* пациентов с COVID-19 представлены в **табл. 4**.

Статистические показатели ассоциации отдельных генотипов и аллелей, рассчитанные по 4 группам инфицированных пациентов, представлены в **табл. 5**.

Шанс выявления генотипа 5G/5G у участников, перенесших COVID-19 бессимптомно, относительно пациентов с более тяжелым течением инфекции был высоким (ОИШ от 3,819 до 11,000). Нижняя граница 95% ДИ во всех случаях была более 1,0. Коэффициент связи (r_B) факта наличия генотипа 5G/5G (rs1799889) гена *SERPINE1* в группе бессимптомно перенесших COVID-19 относительно групп с более тяжелым течением инфекции (2, 3, 4-я группы) свидетельствовал о наличии умеренной связи ($> 3,0$). Очевидно, существуют другие факторы, влияющие на тяжесть течения инфекции. Коэффициент связи (r_B) факта наличия генотипа 4G/4G (rs1799889) гена *SERPINE1* в группе бессимптомно перенесших COVID-19 относительно 4-й группы пациентов соответствовал слабой связи ($< 3,0$). Тем не менее только в этой паре групп при сравнении частот аллелей 5G и 4G величина коэффициента связи соответствовала умеренной силе.

Обсуждение

В настоящем исследовании показано, что достоверных различий в аллельных вариантах полиморфных локусов 8 генов системы гемостаза между группами пациентов с COVID-19 (инфицированные) и здоровыми добровольцами (неинфицированные) не выявлено. Очевидно, это связано с тем, что в исследовании не была предусмотрена группа пациентов с летальным исходом. Кроме того, почти все участники группы сравнения переболели COVID-19, но в более ранний временной период. Поэтому, в представленном исследовании были сопоставлены ОНП изучаемых генов в группах с постепенно увеличивающейся тяжестью COVID-19, что позволило выявить значимые различия, которые ранее не удавалось обнаружить.

Анализ ОНП 8 генов системы гемостаза в группах пациентов с COVID-19, имевших разную тяжесть клинического течения, и участниками, перенесшими эту инфекцию бессимптомно, выявил достоверные различия только в ОНП одного гена *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G). Генотип 5G/5G был ассоциирован с более легким течением инфекции, а генотип 4G/4G – с более тяжелым. Частота выявления аллеля 5G гена *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G) в настоящем исследовании составила 47% (табл. 1, 2), что соответствует

Таблица 3. Частоты выявления доминантных и рецессивных аллелей в четырех группах пациентов с COVID-19

Table 3. Frequencies of detection of dominant and recessive alleles in four groups of COVID-19 patients

Группа Group	<i>FGB</i> (rs1800790 G>A)	<i>F2</i> (rs179963 G>A)	<i>F5</i> (rs6025 G>A)	<i>F7</i> (rs6046 G>A)	<i>F13A1</i> (rs5985 G/T)	<i>SERPINE1</i> (rs1799889 5G>4G)	<i>ITGA2</i> (rs1126643 C>T)	<i>ITGB3</i> (rs5918 T>C)
1-я группа 1 st group	72,5/27,5	100/0	97,5/2,5	90/10	72,5/27,5	72,5/27,5	55/45	87,5/12,5
2-я группа (p)* 2 nd group (p)*	69,7/30,3 (0,8280)	98,5/0,5 (1,0000)	100/0 (0,3774)	86,4/13,6 (0,7625)	75,8/24,2 (0,8188)	44/56 (0,0050)	57,6/42,4 (0,8415)	80,3/19,7 (0,4287)
3-я группа (p)* 3 rd group (p)*	75/25 (0,8220)	100/0 (> 0,05)	100/0 (0,3704)	83,8/16,2 (0,5655)	73,5/26,5 (1,0000)	45,6/54,4 (0,0090)	55,9/44,1 (1,0000)	91,2/8,8 (0,5315)
4-я группа (p)* 4 th group (p)*	80/20 (0,4686)	98,3/1,7 (1,0000)	96,7/3,3 (1,0000)	91,7/8,3 (1,0000)	75/25 (1,0000)	36,7/63,3 (0,0005)	70/30 (0,1415)	95/5 (0,2607)

Примечание. * – достоверность различий рассчитывали относительно соответствующих показателей 1-й группы.

Note. * – the significance of the differences was calculated relative to the corresponding indicators of 1st group.

Таблица 4. Частота встречаемости различных генотипов полиморфного локуса гена *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G) в четырех группах пациентов с COVID-19

Table 4. Frequency of occurrence of various genotypes of the polymorphic locus of the *SERPINE1* gene (rs1799889 5G/4G) in four groups of COVID-19 patients

Генотипы и аллели Genotypes and alleles	1-я группа (n = 20) 1 st group (n = 20)	2-я группа (n = 33) 2 nd group (n = 33)	3-я группа (n = 34) 3 rd group (n = 34)	4-я группа (n = 30) 4 th group (n = 30)
Доминантный генотип, n (p) Dominant genotype, n (p)	11	8 (0,0381)	6 (0,0066)	3 (0,0009)
Гетерозиготный генотип, n (p) Heterozygous genotype, n (p)	7	13 (0,7791)	19 (0,1670)	16 (0,2538)
Рецессивный генотип, n (p) Recessive genotype, n (p)	2	12 (0,0533)	9 (0,1810)	11 (0,0498)
Аллель доминантная/рецессивная, n (p) Allele dominant/recessive, n (p)	29/11	29/37 (0,0050)	31/37 (0,0090)	22/38 (0,0005)

Примечание. Значение p рассчитано относительно соответствующих показателей 1-й группы.

Note. The p value was calculated relative to the corresponding indicators of the 1st group.

Таблица 5. Статистические показатели ассоциации генотипов и аллелей гена *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G) с тяжестью COVID-19

Table 5. Statistical indicators of the association of genotypes and alleles of the *SERPINE1* gene (rs1799889 5G/4G) with COVID-19 severity

Генотип и аллели Genotypes and alleles	ОШ или ШИ OR or 1/OR (Chance of outcome)	95% ДИ 95% CI	Коэффициент связи (r _B) Connection coefficient (r _B)
Относительно 2-й группы Regarding 2 nd group			
<i>SERPINE1</i> 5G/5G	3,819	1,165–12,522	0,311
<i>SERPINE1</i> 5G vs 4G	3,364	1,441–7,849	0,278
Относительно 3-й группы Regarding 3 rd group			
<i>SERPINE1</i> 5G/5G	5,704	1,640–19,837	0,388
<i>SERPINE1</i> 5G vs 4G	3,147	1,355–7,305	0,228
Относительно 4-й группы Regarding 4 th group			
<i>SERPINE1</i> 5G/5G	11,000	2,497–48,461	0,491
<i>SERPINE1</i> 4G/4G	5,211 (ШИ) 5,211 (1/OR)	1,012–26,829	0,298
<i>SERPINE1</i> 5G vs 4G	4,554	1,907–10,873	0,351

показателям европейской популяции [12]. Продуктом гена *SERPINE1* является белок PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1), основная функция которого ингибировать активатор плазминогена как клеточного, так и урокиназного типа [13]. Известно, что при наличии аллеля 4G (rs1799889) в регионе промотора происходит более высокая экспрессия гена *SERPINE1*, чем при доминантном генотипе 5G/5G. Избыток белка PAI-1 приводит к повышенному тромбообразованию за счет снижения фибринолитической активности [14]. В ранее проведенных исследованиях установлено, что наличие генотипа 4G/4G или аллеля 4G (rs1799889) в гене *SERPINE1* ассоциировано с повышенным риском развития венозных тромбозов [14], ишемического инсульта [15], диабетической нефропатии [16], онкологии [17], сепсиса [18], со снижением баланса нейтрофилов и лимфоцитов [19] и системной красной волчанкой [20]. Учитывая вовлеченность аллеля 4G (rs1799889) в соотношение баланса нейтрофилов/лимфоцитов, можно предположить, что этот факт может влиять на клиническое течение COVID-19. Известно, что при тяжелом течении COVID-19 это соотношение повышено за счет лимфопении, что является показателем неспособности завершить воспаление [21]. Нейтрофилы как важный компонент иммунной защиты скапливаются в местах наличия патогена.

Изучая роль полиморфизма генов системы гемостаза в патогенезе COVID-19, отечественные исследо-

ватели В.Н. Городин и соавт. пришли к выводу, что аллель риска 4G в полиморфной зоне (rs1799889) гена *SERPINE1* может иметь защитное значение при данном заболевании [22]. Такое заключение вызывает сомнение, поскольку аллель риска 4G повышает тромбообразование, которое отягчает течение COVID-19 и может привести к летальному исходу. Вероятно, анализируя небольшую группу пациентов (52 больных), авторы сделали ошибочный вывод.

Проанализированные в настоящем исследовании ОНП генов плазменного и тромбоцитарного звена гемостаза не имели ассоциации с вариантами течения COVID-19.

Заключение

В настоящем исследовании был изучен потенциально возможный вклад ОНП генов плазменного, тромбоцитарного и фибринолитического звена гемостаза в варианты течения COVID-19. Сформировав 4 группы участников, различающиеся по тяжести клинических проявлений, удалось выявить ассоциацию гена фибринолитического звена гемостаза *SERPINE1* (rs1799889 5G/4G) с течением COVID-19.

Анализ генотипов и аллелей в этих 4 группах позволил обнаружить, что частота аллеля 5G и генотипа 5G/5G снижается по мере увеличения тяжести COVID-19, в то время как частота аллеля 4G и генотипа 4G/4G увеличивается. Можно предположить, что аллель риска 4G (rs1799889) гена *SERPINE1* вовлечена в патогенез инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

Предиктивным генетическим маркером более легкого клинического течения COVID-19 является генотип 5G/5G (rs1799889) гена *SERPINE1*. Наличие генотипа 4G/4G (rs1799889) гена *SERPINE1* является маркером более тяжелого течения COVID-19. Данное исследование представляет интерес для развития персонализированной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

- Hui D.S., Azhar E.I., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health – The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 91: 264–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.009>
- Chen Y., Lio Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 2020; 92(4): 418–23. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020; 135(23): 2033–40. <https://doi.org/10.1182/blood.2020060000>
- Dolhnikoff M., Duarte-Neto A.N., de Almeida Monteiro R.A., da Silva L.F.F., de Oliveira E.P., Saldiva P.H.N., et al. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(6): 1517–9. <https://doi.org/10.1111/jth.14844>
- Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., et al. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet.* 2020; 395(10234): 1417–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- Arachchillage D.R.J., Laffan M. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(5): 1233–4. <https://doi.org/10.1111/jth.14820>
- Gupta A., Madhavan M.V., Sehgal K., Nair N., Mahajan S., Sehrawat T.S., et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19.

- Nat. Med.* 2020; 26(7): 1017–32. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>.
8. Baranova A., Cao H., Zhang F. Unraveling risk genes of COVID-19 by multi-omics integrative analyses. *Front. Med. (Lausanne)*. 2021; 8: 738687. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.738687>
 9. Saponi-Cortes J.M.R., Rivas M.D., Calle-Alonso F., Sanchez J.F., Costo A., Martin C., et al. IFNL4 genetic variant can predispose to COVID-19. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 21185. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00747-z>
 10. Samadzadeh S., Masoudi M., Rastegar M., Salimi V., Shahbaz M.B., Tahamtan A. COVID-19: why does disease severity vary among individuals? *Respir. Med.* 2021; 180: 106356. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2021.106356>
 11. Pairo-Castineira E., Rawlik K., Bretherick A.D., Qi T., Wu Y., Nassiri I., et al. GWAS and meta-analysis identifies 49 genetic variants underlying critical COVID-19. *Nature*. 2023; 617(7962): 764–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06034-3>
 12. Chen J.Y., Zhai C.N., Wang Z.Q., Li R., Wu W.J., Hou K., et al. The susceptibility of SERPINE1 rs1799889 SNP in diabetic vascular complications: a meta-analysis of fifty-one case-control studies. *BMC Endocr. Disord.* 2021; 21(1): 195. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00837-z>
 13. Gils A., Declerck P.J. Plasminogen activator inhibitor-1. *Curr. Med. Chem.* 2004; 11(17): 2323–34. <https://doi.org/10.2174/0929867043364595>
 14. Zhang Q., Jin Y., Li X., Peng X., Peng N., Song J. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism – a meta-analysis and systematic review. *Vasa*. 2020; 49(2): 141–6. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000839>
 15. Huang X., Li Y., Huang Z., Wang C., Xu Z. PAI-1 gene variants and COC use are associated with stroke risk: a case-control study in the Han Chinese women. *J. Mol. Neurosci.* 2014; 54(4): 803–10. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0418-0>
 16. Gao W.F., Guo Y.B., Bai Y., Ding X.Y., Yan Y.J., Wu Z.Q. Association between PAI-1 4G/5G polymorphism and diabetic nephropathy: a meta-analysis in the Chinese population. *Int. Urol. Nephrol.* 2016; 48(9): 1483–9. <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1333-9>
 17. Wang S., Cao Q., Wang X., Li B., Tang M., Yuan W., et al. PAI-1 4G/5G polymorphism contributes to cancer susceptibility: evidence from meta-analysis. *PLoS One*. 2013; 8(2): e56797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056797>
 18. Madách K., Aladzsity I., Szilágyi A., Fust G., Gál J., Péntes I., et al. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study. *Crit. Care*. 2010; 14(2): R79. <https://doi.org/10.1186/cc8992>
 19. Wang Z., Kong L., Luo G., Zhang H., Sun F., Liang W., et al. Clinical impact of the PAI-1 4G/5G polymorphism in Chinese patients with venous thromboembolism. *Thromb. J.* 2022; 20(1): 68. <https://doi.org/10.1186/s12959-022-00430-x>
 20. Li W., Mao S., Wu L., Shi W., Zhang J., Wang Z. Association between the PAI-1 4G/5G gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus/lupus nephritis. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2019; 29(1): 85–94. <https://doi.org/10.1615/critrevueukaryot-geneexpr.2019025311>
 21. Kong M., Zhang H., Cao X., Lu Z. Higher level of neutrophil-to-lymphocyte is associated with severe COVID-19. *Epidemiol. Infect.* 2020; 148: e139. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001557>
 22. Городин В.Н., Мойсова Д.П., Зотов С.В., Ваниюков А.А., Подсадная А.А., Тихоненко Ю.В. Роль полиморфизма генов системы гемостаза в патогенезе COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2021; 19(2): 16–26. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2021-2-16-26> <https://elibrary.ru/ooovc>
 23. Chen Y., Lio Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 2020; 92(4): 418–23. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
 24. Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood*. 2020; 135(23): 2033–40. <https://doi.org/10.1182/blood.2020060000>
 25. Dolhnikoff M., Duarte-Neto A.N., de Almeida Monteiro R.A., da Silva L.F.F., de Oliveira E.P., Saldiva P.H.N., et al. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(6): 1517–9. <https://doi.org/10.1111/jth.14844>
 26. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10234): 1417–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
 27. Arachchillage D.R.J., Laffan M. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(5): 1233–4. <https://doi.org/10.1111/jth.14820>
 28. Gupta A., Madhavan M.V., Sehgal K., Nair N., Mahajan S., Sehrawat T.S., et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(7): 1017–32. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>
 29. Baranova A., Cao H., Zhang F. Unraveling risk genes of COVID-19 by multi-omics integrative analyses. *Front. Med. (Lausanne)*. 2021; 8: 738687. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.738687>
 30. Saponi-Cortes J.M.R., Rivas M.D., Calle-Alonso F., Sanchez J.F., Costo A., Martin C., et al. IFNL4 genetic variant can predispose to COVID-19. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 21185. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00747-z>
 31. Samadzadeh S., Masoudi M., Rastegar M., Salimi V., Shahbaz M.B., Tahamtan A. COVID-19: why does disease severity vary among individuals? *Respir. Med.* 2021; 180: 106356. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2021.106356>
 32. Pairo-Castineira E., Rawlik K., Bretherick A.D., Qi T., Wu Y., Nassiri I., et al. GWAS and meta-analysis identifies 49 genetic variants underlying critical COVID-19. *Nature*. 2023; 617(7962): 764–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06034-3>
 33. Chen J.Y., Zhai C.N., Wang Z.Q., Li R., Wu W.J., Hou K., et al. The susceptibility of SERPINE1 rs1799889 SNP in diabetic vascular complications: a meta-analysis of fifty-one case-control studies. *BMC Endocr. Disord.* 2021; 21(1): 195. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00837-z>
 34. Gils A., Declerck P.J. Plasminogen activator inhibitor-1. *Curr. Med. Chem.* 2004; 11(17): 2323–34. <https://doi.org/10.2174/0929867043364595>
 35. Zhang Q., Jin Y., Li X., Peng X., Peng N., Song J. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism – a meta-analysis and systematic review. *Vasa*. 2020; 49(2): 141–6. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000839>
 36. Huang X., Li Y., Huang Z., Wang C., Xu Z. PAI-1 gene variants and COC use are associated with stroke risk: a case-control study in the Han Chinese women. *J. Mol. Neurosci.* 2014; 54(4): 803–10. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0418-0>
 37. Gao W.F., Guo Y.B., Bai Y., Ding X.Y., Yan Y.J., Wu Z.Q. Association between PAI-1 4G/5G polymorphism and diabetic nephropathy: a meta-analysis in the Chinese population. *Int. Urol. Nephrol.* 2016; 48(9): 1483–9. <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1333-9>
 38. Wang S., Cao Q., Wang X., Li B., Tang M., Yuan W., et al. PAI-1 4G/5G polymorphism contributes to cancer susceptibility: evidence from meta-analysis. *PLoS One*. 2013; 8(2): e56797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056797>
 39. Madách K., Aladzsity I., Szilágyi A., Fust G., Gál J., Péntes I., et al. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study. *Crit. Care*. 2010; 14(2): R79. <https://doi.org/10.1186/cc8992>
 40. Wang Z., Kong L., Luo G., Zhang H., Sun F., Liang W., et al. Clinical impact of the PAI-1 4G/5G polymorphism in Chinese patients with venous thromboembolism. *Thromb. J.* 2022; 20(1): 68. <https://doi.org/10.1186/s12959-022-00430-x>
 41. Li W., Mao S., Wu L., Shi W., Zhang J., Wang Z. Association between the PAI-1 4G/5G gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus/lupus nephritis. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2019; 29(1): 85–94. <https://doi.org/10.1615/critrevueukaryot-geneexpr.2019025311>
 42. Kong M., Zhang H., Cao X., Lu Z. Higher level of neutrophil-to-lymphocyte is associated with severe COVID-19. *Epidemiol. Infect.* 2020; 148: e139. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001557>
 43. Городин В.Н., Мойсова Д.П., Зотов С.В., Ваниюков А.А., Подсадная А.А., Тихоненко Ю.В. Роль полиморфизма генов системы гемостаза в патогенезе COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2021; 19(2): 16–26. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2021-2-16-26> <https://elibrary.ru/ooovc>

REFERENCES

1. Hui D.S., Azhar E.I., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health – The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 91: 264–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.009>

- 2019; 29(1): 85–94. <https://doi.org/10.1615/critreveukaryotgeneex-pr.2019025311>
21. Kong M., Zhang H., Cao X., Lu Z. Higher level of neutrophil-to-lymphocyte is associated with severe COVID-19. *Epidemiol. Infect.* 2020; 148: e139. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001557>
22. Gorodin V.N., Moysova D.P., Zotov S.V., Vanyukov A.A., Podsadnaya A.A., Tikhonenko Yu.V. Role of polymorphisms of genes involved in hemostasis in COVID-19 pathogenesis. *Infektsionnye bolezni.* 2021; 19(2): 16–26. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2021-2-16-26> <https://elibrary.ru/ooovoc> (in Russian)

Информация об авторах:

Николаева Людмила Ивановна  – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: l.i.nikolaeva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1323-5568>

Стучинская Майя Денисовна – младший научный сотрудник лаборатории генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: mayastaya@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8544-7482>

Дедова Анна Владимировна – аспирант лаборатории генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: dedova.anna2010@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2491-9324>

Шевченко Надежда Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: dr.nadya@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2486-4554>

Хлопова Ирина Николаевна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хронических вирусных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: khlopova.ira@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7419-590X>

Кружкова Ирина Сергеевна – научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: irina-kru@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1983-481X>

Меркулова Лилия Николаевна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: merkulova0320@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>

Кистенева Лидия Борисовна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хронических вирусных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: lborisovna2007@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7336-409X>

Колобухина Людмила Васильевна – д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, врач-инфекционист ГБУЗ ИКБ № 1 ДЗМ, Москва, Россия. E-mail: kolobuchina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Мукашева Евгения Андреевна – научный сотрудник лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: mukasheva_evgeniya@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5688-5309>

Краснослободцев Кирилл Геннадьевич – научный сотрудник лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kkg_87@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Трушакова Светлана Викторовна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: s.trushakova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9610-3041>

Крепкая Анастасия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: nastya18-96@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7272-4011>

Куприянов Виктор Васильевич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: vkoup@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8602-1974>

Никитенко Наталья Анатольевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной микробиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: nan-nikitenko@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5829-744X>

Хадорич Елизавета Андреевна – лаборант-исследователь лаборатории клеточной микробиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: eli.hadd@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0005-1816-0496>

Бурмистров Егор Михайлович – научный сотрудник лаборатории клеточной микробиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: burmistrov.gamaleya@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6592-8331>

Тюрин Игорь Николаевич – канд. мед. наук, главный врач ГБУЗ ИКБ № 1 ДЗМ, Москва, Россия. E-mail: tyurin.dti@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5696-1586>

Антипят Наталья Александровна – заместитель главного врача по медицинской части ГБУЗ ИКБ № 1 ДЗМ, Москва, Россия. E-mail: natadoc70@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8578-2838>

Бурцева Елена Ивановна – д-р мед. наук, руководитель лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: elena-burtseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

Участие авторов: Николаева Л.И. – концепция, дизайн, формирование базы данных; Стучинская М.Д., Дедова А.В. – выделение ДНК, подготовка проб, анализ и обсчет генетических данных; Шевченко Н.Г., Хлопова И.Н., Кружкова И.С., Меркулова Л.Н., Кистенева Л.Б., Колобухина Л.В., Тюрин И.Н., Антипят Н.А. – формирование и анализ групп пациентов; Мукашева Е.А., Краснослободцев К.Г., Трушакова С.В., Крепкая А.С. – проведение и контроль качества ПЦР; Никитенко Н.А., Хадорич Е.А., Бурмистров Е.М. – формирование группы сравнения и анализ ее данных; Куприянов В.В., Бурцева Е.И. – дизайн исследования и анализ результатов. Все авторы участвовали в интерпретации данных, подготовке текста и одобрении окончательного варианта статьи перед публикацией.

Поступила 11.09.2023
Принята в печать 23.10.2023
Опубликована 31.10.2023

Information about the authors:

Lyudmila I. Nikolaeva  – D.Sci. in Biology, Leading Researcher of the Laboratory Gene Engineering Products, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: l.i.nikolaeva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1323-5568>

Maya D. Stuchinskaya – junior researcher of the Laboratory Gene Engineering Products, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: mayastaya@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8544-7482>

Anna V. Dedova – graduate student of the Laboratory Gene Engineering Products, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia. E-mail: dedova.anna2010@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2491-9324>

Nadezhda G. Shevchenko – junior researcher of the Laboratory Gene Engineering Products, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: dr.nadya@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2486-4554>

Irina N. Khlopova – C.Sci. in Medicine, leading researcher of the Laboratory chronic viral infections, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: khlopova.ira@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7419-590X>

Irina S. Kruzhkova – researcher of the Laboratory respiratory viral infections with drug testing, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: irina-kru@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1983-481X>

Lilya N. Merkulova – C.Sci. in Medicine, leading researcher of the Laboratory respiratory of the viral infections with drug testing, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: merkulova0320@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>

Lidya B. Kisteneva – D.Sci. in Medicine, leading researcher of the Laboratory chronic viral infections, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: lborisovna2007@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7336-409X>

Lyudmila V. Kolobukhina – D.Sci. in Medicine, leading researcher of the Laboratory respiratory viral infections with drug testing, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: kolobuchina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Evgenya A. Mukasheva – researcher of the Laboratory of Influenza Etiology and Epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: mukasheva_evgeniya@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5688-5309>

Kirill G. Krasnoslobodtsev – researcher of the Laboratory of Influenza Etiology and Epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: kkg_87@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Svetlana V. Trushakova – C.Sci. in Biology, senior researcher of the Laboratory of Influenza Etiology and Epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: s.trushakova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9610-3041>

Anastasia S. Krepkaya – junior researcher of the Laboratory of Influenza Etiology and Epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: nastya18-96@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7272-4011>

Victor V. Kuprianov – C.Sci. in Biology, senior researcher of the Laboratory Gene Engineering Products, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: vkoup@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8602-1974>

Natalia A. Nikitenko – C.Sci. in Biology, senior researcher of the Cell Microbiology Laboratory, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: nan-nikitenko@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5829-744X>

Elizaveta A. Khadorich – laboratory assistant of the Cell Microbiology Laboratory, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: eli.hadd@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0005-1816-0496>

Egor M. Burmistrov – researcher of the Cell Microbiology Laboratory, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: burmistrov.gamaleya@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6592-8331>

Igor N. Tyurin – C.Sci. in Medicine, Chief Physician, Infection Diseases Clinical Hospital No 1, Moscow Department of Health, Moscow, Russia. E-mail: tyurin.dti@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5696-1586>

Natalia A. Antipyat – Deputy Chief Physician for Medical Affairs, Infection Diseases Clinical Hospital No 1, Moscow Department of Health, Moscow, Russia. E-mail: natadoc70@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8578-2838>

Elena I. Burtseva – D.Sci. in Medicine, Head of the Laboratory of Influenza Etiology and Epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: elena-burtseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

Contribution: Nikolaeva L.I. – concept, design, database formation; Stuchinskaya M.D., Dedova A.V. – DNA extraction, sample preparation, analysis and calculation of genetic data; Shevchenko N.G., Khlopova I.N., Kruzhkova I.S., Merkulova L.N., Kisteneva L.B., Kolobukhina L.V., Tyurin I.N., Antipyat N.A. – formation and analysis of patient groups; Mukasheva E.A., Krasnoslobodtsev K.G., Trushakova S.V., Krepkaya A.S. – conducting and quality control of PCR; Nikitenko N.A., Khadorich E.A., Burmistrov E.M. – formation of a comparison group and analysis of its data; Kupriyanov V.V., Burtseva E.I. – design and analysis of the results. All authors participated in data interpretation, text preparation, and approval of the final version of the article before publication.

Received 11 September 2023

Accepted 23 October 2023

Published 31 October 2023

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ



К 90-летию со дня рождения Николая Вениаминовича Каверина



11 октября 2023 г. исполнилось 90 лет со дня рождения выдающегося российского вирусолога, академика РАН Николая Вениаминовича Каверина.

Н.В. Каверин родился в Ленинграде в известной литературной семье Вениамина Александровича Каверина и Лидии Николаевны Тыняновой. В 1951 г. окончил школу с золотой медалью и поступил в 1-й Московский медицинский институт им. И.М. Сеченова. На старших курсах Каверин уже работал в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, а в 1960 г., по окончании аспирантуры, защитил кандидатскую диссертацию. Первые работы Каверина были посвящены изучению вирусов энцефаломиелитов, вызывающих тяжелое поражение центральной нервной системы лошадей. В 1962 г. Николай Вениаминович женился на Наталье Николаевне Заболоцкой, дочери выдающегося русского поэта и переводчика Николая Заболоцкого. Этот брак оказался счастливым. В 1967 г. Каверин защитил докторскую диссертацию на тему «Начальные стадии вирусной инфекции и некоторые проблемы регуляции биосинтеза белка», в которой описал, как происходит подавление синтеза белка в клетках, зараженных вирусами энцефаломиокардита, болезни Ньюкасла и венесуэльского энцефаломиелита лошадей.

В 1970–1987 гг. Н.В. Каверин возглавлял лабораторию субвирусных структур Института вирусологии

им. Д.И. Ивановского РАМН, где под его руководством были сделаны важные достижения в вирусологии: открытие полицистронной природы генома парамиксовирусов; создание концептуальной модели регуляции синтеза РНК вируса гриппа в зараженных клетках; описание смешанной инфекции, вызванной вирусами гриппа А и В, в зараженных клетках.

В 1987–2014 гг. Н.В. Каверин был руководителем лаборатории физиологии вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского. В этот период коллективом лаборатории проводилось изучение механизмов постреассортационной адаптации гемагглютинина и нейраминидазы вируса гриппа, которые позволяют преодолеть их неполную функциональную совместимость. Также было проведено антигенное картирование гемагглютининов вируса гриппа А подтипов H5, H9 и пандемического (2009 г.) подтипа H1, выявление варьирующих антигенных эпитопов в структуре белка нуклеопротеина вируса гриппа А.

В последние годы научный интерес Каверина был направлен на выявление роли мутаций в молекуле гемагглютинина вируса гриппа А, обеспечивающих резистентность к моноклональным антителам, на фенотипические свойства вируса.

В 2005 г. Н.В. Каверин являлся действительным членом РАМН отделения профилактической медицины по специальности «вирусология», а впоследствии – академиком РАН.

Н.Н. Заболоцкая, жена ученого, прислала одну из последних фотографий Николая Вениаминовича, сделанную в день его 80-летия 11 октября 2013 г. в Нэшвилле (штат Теннесси, США) на фоне букета цветов, который подарен сотрудниками лаборатории физиологии вирусов. Н.В. Каверин умер 15 февраля 2014 г. и похоронен в Нэшвилле.

Николай Вениаминович Каверин оставил богатое наследие: это его труды, ученики и последователи. Его нет с нами, однако в лаборатории физиологии вирусов, наряду с другими направлениями, продолжают реализовывать его идеи. В настоящее время ранее возглавляемая Н.В. Кавериним лаборатория активно взаимодействует как с другими лабораториями ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, так и с разными научными учреждениями по фундаментальным и прикладным направлениям.

Руководитель лаборатории физиологии вирусов,
к.б.н. Тимофеева Т.А.
Академик РАН Львов Д.К.

НЕКРОЛОГИ



Беседнова Наталия Николаевна (02.02.1935 – 23.09.2023)



Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора с прискорбием сообщает, что 23 сентября 2023 г. на 89-м году жизни скончалась Наталия Николаевна Беседнова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, действительный член Российской академии наук, лауреат Государственной премии СССР, выдающийся учёный, блестящий организатор, прекрасный педагог и замечательный человек.

Наталия Николаевна Беседнова родилась 2 февраля 1935 г. в г. Клязьма Московской области. После окончания в 1959 году Первого Московского медицинского института им. И.М. Сеченова по распределению приехала в г. Владивосток, где начала работать врачом-эпидемиологом городской санитарно-эпидемиологической станции. С 1960 г. трудовая деятельность Н.Н. Беседновой связана с Научно-исследовательским институтом эпидемиологии и микробиологии, где она прошла путь от младшего научного сотрудника до руководителя лаборатории, заместителя директора по научной работе и директора Института, которым успешно руководила на протяжении двух десятилетий.

В 1969 г. Наталия Николаевна защитила кандидатскую, в 1980 г. – докторскую диссертацию на тему «Экспериментальное и клинико-эпидемиологическое изучение псевдотуберкулезной инфекции». В 1991 г. ей было присвоено звание профессора по специальности «Аллергология и иммунология». В 1993 г. Н.Н. Беседнова была избрана членом-корреспондентом, в 2000 г. – академиком Российской академии медицинских наук. С 2013 г. Н.Н. Беседнова – действительный член Российской академии наук.

В последние годы своей научной деятельности Н.Н. Беседнова занимала должность главного научного сотрудника Института.

Научная деятельность Н.Н. Беседновой была сосредоточена на проблемах диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Под её руководством выполнены циклы обширных исследований по иммунологии брюшного тифа, псевдотуберкулеза, дифтерии. В 1989 г. за работу по изучению нового клинико-эпидемического проявления псевдотуберкулезной инфекции у человека (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки) в числе группы сотрудников Института Н.Н. Беседнова была удостоена Государственной премии СССР.

В 1970-х гг. Наталья Николаевна явилась инициатором создания и развития нового научного направления по изучению клеточных и молекулярных механизмов иммуномодулирующего действия биологически активных веществ из гидробионтов Тихого океана, организовав широкое сотрудничество с Тихоокеанским институтом биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Тихоокеанским научно-исследовательским рыбохозяйственным центром, Тихоокеанским государственным медицинским университетом и практическими учреждениями здравоохранения. В результате исследований, координируемых Н.Н. Беседновой, были получены новые данные об иммуномодулирующих, антибактериальных, противовирусных, противоопухолевых, антиадгезивных, антиэндотоксических, проапоптотических, гепатозащитных, гиполипидемических свойствах биологически активных веществ морского происхождения, установлены клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия, обоснована возможность конструирования инновационных лекарственных средств на их основе, разработаны экологически безопасные продукты функционального питания и биологически активных добавок к пище, удостоенные золотых и платиновых знаков качества, дипломов победителей национальных и зарубежных конкурсов. Н.Н. Беседнова являлась научным руководителем Клинико-диагностического

центра геронтологии и биотерапии, созданного при ее участии на базе терапевтического отделения Медицинского объединения ДВО РАН, где проводится оценка клинической эффективности препаратов на основе биологически активных веществ из объектов наземной и морской флоры и фауны Дальнего Востока.

Н.Н. Беседновой создана школа высококвалифицированных специалистов в области микробиологии и иммунологии, многие из которых в настоящее время работают на кафедрах в вузах, заведуют лабораториями института, отделениями клиник. Под её руководством защищены 31 кандидатская и 6 докторских диссертаций. Н.Н. Беседнова является автором более 300 печатных работ, 32 патентов, 15 монографий, пособий для практических врачей, технологической документации.

С 2014 г. Н.Н. Беседнова возглавила работу Объединённого Учёного Совета ДВО РАН по медицинским и физиологическим наукам, многие годы являлась членом диссертационных советов ДКМ 208.007.02 и Д 307.012.01, членом Координационного совета и Чрезвычайной противоэпидемической комиссии

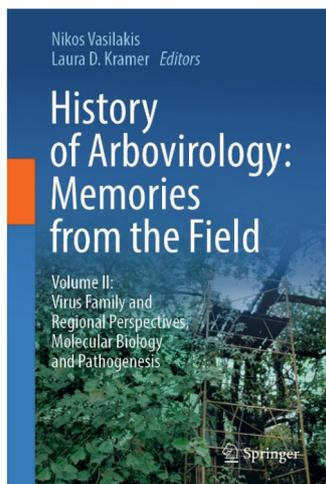
при Департаменте здравоохранения администрации Приморского края, членом редакционных коллегий журнала «Антибиотики и химиотерапия», «Бюллетень Сибирского отделения РАМН», «Тихоокеанский медицинский журнал», «Здоровье. Медицинская экология. Наука».

В 2001 г. Н.Н. Беседновой было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». Её весомый вклад в науку отмечен высокими наградами СССР и Российской Федерации: орденом «Знак Почета», медалью ВДНХ, орденом Дружбы, медалью им. академика В.И. Покровского.

На протяжении всей своей трудовой деятельности Наталья Николаевна Беседнова оставалась интеллигентным, добрым и внимательным к коллегам и друзьям человеком, отдавала все силы, знания и опыт сотрудникам института.

Ушла из жизни замечательная женщина. Её не забудут те, кто когда-либо общался с ней. Нам всем будет не хватать доброго друга и мудрого наставника. Светлая память о ней навсегда сохранится в наших сердцах.

ИНФОРМАЦИЯ



History of Arbovirology: Memories from the Field (Vasilakis N., Kramer L.D., eds), Springer Nature, Switzerland A.G., 2023 (eBook ISBN 978-3-031-22003-6)

В печать вышла международная монография «*History of Arbovirology: Memories from the field*» (Vasilakis N., Kramer L.D., eds), Springer Nature, Switzerland A.G., 2023 (eBook ISBN 978-3-031-22003-6).

Арбовирусология представляет существенный раздел вирусологии, который изучает большую экологическую группу вирусов (более 500), передающихся восприимчивым позвоночным (Vertebrata) путем биологической трансмиссии через укус кровососущих членистоногих (Arthropoda) переносчиков. Большинство известных переносчиков арбовирусов – иксодовые (Ixodidae) и аргасовые (Argasidae) клещи (класс паукообразные Arachnida) и двукрылые насекомые (Insecta: Diptera), такие как комары (Culicidae), москиты (Psychodidae: *Phlebotomus*) и мокрецы (Ceratopogonidae). Более 100 арбовирусов способны вызывать заболевания людей, в том числе протекающие с высокой летальностью обширные вспышки геморрагических лихорадок и энцефалитов.

Монография содержит персональные размышления ведущих арбовирусологов по проблеме арбовирусов и сведения по молекулярной биологии, патогенезу, историческим аспектам изучения этой группы вирусов в различных климатических поясах Старого и Нового Света. Материалы изучения арбовирусов в Северной части Евразии представлены в главе 2-го тома: Lvov D.K., Alkhovsky S.V. A Brief Historical Overview of the discovery of Arboviruses in the USSR and Russia. В этой главе представлены следующие разделы: 1. The birth of virology; 2. The development of virology: the history of emerging viruses; 3. Systemic ecological approach to investigating of zoonotic viruses of Northern Eurasia (3.1 Alphaviruses; 3.2 Tick-borne encephalitis virus, West Nile virus and other flaviviruses; 3.3 Tick-borne cardioviruses; 3.4 Orbiviruses; 3.5 Tick-borne orthomyxoviruses; 3.6 Bunyaviruses); 4. Afterwards, References 1-81. Более подробные данные по исследованиям арбовирусов в Северной Евразии изложены в ранее выпущенной монографии: Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovsky S.V., Deryabin P. G *Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology*. London: Academic Press. Elsevier., 2015. 430 с. Исторические аспекты становления вирусологии как науки и, в частности, арбовирусологии в нашей стране подробно изложены в вышедшей в 2022 г. статье: Львов Д.К., Альховский С.В., Жирнов О.П. 130 лет вирусологии. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(5): 357-384. Последняя информация по таксономии вирусов, в настоящее время сгруппированных в 6 доменов, 10 царств, 40 классов, 72 отряда, 264 семейства, 182 подсемейства, 2818 родов, 11 273 видов, утверждена Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) и доступна по ссылке <https://ictv.global/taxonomy>.

Академик РАН Д.К. Львов
Член-корреспондент РАН С.В. Альховский

Обновленные (2023 г.) наукометрические показатели журнала «Вопросы вирусологии»



Обновлены показатели журнала «Вопросы вирусологии» в библиографической и реферативной базе данных научной литературы Scopus (<https://www.scopus.com/sourceid/20889>). На сегодняшний день журнал «Вопросы вирусологии» имеет H-индекс 18, находится в 4-м квартиле Scopus, в 47-м процентиле и занимает 438-е место в рейтинге из 830 журналов категории «General Medicine». Его четырехлетний индекс цитирования CiteScore, рассчитанный за 2019–2022 гг, достиг значения 1.6. Этот наукометрический показатель характеризует среднее количество цитат, полученных каждым документом, опубликованным в периодическом издании, он обновляется в базе Scopus ежегодно. С 2019 г. четырехлетний индекс цитирования журнала «Вопросы вирусологии» вырос более чем вдвое. Динамика наукометрических показателей журнала отражена на **рис. 1–3**. Скользящий индекс цитирования CiteScore Tracker, который рассчитывается ежемесячно, на 5 октября 2023 г. составил 1.9, что свидетельствует о сохранении положительной динамики индекса цитирования (**таблица**). В российской базе цитирования RSCI (Russian Science Citation Index) журнал «Вопросы вирусологии» (https://elibrary.ru/title_profile.asp?id=7705) расположен в квартиле K1 и показывает уверенный рост двухлетнего индекса цитирования (**рис. 4**).

Редакционная коллегия благодарит авторов и рецензентов за их выдающийся вклад в развитие журнала и рассчитывает на дальнейшее плодотворное сотрудничество.

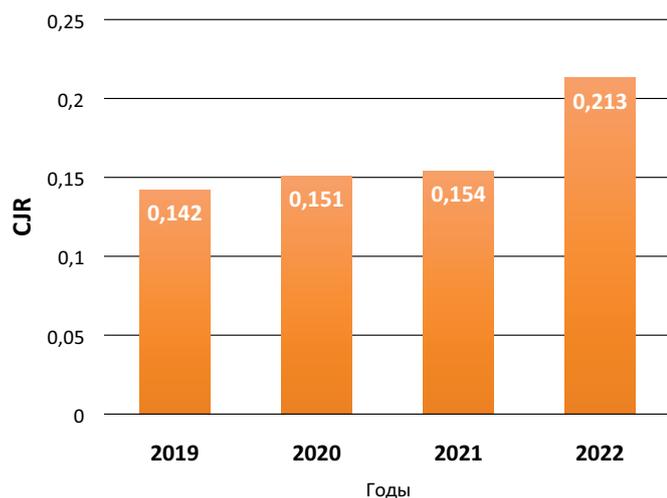


Рис. 1. Динамика показателя SCImago Journal Rank в библиографической и реферативной базе данных Scopus (оценивает взвешенное количество цитат, полученных серией публикаций) журнала «Вопросы вирусологии».

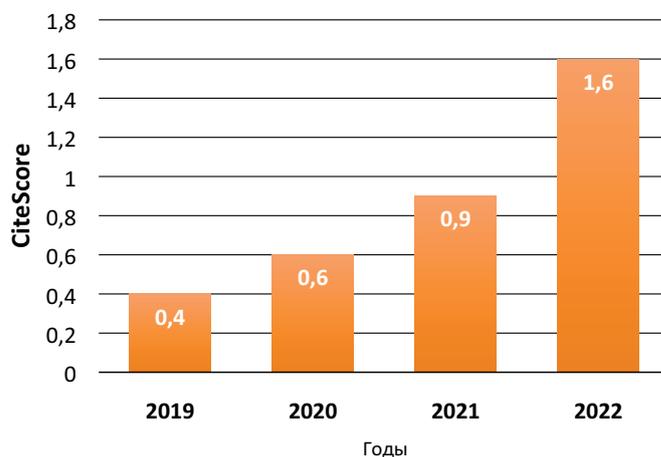


Рис. 2. Динамика показателя CiteScore в библиографической и реферативной базе данных Scopus (характеризует среднее количество цитат, полученных каждым документом, опубликованным в периодическом издании) журнала «Вопросы вирусологии».

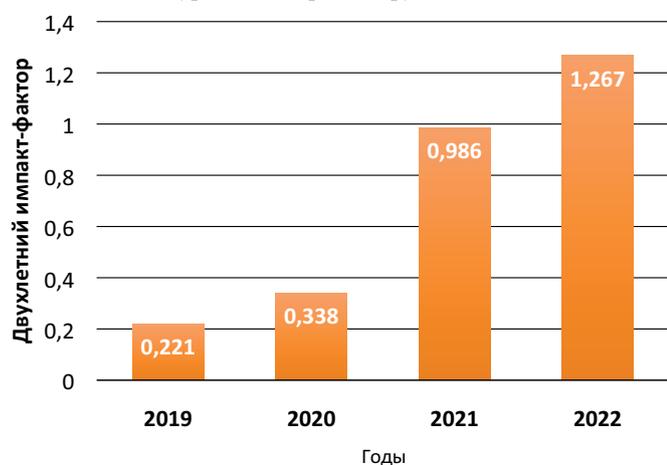


Рис. 3. Динамика двухлетнего импакт-фактора журнала «Вопросы вирусологии» в базе Scopus.

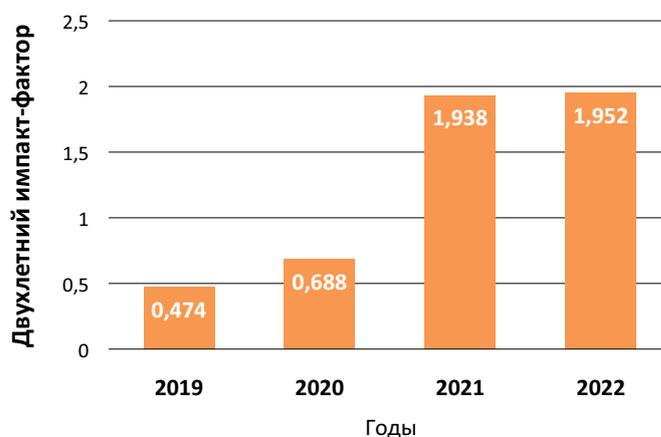


Рис. 4. Динамика двухлетнего импакт-фактора журнала «Вопросы вирусологии» в базе РИНЦ.

Таблица. Суммарная информация рейтинга журнала «Вопросы вирусологии» в библиографической и реферативной базе данных Scopus

Год	CiteScore Tracker	CiteScore	Наивысший процентиль	SJR	H-индекс
2022	1,2 (апрель 2022 г.)	0,9 (2018–2021 гг.)	39 504/826 General Medicine	0,154	16
2023	1,9 (октябрь 2023 г.)	1,6 (2019–2022 гг.)	47 438/830 General Medicine	0,213	18

Problems
of Virology

Voprosy
Virusologii