



Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

6

Том 69 • 2024

Volume 69 • Issue 6 • 2024

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 найдёт 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 28.12.2024.
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, 2024

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.

6

Том 69 · 2024

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.)

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

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)

Глунов 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 Л.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)

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

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

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

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

Нетёсов 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)

Яшкуллов 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)

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 Str.,
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 Str.,
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 December 28, 2024.
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, 2024

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

6

Volume 69 · 2024

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)

Lukashev A.N. – RAS Corr. Member, 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)

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)

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

Марченко В.А., Жилинская И.Н.Активация и дисфункция эндотелия кровеносных сосудов при инфекции, вызванной вирусами гриппа типа А (*Alphainfluenzavirus influenzae*)* 465**Трачук К.Н., Пестов Н.Б., Бирюкова Ю.К., Колясникова Н.М.**

Влияние врожденного иммунного ответа на эффективность действия онколитических вирусов 479

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Харченко О.С., Сидоров А.В., Алаторцева Г.И., Черепович Б.С., Тараканова Ю.Н., Трубачева О.А., Пашков Е.А., Ртищев А.А., Свитич О.А., Зверев В.В.Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-zoster (Varicellovirus humanalpha3)** 489**Захаров В.В., Балькина Ю.Е.**

Ретроспективный анализ и прогнозирование распространения вирусов в реальном времени: COVID-19 в Санкт-Петербурге и в Москве в 2020–2021 гг.* 500

Тюлько Ж.С., Фадеев А.В., Василенко А.Г., Градобоева Е.А., Якименко В.В., Комиссаров А.Б.Анализ изменений в геноме вируса омской геморрагической лихорадки (*Flaviviridae: Orthoflavivirus*) при лабораторных практиках сохранения вируса 509**Кузнецова А.И., Антонова А.А., Лебедев А.В., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Ожмегова Е.Н., Галзитская О.В.**Особенности белка Tat не-А6-вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (*Retroviridae: Lentivirus: Lentivirus humimdef1*), характерных для Российской Федерации* 524**Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф., Новикова Н.А.**Распространение и филогенетический анализ геновариантов цитомегаловируса (*Orthoherpesviridae: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) у детей и иммунокомпромиссных пациентов в центральной части России 535**Леншин С.В., Вишневская Т.В., Ромашин А.В., Булычева Ю.И., Вышемирский О.И., Соловьева С.А., Гительман А.К., Пазилин А.С., Львов Д.К., Ху Б., Ши Ч., Альховский С.В.**Идентификация нового альфакоронавируса (*Coronaviridae: Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России* 546

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

Виноходов Д.О.

Родословие Д.И. Ивановского 558

ИНФОРМАЦИЯ

Список статей, опубликованных в журнале «Вопросы вирусологии» в 2024 г. 561

Анализ поступления статей, опубликованных в журнале «Вопросы вирусологии» в 2024 г. 566

CONTENTS

REVIEWS

Marchenko V.A., Zhilinskaya I.N.Endothelial activation and dysfunction caused by influenza A virus (*Alphainfluenzavirus influenzae*)* 465**Trachuk K.N., Pestov N.B., Biryukova Yu.K., Kolyasnikova N.M.**

The impact of innate immune response on the efficacy of oncolytic viruses. 479

ORIGINAL RESEARCHES

Nagieva F.G., Barkova E.P., Kharchenko O.S., Sidorov A.V., Alatortseva G.I., Cherepovich B.S., Tarakanova Yu.N., Trubacheva O.A., Pashkov E.A., Rtischev A.A., Svitich O.A., Zverev V.V.A simple highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus humanalpha3*)*. 489**Zakharov V.V., Balykina Yu.E.**

Retrospective analysis and forecasting of the spread of viruses in real time: COVID-19 in St. Petersburg and Moscow in 2020–2021* 500

Tyulko Zh.S., Fadeev A.V., Vasilenko A.G., Gradoboeva E.A., Yakimenko V.V., Komissarov A.B.Analysis of changes in the genome of the Omsk hemorrhagic fever virus (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) during laboratory practices for virus preservation 509**Kuznetsova A.I., Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Galzitskaya O.V.**The features of Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*) non-A6 variants, characteristic for the Russian Federation* 524**Van'kova O.E., Brusnigina N.F., Novikova N.A.**Prevalence and phylogenetic analysis of cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) genetic variants from children and immunocompromised patients in central Russia 535**Lenshin S.V., Vishnevskaya T.V., Romashin A.V., Bulycheva Yu.I., Vyshemirsky O.I., Solovyeva S.A., Gitelman A.K., Pazilin A.S., Lvov D.K., Hu B., Shi Z.L., Alkhovsky S.V.**Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia* 546

ANNIVERSARY DATES

Vinokhodov D.O.

Genealogy of D.I. Ivanovsky 558

INFORMATION

Index of articles published in the journal «Problems of Virology» in 2023 561

Analysis of the receipt of articles published in the journal Questions of Virology in 2024. 566

ОБЗОРЫ



НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-264>

© МАРЧЕНКО В.А., ЖИЛИНСКАЯ И.Н., 2024

Активация и дисфункция эндотелия кровеносных сосудов при инфекции, вызванной вирусами гриппа типа А (*Alphainfluenzavirus influenzae*)

Марченко В.А.✉, Жилинская И.Н.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Ежегодно тяжелое течение гриппа регистрируют у 3–5 млн больных, при этом у более 600 тыс. человек заболевание заканчивается летальным исходом. В основе тяжелых форм гриппа, как правило, лежит поражение эндотелия кровеносных сосудов. Так, вирусы гриппа А, включая подтипы А(Н1N1)рdm09, А(Н3N2), а также высокопатогенные вирусы гриппа птиц, способны инфицировать сосудистый эндотелий, приводя к активации и последующей дисфункции данных клеток. В свою очередь, эндотелиальная дисфункция характеризуется системным изменением морфофункциональных свойств клеток эндотелия, что приводит к нарушению тонуса кровеносных сосудов, тромбозу и другим осложнениям, а также одновременно является фактором риска и ключевым звеном патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы. Таким образом, дисфункция эндотелия кровеносных сосудов является важным аспектом патогенеза тяжелого течения гриппа, что нужно учитывать в патогенетической терапии данного заболевания.

Цель данного обзора – проанализировать причины и уточнить механизмы развития активации и дисфункции эндотелия при инфекции, вызванной вирусами гриппа типа А.

Ключевые слова: вирусы гриппа типа А; патогенез гриппа; активация эндотелия; дисфункция эндотелия; сердечно-сосудистая система

Для цитирования: Марченко В.А., Жилинская И.Н. Активация и дисфункция эндотелия кровеносных сосудов при инфекции, вызванной вирусами гриппа типа А (*Alphainfluenzavirus influenzae*). *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 465–478. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-264> EDN: <https://elibrary.ru/zujoza>

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/10.36233/0507-4088-264>

Endothelial activation and dysfunction caused by influenza A virus (*Alphainfluenzavirus influenzae*)

Vladimir A. Marchenko✉, Irina N. Zhilinskaya

North-Western State Medical University Named after I.I. Mechnikov, 191015, St. Petersburg, Russia

Abstract

Annual epidemics of influenza result in 3–5 million cases of severe illness and more than 600 000 deaths. Severe forms of influenza are usually characterized by vascular endothelial cells damage. Thus, influenza A viruses, including subtypes А(Н1N1)рdm09, А(Н3N2), as well as highly pathogenic avian influenza viruses, can infect the vascular endothelium, leading to activation and subsequent dysfunction of these cells. In turn, endothelial dysfunction resulting in systemic morphofunctional changes of endothelial cells, which leads to impaired vascular tone, thrombosis and other complications, and is also a risk factor and profoundly implicated in the pathogenesis of many cardiovascular diseases. Thus, endothelial dysfunction is an important aspect of the pathogenesis of severe influenza, which must be considered in the pathogenetic therapy of this infectious disease.

The aim of the review is to analyze the causes and specify mechanisms of development of endothelial activation and dysfunction caused by influenza A virus.

Keywords: *Influenza A viruses; pathogenesis of influenza virus infection; endothelial activation; endothelial dysfunction; cardio-vascular system*

For citation: Marchenko V.A., Zhilinskaya I.N. Endothelial activation and dysfunction caused by influenza A virus (*Alphainfluenzavirus influenzae*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 465–478.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-264> EDN: <https://elibrary.ru/zujjoza>

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

Вирусы гриппа являются одними из наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний органов дыхания. Так, ежегодно гриппом болеет более 15% мирового населения, тогда как тяжелое течение гриппозной инфекции регистрируют у 3–5 млн больных [1]. В свою очередь, тяжелое течение гриппа нередко осложняется развитием геморрагического синдрома, что повышает риск возникновения геморрагического инсульта, инфаркта миокарда, острого коронарного синдрома, глубокого тромбоза вен и других сердечно-сосудистых осложнений [2–5]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, к группам риска по развитию тяжелых форм гриппа относят детей младше 6 лет, лиц старше 65 лет, беременных женщин, лиц с хронической соматической патологией, а также иммунокомпрометированных лиц.

Известно, что сосудистый эндотелий является мишенью для вирусов гриппа типа А (ВГА) [6–8]. При тяжелом течении инфекции вирусы гриппа опосредуют чрезмерную активацию и поражение эндотелия кровеносных сосудов, что является причиной развития дисфункции эндотелия (ДЭ). В свою очередь, ДЭ является важным звеном патогенеза, а также фактором риска развития множества сердечно-сосудистой патологий.

В обзоре представлена актуальная информация, касающаяся механизмов активации и дисфункции эндотелия кровеносных сосудов при инфекции, вызванной ВГА.

Функции эндотелия кровеносных сосудов

Эндотелий является гигантским «эндокринным» органом, распределенным по всем тканям организма человека, поддерживающим сосудистый и тканевой гомеостаз за счет продукции целого ряда биологически активных веществ. В физиологических условиях анатомически и функционально неповрежденный сосудистый эндотелий выполняет ряд функций, включая: 1) регуляцию тонуса кровеносных сосудов (вазомоторная функция); 2) регуляцию адгезии лейкоцитов (адгезивная функция); 3) регуляцию системы гемостаза (гемостатическая функция); 4) регуляцию ангиогенеза (ангиогенная функция); 5) регуляцию иммунных процессов (иммунная функция) и пр. (рис. 1) [9, 10].

Эндотелий кровеносных сосудов как мишень для вирусов гриппа А

ВГА способны инфицировать различные клетки респираторного тракта, включая клетки мерцательного эпителия, а также бронхиолярные экзокриноциты



Рис. 1. Функции эндотелия кровеносных сосудов.

Fig. 1. Vascular endothelium functions.

[11, 12]. В качестве рецептора для адсорбции вирусы гриппа используют сиаловые кислоты. Для ВГА подтипов А(Н1N1)_{pdm09} и А(Н3N2) характерна высокая специфичность в отношении сиаловой кислоты с α -2,6-связью, которая преимущественно экспрессируется на эпителии верхних и нижних дыхательных путей, включая эпителий трахеи, бронхов, а также на альвеолоцитах 1-го типа [13–15]. В ходе интенсивной репродукции вирусы сезонного гриппа оказывают прямое цитопатическое действие на инфицированные эпителиоциты, что приводит к их значительному повреждению и гибели [16, 17]. Это позволяет вирусам проникать из входных ворот в регионарные кровеносные сосуды и взаимодействовать с сосудистым эндотелием.

В свою очередь, высокопатогенные вирусы гриппа птиц специфически связываются с α -2,3-сиаловой кислотой на поверхности клеток эпителия нижних дыхательных путей, включая эпителий бронхиол и альвеолоциты 2-го типа [18, 19]. Репликация вирусов гриппа в альвеолоцитах, как правило, приводит к апоптозу клеток, что позволяет вирусам контактировать с базолатеральной поверхностью эндотелиоцитов легочных капилляров [20, 21].

Установлено, что клетки эндотелия кровеносных сосудов, включая микрососуды легких, экспрессируют на своей поверхности оба типа сиаловых кислот (α -2,3 и α -2,6) [14, 22, 23]. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что клетки эндотелия легочных капилляров являются чувствительными в отношении ВГА, однако титр высокопатогенных вирусов гриппа А(Н5N1) и А(Н7N9) в культуре клеток эндотелия на несколько порядков выше, чем титр ВГА подтипов А(Н1N1)_{pdm09} и А(Н3N2) – 5–8 lg против 2,5–4 lg ТЦД₅₀/мл [24–26]. Эксперименты *in vivo* также подтверждают тот факт, что ВГА способны инфицировать клетки сосудистого эндотелия, а также что высокопатогенные вирусы гриппа птиц намного чаще поражают эндотелий кровеносных сосудов, что приводит к развитию таких жизнеугрожающих осложнений, как «цитокиновый шторм», острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) [27–29]. Таким образом, клетки эндотелия являются не только чувствительными, но также перmissive в отношении высокопатогенных вирусов гриппа птиц и вирусов гриппа А(Н1N1) и А(Н3N2).

Активация и дисфункция эндотелия

Активация и дисфункция эндотелия являются близкими, но не тождественными понятиями [30]. Так, активацию эндотелия следует рассматривать как вариант ответа клеток на различные стимулы, интенсивность и/или длительность которых не превышает лимита клеточной адаптивной реакции. К таким активирующим стимулам можно отнести нарушение кровотока, цитокинэмию, гипоксию, токсические вещества, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (РАМР), молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMP), и пр. [31–33]. Кроме того,

активация эндотелия наблюдается при воздействии на клетки активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА). Повышение уровня АФК, с одной стороны, является необходимым условием для реализации механизмов врожденного иммунитета, а с другой – при несостоятельности системы антиоксидантной защиты вызывает оксидативный стресс и повреждение клеточных мембран [34].

Активация эндотелия представляет собой двухстадийный процесс. Так, в ходе первой стадии («активация I типа»), или стимуляция эндотелия) эндотелиальные клетки практически мгновенно реагируют на стимул без изменения фенотипа и синтеза белков *de novo* [35]. Взаимодействие лиганда (например, гистамина) с рецепторами, связанными с G-белком, опосредует перестройку актинового цитоскелета, сокращение клеток и экзоцитоз из телец Вейбеля–Паладе на поверхность клеток ряда белков, включая фактор Виллебранда (vWF) и P-селектин [36].

Вторая стадия («активация II типа») возникает как отсроченный ответ эндотелиальных клеток при воздействии стимула на протяжении нескольких часов или суток [30]. В основе активации эндотелия II типа лежит цитокин-опосредованная активация сигнального пути NF- κ B, в результате чего возникает повышение экспрессии десятков генов и изменение фенотипа эндотелиальных клеток на «провоспалительный» [37, 38].

Активация эндотелия может носить как обратимый, так и необратимый характер. В том случае если воздействие триггерного фактора на эндотелий ограничено во времени, то гены, поддерживающие «провоспалительный» фенотип, постепенно подвергаются ингибированию, а экспрессия генов «вазопротективного» фенотипа восстанавливается [31]. В свою очередь, при чрезмерно выраженной и/или длительной активации эндотелия наблюдаются рецепторные, биохимические и морфоструктурные изменения, которые приводят к повреждению эндотелиоцитов и развитию ДЭ [39].

ДЭ характеризуется стойким нарушением морфофункциональных характеристик клеток эндотелия. При данном патологическом процессе наблюдается дисрегуляция процессов вазодилатации и вазоконстрикции, коагуляции и фибринолиза, ангиогенеза, воспаления и иммунного ответа. Именно ДЭ одновременно является фактором риска и основным звеном патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, включая атеросклероз, артериальную гипертензию, ишемический инсульт и другие патологии [30, 40, 41]. Таким образом, грипп может инициировать развитие или отягощать течение заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Активация и дисфункция клеток эндотелия при гриппе А: механизмы

На сегодняшний день многочисленные исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают тот факт, что ВГА способны вызывать не только активацию, но и дисфункцию клеток эндотелия кровеносных сосудов за счет дисрегуляции многочисленных клеточных

процессов, в результате изменения экспрессии более чем 100 генов-мишеней [42]. Ниже представлены механизмы развития ДЭ при гриппе.

Оксидативный стресс и снижение биодоступности оксида азота (NO)

«Краеугольным камнем» эндотелиальной дисфункции кровеносных сосудов принято считать снижение синтеза и/или биодоступности NO в результате дисрегуляции экспрессии и/или активности эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [43]. В физиологических условиях eNOS постоянно экспрессируется в сосудистом эндотелии и генерирует NO в низких концентрациях. Это чрезвычайно важно, т.к. именно в низкой концентрации NO обладает противовоспалительным, антипролиферативным, антитромбогенным и вазодилатирующим эффектом [31].

При инфицировании клеток эндотелия ВГА отмечается изменение экспрессии данного эндотелиального фактора. Так, вирус гриппа A(H1N1)pdm09 значительно снижает уровень экспрессии eNOS в культуре эндотелиальных клеток, а также вызывает длительное и системное снижение экспрессии данного фермента *in vivo* (не менее 2 мес) [8, 44]. Полученные результаты согласуются с эпидемиологическими данными о положительной корреляции между заболеваемостью гриппом и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний в течение 2 мес после окончания эпидемии (так называемая «дополнительная» смертность) [45].

Установлено, что одной из основных причин дисрегуляции экспрессии eNOS, вызванной ВГА, является свободнорадикальное повреждение клеток в результате оксидативного стресса. При активации эндотелия в клетках происходит избыточное образование АФК митохондриями. При несостоятельности антиоксидантной системы свободные радикалы, в частности супероксид анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), способен связываться с NO с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$), обладающего крайне высоким окислительным потенциалом [46]. В свою очередь, пероксинитрит вызывает окисление тетрагидриобиптерина – одного из кофакторов eNOS, что ведет к разобщению eNOS со своим субстратом, в результате чего данный фермент начинает производить супероксид анион-радикал вместо NO [47]. Таким образом, концентрация АФК и АФА в клетке резко повышается, что усиливает повреждение эндотелиальных клеток и отягощает ДЭ.

Следует отметить, что компенсаторные механизмы, направленные на восстановление биодоступности NO в условиях тяжело протекающего инфекционного процесса, как правило, являются несостоятельными. Так, при выраженной воспалительной реакции клетки эндотелия, а также макрофаги/моноциты начинают синтезировать индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS) [48]. Однако данная изоформа фермента генерирует значительно более высокие концентрации NO, что обуславливает преобладание не прямых эффектов, связанных с образованием пероксинитрита и свободнорадикальными повреждением клеток [49].

Цитокинемия и «цитокиновый шторм»

На примере высокопатогенного вируса гриппа A(H5N1) было показано, что при инфицировании клеток эндотелия микрососудов легких наблюдается как более выраженная активация фактора транскрипции NF-κB, так и дополнительная активация сигнальных путей митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) [50]. В частности, высокопатогенные вирусы гриппа активируют p38 MAPK-путь, что проявляется в чрезмерном и неконтролируемом синтезе провоспалительных цитокинов. Важно отметить, что в этом случае именно активированный эндотелий микрососудов легких становится основным продуцентом провоспалительных цитокинов (интерлейкинов (IL) 1β, IL-6, фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α)) и хемокинов (CXCL10, RANTES) [42, 51, 52]. Кроме того, возникающая гиперцитокинемия опосредует системное повреждение эндотелия других сосудистых регионов, что является причиной развития «цитокинового шторма» и ОРДС.

Необходимо подчеркнуть, что важную роль в развитии «цитокинового шторма» при гриппе играет фактор транскрипции KLF2. В физиологических условиях данный транскрипционный фактор поддерживает биодоступность NO на оптимальном уровне, а также барьерные свойства и тромборезистентность клеток эндотелия [53–55]. Результаты исследования R. Huang и соавт. показали, что при инфицировании высокопатогенными вирусами гриппа мышей Balb/C уровень экспрессии фактора транскрипции KLF2 в эндотелии микрососудов легких значительно снижен, что обуславливает развитие «цитокинового шторма», острого повреждения легких и ОРДС. Эти изменения соотносятся с тем, что при чрезмерной активации фактора транскрипции NF-κB, наблюдается снижение активности фактора KLF2 [56].

Нарушение метаболических процессов

ВГА, включая подтипы A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и A(H5N1), угнетают метаболические процессы в клетках эндотелия и вызывают двукратное снижение дегидрогеназной активности. Следует отметить, что снижение активности дегидрогеназ, но в меньшей степени, также наблюдается и в ответ на внесение в культуральную среду отдельных поверхностных белков разных подтипов ВГА – гемагглютинина и нейраминидазы [57].

Вероятно, одной из причин столь выраженных изменений метаболических процессов является воздействие на клетки эндотелия провоспалительных цитокинов, например TNF-α, IL-1β и IL-6, способных подавлять активность митохондрий и, как следствие, катаболические процессы [58]. Кроме того, образование внутриклеточного пероксинитрита на фоне дисрегуляции экспрессии eNOS обуславливает повреждение мембран митохондрий, что также способствует снижению митохондриальной активности.

Нарушение барьерных свойств, изменение морфологии и повышение проницаемости эндотелия

Важное значение в поддержании барьерных свойств эндотелия отводят интактному гликокаликсу. В состав гликокаликса сосудистого эндотелия в основном вхо-

дят протеогликианы, а также гликопротеины, связанные с сиаловыми кислотами [59]. Ферментативная активность нейраминидазы вируса гриппа позволяет расщеплять связь между терминальным остатком сиаловой кислоты и гликопротеином в составе гликокаликса эндотелиоцитов, что обуславливает его истончение и отслоение. Кроме того, активированный ВГА эндотелий начинает синтезировать матриксные металлопротеиназы-2 и -9, которые усиливают повреждение гликокаликса. В итоге эндотелиальный гликокаликс подвергается деградации, теряет свой отрицательный заряд, в результате чего эндотелий становится проницаем для молекул с относительно высокой молекулярной массой [60].

Проницаемость эндотелия также зависит от целостности межклеточных контактов (плотных, адгезивных и щелевидных) [61]. В исследованиях *in vitro* было показано, что ВГА вызывают деградацию различных белков, входящих в состав межклеточных контактов (β -катенина, клаудина-5, VE-кадгерина, белка ZO-1 и коннексинов), а также реорганизацию актинового цитоскелета эндотелиоцитов с образованием стресс-индуцированных фибрилл [58, 62]. Вследствие этого клетки эндотелия сокращаются и округляются с образованием промежутков между ними, что является причиной увеличения сосудистой проницаемости [42].

Следует отметить, что повреждение эндотелиального гликокаликса, а также деградация белков, входящих в состав межклеточных контактов, может наблюдаться при воздействии на клетки эндотелия высокими концентрациями цитокинов ($IL-1\beta$ и $TNF-\alpha$), что также значительно повышает проницаемость эндотелия микрососудов легких и стоит в основе развития острого поражения легких и ОРДС [63–66].

Нарушение адгезивных свойств

Активация сигнального пути NF- κ B при гриппе приводит к повышению экспрессии различных молекул клеточной адгезии, включая адгезивные рецепторы суперсемейства иммуноглобулинов (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, PECAM-1) и селектины (P-селектин, E-селектин) [20, 67–69].

В свою очередь, повышение адгезивных свойств позволяет циркулирующим лейкоцитам осуществлять адгезию на клетках эндотелия, а затем мигрировать из сосудистого русла в очаг воспаления. Однако при системной воспалительной реакции на фоне тяжелого гриппа возникает выраженная и нерегулируемая адгезия лейкоцитов к эндотелию кровеносных сосудов, причем тяжесть течения гриппа во многом зависит от степени вовлечения в воспалительную реакцию нейтрофилов [70]. Именно нейтрофилы при тяжелом гриппе становятся одними из основных продуцентов АФК и медиаторов воспаления, а также синтезируют внеклеточные нейтрофильные ловушки (NETs), опосредуя повреждение клеток [71–73].

Нарушение гемостаза и фибринолиза

Для тяжелого течения гриппа характерны нарушения процессов коагуляции и фибринолиза по ти-

пу ДВС-синдрома [29]. ВГА опосредуют активацию как внешнего, так и внутреннего пути коагуляции (рис. 2). В ответ на инфицирование или в результате воздействия на клетки эндотелия высоких концентраций провоспалительных цитокинов (TNF и $IL-1\beta$) в клетках повышается экспрессия эндотелиальных факторов с прокоагуляторными свойствами: vWF, фактора активации тромбоцитов (PAF), ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), а также тканевого фактора (TF) – ключевого гликопротеина, запускающего внешней путь свертывания [20, 74–77]. В своем исследовании F. Visseren и соавт. показали, что инфицирование клеток эндотелия вирусом гриппа A(H1N1) и A(H3N2) увеличивает экспрессию TF, что снижает время свертывания крови на 55% в течение 3 ч после инфицирования [78]. Аналогичные данные по увеличению концентрации TF в бронхоальвеолярном лаваже были получены при инфицировании мышей Balb/C вирусом A(H1N1) [79].

Следует отметить важную роль в патогенезе гриппа фактора PAI-1. Данный эндотелиальный фактор является антагонистом двух белков системы фибринолиза – урокиназного и TF плазминогена (uPA и tPA), которые осуществляют расщепление плазминогена до плазмина [80]. В свою очередь, плазмин может быть использован вирусами гриппа для гидролиза белка – предшественника гемагглютинаина (HA0), что необходимо для созревания вновь синтезированных вирионов. Таким образом, повышение экспрессии PAI-1, с одной стороны, снижает инфекционную активность вируса, а с другой – может становиться причиной ингибирования фибринолиза и усиления процессов тромбообразования при гриппе.

Активация внешнего и внутреннего пути *in vivo* возникает при повреждении клеток эндотелия. В частности, расположенные субэндотелиально TF и коллаген в результате десквамации эндотелия начинают взаимодействовать с факторами VII и XII, что необходимо для активации общего пути коагуляции с активацией тромбоцитов и образованием тромбоцитарных сгустков [29]. Таким образом, степень поражения эндотелия сосудов вероятно коррелирует с выраженностью активации системы коагуляции при гриппе.

Помимо участия в гемостазе, тромбоциты также играют важную роль в иммунном ответе. Так, тромбоциты способны захватывать и секвестрировать вирусы, что позволяет ограничивать их распространение [81]. Однако, вероятно, эндцитоз вирусов гриппа не всегда носит завершённый характер. В своих исследованиях М. Коуренова и соавт. обнаружили, что часть фрагментов вирусных частиц остаются экспонированными на поверхности тромбоцитов. Это, в свою очередь, может опосредовать более длительный контакт клеток сосудистого эндотелия с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами вируса, приводя к более выраженной активации эндотелиоцитов.

Истощение прокоагулянтных факторов и развивающаяся тромбоцитопения могут в последующем приводить к фазе гипокоагуляции [82]. Вирусы гриппа

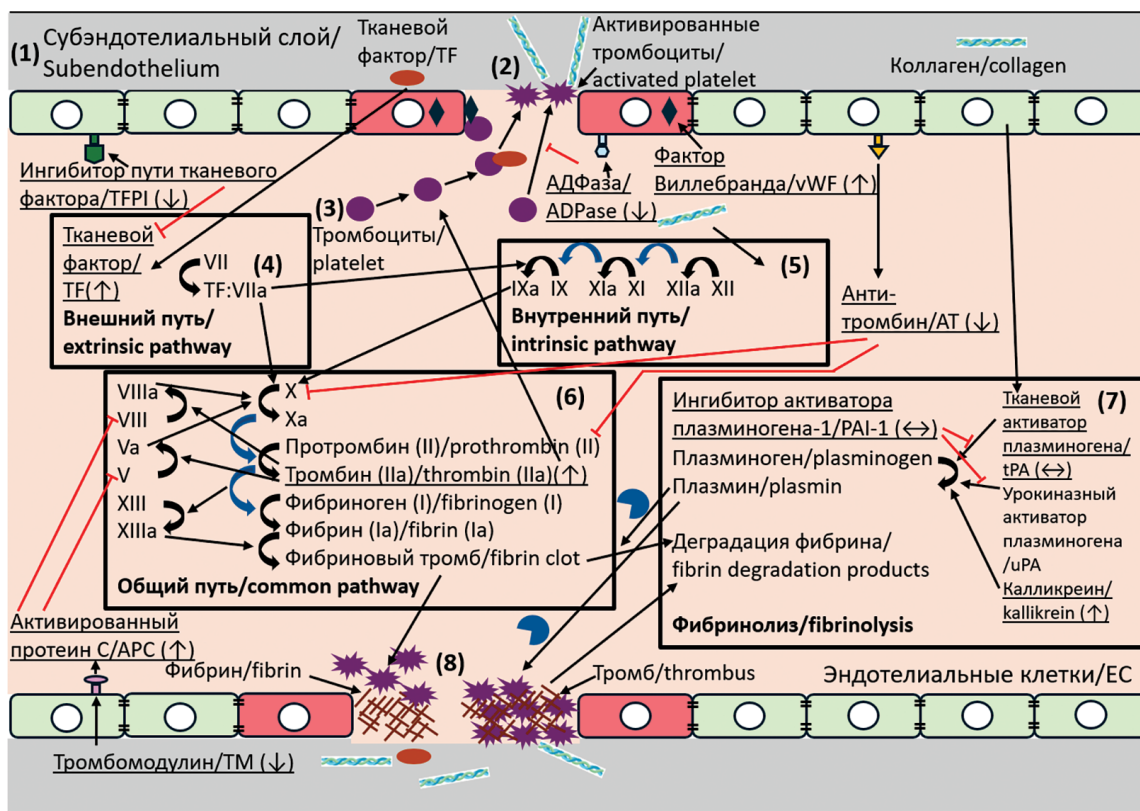


Рис. 2. Каскад коагуляции.

1 – интактные эндотелиальные клетки (ЭК) обеспечивают тромборезистентность за счет постоянного синтеза ряда антикоагулянтов (тромбомодулина, антитромбина, ингибитора пути тканевого активатора и АДФазы); 2 – каскад коагуляции, как правило, возникает вследствие повреждения ЭК и связан с активацией факторов свертывания крови при контакте с тканевым фактором и коллагеном из субэндотелиального слоя, а также с высвобождением из клеток фактора Виллебранда (vWF); 3 – активация тромбоцитов возникает при взаимодействии с тканевым фактором, коллагеном и vWF. Активированные тромбоциты высвобождают ряд медиаторов, таких как АДФ и vWF, что приводит к дальнейшему рекрутингу, активации и агрегации тромбоцитов с образованием первичного тромбоцитарного сгустка (первичный гемостаз); 4 – внешний путь свертывания инициируется при контакте фактора VII с тканевым фактором; 5 – внутренний путь инициируется при контакте фактора XII с коллагеном; 6 – внешний и внутренний пути приводят к инициированию общего пути свертывания, который содержит каскады, участвующие в активации фактора X и тромбина с образованием нитей фибрина; 7 – нити фибрина способствуют повышению стабильности тромбоцитарного сгустка и приводят к образованию тромбоцитарно-фибринового сгустка (вторичный гемостаз); 8 – калликреин, тканевой активатор плазминогена (tPA) или урокиназный активатор плазминогена (uPA) конвертируют плазминоген в плазмин, который затем разрушает и реабсорбирует полимеризованные нити фибрина, что необходимо для разрушения сгустков в рамках процесса фибринолиза. Подчеркнуты эндотелиальные факторы, концентрация в крови которых при гриппозной инфекции достоверно изменяется (см. таблицу).

Fig. 2. The coagulation cascades.

1 – intact endothelial cells express antiplatelet and anticoagulant agents (thrombomodulin, antithrombin, tissue factor pathway inhibitor and ADPase) that prevent aggregation of platelet and fibrin formation; 2 – coagulation is usually initiated by an injury to the endothelium, with the exposure of tissue factor and collagen from the subendothelium to the blood factors and the release of von Willebrand factor (vWF); 3 – activation of platelets is initiated by exposure to tissue factor, collagen and vWF. Activated platelets release several mediators (including ADP and vWF), leading to further platelet recruitment, activation, aggregation and plug formation (primary hemostasis); 4 – the extrinsic pathway is initiated by the interaction between tissue factor and Factor VII; 5 – the intrinsic pathway is initiated by the exposure of collagen to Factor XII; 6 – the extrinsic and intrinsic coagulation pathways lead into the final common pathway, which contains cascades involved in the production of thrombin, activated Factor X and the formation of fibrin strands; 7 – fibrin strands increase stability of the platelet plug and lead to the formation of platelet-fibrin clot (secondary hemostasis); 8 – kallikrein, tissue plasminogen activator (tPA) or urokinase plasminogen activator (uPA) convert plasminogen to plasmin, which then degrades and reabsorbs the fibrin strands in process called fibrinolysis. Endothelial factors whose concentration in influenza A virus infection is reliably changed are underlined (see Table).

за счет нейраминидазной активности могут опосредовать отщепление сialовых кислот от гликокаликса тромбоцитов, что усиливает их удаление из кровотока вплоть до развития тромбоцитопении [83]. Кроме того, выраженность тромбоцитопении зависит от подтипа вируса. Так, вирус гриппа A(H5N1) вызывает более выраженную тромбоцитопению по сравнению с ВГА подтипов A(H1N1) и A(H3N2).

Нарушение иммунных процессов

Инфицированный сосудистый эндотелий не способен адекватно поддерживать иммунные процессы, в первую очередь связанные с представлением антигенов иммунокомпетентным клеткам. Кроме того, также наблюдается дисрегуляция в активации клеток врожденного иммунитета [84]. Как уже было отмечено ранее, в клетках эндотелия, инфицированных

ВГА, значительно повышается синтез IL-1 β [85]. Этот провоспалительный цитокин играет важную роль во врожденном иммунном ответе, т.к. опосредует процесс антиген-зависимой дифференцировки Т-лимфоцитов, а также дифференциацию дендритных клеток. Таким образом, при тяжелом гриппе с вовлечением в воспалительный процесс клеток сосудистого эндотелия за счет синтеза IL-1 β происходит избыточная инфильтрация легочной паренхимы иммунными клетками, что может обуславливать острое повреждение легких.

Нарушение процессов ангиогенеза

Изменение уровня экспрессии эндотелиальных факторов, влияющих на ангиогенез, при гриппозной инфекции не характерно [86]. Однако результаты исследования S. Morichi и соавт. показали, что у детей при развитии вирус-индуцированной энцефалопатии в спинномозговой жидкости отмечают повышение экспрессии двух маркеров ангиогенеза – фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF).

Апоптоз

При инфицировании эндотелиоцитов ВГА апоптоз клеток может возникать за счет активации как рецептор-зависимого (внешнего), так и митохондриального (внутреннего) сигнальных путей. Одной из причин активации внешнего пути апоптоза является воздействие на клетку высоких концентраций TNF- α . Это подтверждается тем, что в инфицированных клетках эндотелия повышается экспрессия каспазы-3 – эффекторной протеазы, расщепляющей цитоскелет и активирующей эндонуклеазу на терминальных стадиях апоптоза [26, 87].

Внутренний путь активации апоптоза реализуется при повреждении мембраны митохондрий. Внутриклеточные активные формы кислорода и азота, в частности пероксинитрит, опосредуют повреждение мембран данных органелл с высвобождением цитохрома с [88]. Кроме того, основным белком вируса гриппа М1 способен связываться с важным компонентом цитопротекции – белком теплового шока 70 (Hsp70), в результате чего происходит диссоциация связи Hsp70 и белка АРАФ-1 с высвобождением последнего и образованием апоптосом [89]. В итоге вирус-индуцируемый апоптоз приводит к нарушению целостности эндотелиального барьера, что становится причиной повышения сосудистой проницаемости, а также играет ключевую роль в патогенезе тромбоза, ДВС-синдрома, васкулита и атеросклероза [62, 90, 91].

Следует отметить, что при вирусных инфекциях ранняя активация апоптоза в большинстве случаев позволяет значительно подавить репликацию вируса, тогда как задержка апоптоза инфицированных клеток становится причиной распространения вирусных частиц в организме [92]. В свою очередь, в отношении вируса гриппа в исследованиях *in vitro* были получены данные о том, что апоптоз инфицированных клеток является отсроченным ввиду антиапоптотической

активности вирусного белка NS1 [93, 94]. Кроме того, помимо апоптоза ВГА способен индуцировать другие программируемые варианты гибели клетки, включая: 1) некроптоз (за счет белков НА, NS1, PB1); 2) пироптоз (за счет белков М2, PB1-F2, PB2); 3) аутофагию (за счет белка НА) [92, 95].

Исходя из вышеизложенного становится очевидным, что при тяжелом течении гриппозной инфекции, вызванной ВГА, наблюдается нарушение всех функций эндотелия: вазомоторной, адгезивной, гемостатической, ангиогенной, иммунной и др. (таблица). В качестве основных причин развития ДЭ вероятно следует рассматривать воздействие на эндотелий сразу нескольких флогогенных факторов, среди которых наибольшее значение имеют цитопатическое действие вируса, оксидативный стресс, цитокинемия и гипоксия. Кроме того, не только сам вирус, но и его белки (например, гемагглютинин и нейраминидаза) способны вызывать выраженную активацию эндотелиоцитов, что может становиться причиной развития их дисфункции [57].

Молекулярная мимикрия

Можно предположить, что вероятной причиной развития ДЭ при гриппе также является молекулярная мимикрия. Так, в составе разных штаммов вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09, а также А(Н3N2) (данные не опубликованы) обнаружено множество аминокислотных последовательностей в белках с высокой степенью гомологии с аминокислотными последовательностями в различных белках системы гемостаза и эндотелиальных факторах, включая vWF, eNOS, PAI-1, TF, tPA, факторах свертывания крови (III, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XIII) и др. В частности, в вышеперечисленных белках и различных белках вирусов гриппа обнаружены многочисленные последовательности длиной 12 аминокислотных остатков с гомологией, превышающей 80% [103].

Биоинформационный анализ позволил обнаружить в составе вируса гриппа А/Н1N1, вызвавшего пандемию 1918–1920 гг., ряд уникальных последовательностей, мимикрирующих фрагменты в составе белков системы гемостаза и фибринолиза (фибриногена, TF, антитромбина-III, протромбина, плазминогена, урокиназного активатора плазминогена и др.), которые отсутствуют в вирусе гриппа А(Н1N1)pdm09, выделенного в 2016 г. [92].

Интересно, что при сравнении современных циркулирующих штаммов вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 и А(Н3N2) в составе последних имеется большое количество аминокислотных последовательностей, гомологичных последовательностям различных факторов системы фибринолиза (α 2-антиплазмина, α 2-макроглобулина, тромбомодулина, урокиназного активатора плазминогена, калликреина). Стоит отметить, что консервативность данных последовательностей как по месторасположению, так и по аминокислотному составу сохраняется в белках вирусов А(Н3N2) на протяжении 50 лет. Вероятно, данная особенность позволяет вирусам гриппа А(Н3N2) вызывать более

Таблица. Нарушения функций сосудистого эндотелия, вызванные вирусами гриппа типа А

Table. Alteration of vascular endothelium functions caused by Influenza A Viruses

Функции клеток эндотелия Functions of endothelial cells	Эндотелиальные факторы Endothelial factors	Источник Reference
Вазомоторная Vasomotor	NO (за счет eNOS) ↓ NO (by eNOS) ↓	[8, 75, 44]
Адгезивная Adhesion	ICAM-1 ↑	[20, 96]
	P-селектин/P-selectin ↑	[6, 97]
	E-селектин/E-selectin ↑	[98]
	PECAM-1 ↑	[20, 96]
Гемостатическая Hemostatic	tPA ↔ / ↑	[9, 75]
	PAI-1 ↔ / ↑	[8, 74, 75]
	vWF ↑	[20]
	PAF ↑	[99]
	TF ↑	[78, 79]
Ангиогенная Angiogenic	VEFG ↑ PDGF ↑	[100]
	IL-1 ↑	[85, 101, 102]

Примечание. ↔ – модуляция экспрессии; ↑ – повышение экспрессии; ↓ – снижение экспрессии. ICAM-1 – межклеточная молекула адгезии-1; PECAM-1 – молекула адгезии тромбоцитов и эндотелиоцитов-1; tPA – тканевой активатор плазминогена; PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1; vWF – фактор Виллебранда; PAF – фактор активации тромбоцитов; TF – тканевой фактор; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; PDGF – фактор роста тромбоцитов; IL-1 – интерлейкин-1.

Note. ↔ – modulation of the expression; ↑ – increased expression; ↓ – decreased expression. ICAM-1 – Intercellular adhesion molecule-1; PECAM-1 – platelet and endothelial cell adhesion molecule-1; tPA – tissue plasminogen activator; PAI-1 – plasminogen activator inhibitor-1; vWF – von Willebrand factor; PAF – platelet-activating factor; TF – tissue factor; VEGF – vascular endothelial growth factor; PDGF – platelet-derived growth factor; IL-1 – Interleukin-1.

интенсивный эпидемический процесс (по сравнению с вирусом А(H1N1)pdm09) и обуславливать более высокий уровень дополнительной смертности от гриппа у больных с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями [104]. Таким образом, наличие мимикрирующих последовательностей в белках системы гемостаза и вирусов гриппа, по всей видимости, повышает их вирулентность, т.к. позволяет нарушать процессы коагуляции и фибринолиза.

Известно, что тяжесть ДЭ при гриппе зависит не только от вируса (вирулентности штамма, инфицирующей дозы) и резистентности организма (предсуществующего иммунитета, генетической предрасположенности к развитию тяжелых форм заболевания), но и от состояния сердечно-сосудистой системы. Так, наличие острых и хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы у больных обуславливает более тяжелое течение гриппа, что связано с вовлечением эндотелия кровеносных сосудов в патологический процесс. Это подтверждается тем, что после окончания эпидемии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями показатель дополнительной смертности от гриппа составляет 481 на 100 тыс. населения против 2 на 100 тыс. населения среди здоровых взрослых без соматических заболеваний.

Заключение

ВГА способны вызывать активацию и дисфункцию эндотелия кровеносных сосудов, что является ключевым звеном в патогенезе тяжелого гриппа, обуслав-

ливая развитие осложнений в остром и отсроченном периоде инфекции. В свою очередь, ДЭ одновременно является фактором риска и основным звеном патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, включая атеросклероз, артериальную гипертензию, инфаркт миокарда, ишемический инсульт и прочие патологии.

Несмотря на наличие вакцинации как основной меры профилактики гриппа и ряда этиотропных препаратов из разных клинико-фармакологических групп, эффективно ингибирующих различные этапы репродукции вируса, важным направлением остается оптимизация схем патогенетической терапии гриппа. Учитывая высокий риск развития тяжелого течения гриппа у пациентов из групп риска, особенно у лиц старше 65 лет с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, в рамках патогенетической терапии целесообразным является назначение химиопрепаратов с проверенной эндотелиопротективной активностью с целью коррекции эндотелиальной дисфункции.

ЛИТЕРАТУРА

- Office WHOEMR. Global Influenza Strategy 2019–2030. Weekly Epidemiological Record; 2019.
- Boehme A.K., Luna J., Kulick E.R., Kamel H., Elkind M.S.V. Influenza-like illness as a trigger for ischemic stroke. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2018; 5(4): 45663. <https://doi.org/10.1002/acn3.545>
- Muscante F., De Caterina R. Causal relationship between influenza infection and risk of acute myocardial infarction: pathophysiological hypothesis and clinical implications. *Eur. Heart J.* 2020; 22(Suppl. E): E68–72. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suaa064>

4. Skaarup K.G., Modin D., Nielsen L., Jensen J.U.S., Biering-Sørensen T. Influenza and cardiovascular disease pathophysiology: strings attached. *Eur. Heart J.* 2023;25(Suppl. A): A5–11. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suac117>
5. Rubino R., Imburgia C., Bonura S., Trizzino M., Iaria C., Cascio A. Thromboembolic events in patients with influenza: a scoping review. *Viruses.* 2022; 14(12): 2817. <https://doi.org/10.3390/v14122817>
6. Short K.R., Kuiken T., Van Riel D. Role of endothelial cells in the pathogenesis of influenza in humans. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(11): 1859–60. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz349>
7. Armstrong S.M., Darwish I., Lee W.L. Endothelial activation and dysfunction in the pathogenesis of influenza A virus infection. *Virulence.* 2013; 4(6): 537–42. <https://doi.org/10.4161/viru.25779>
8. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Рэмзи Э.С., Жилинская И.Н. Экспрессия эндотелиальных факторов в клетках эндотелия человека при инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 (Orthomyxoviridae; Alphainfluenzavirus). *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(3): 198–210. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-48> <https://elibrary.ru/wsxlvb>
9. Aird W.C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ. Res.* 2007; 100(2): 158–73. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>
10. Zhang J., Defelice A.F., Hanig J.P., Colatsky T. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury. *Toxicol. Pathol.* 2010; 38(6): 856–71. <https://doi.org/10.1177/0192623310378866>
11. Matrosovich M.N., Matrosovich T.Y., Gray T., Roberts N.A., Klenk H.D. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(13): 4620–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308001101>
12. Ibricevic A., Pekosz A., Walter M.J., Newby C., Battaile J.T., Brown E.G., et al. Influenza virus receptor specificity and cell tropism in mouse and human airway epithelial cells. *J. Virol.* 2006; 80(15): 7469–80. <https://doi.org/10.1128/JVI.02677-05>
13. Abe Y., Smith C.W., Katkin J.P., Thurmon L.M., Xu X., Mendoza L.H., et al. Endothelial alpha 2,6-linked sialic acid inhibits VCAM-1-dependent adhesion under flow conditions. *J. Immunol.* 1999; 163(5): 2867–76.
14. Cioffi D.L., Pandey S., Alvare D.F., Cioffi E.A. Terminal sialic acids are an important determinant of pulmonary endothelial barrier integrity. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2012; 302(10): L1067–77. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00190.2011>
15. Denney L., Ho L.P. The role of respiratory epithelium in host defence against influenza virus infection. *Biomed. J.* 2018; 41(4): 218–33. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.08.004>
16. Herold S., Becker C., Ridge K.M., Budinger G.R. Influenza virus-induced lung injury: pathogenesis and implications for treatment. *Eur. Respir. J.* 2015; 45(5): 1463–78. <https://doi.org/10.1183/09031936.00186214>
17. Herold S., Steinmueller M., von Wulffen W., Cakarova L., Pinto R., Pleschka S., et al. Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J. Exp. Med.* 2008; 205(13): 3065–77. <https://doi.org/10.1084/jem.20080201>
18. Zeng H., Goldsmith C.S., Maines T.R., Belsler J.A., Gustin K.M., Pekosz A., et al. Tropism and infectivity of influenza virus, including highly pathogenic avian H5N1 virus, in ferret tracheal differentiated primary epithelial cell cultures. *J. Virol.* 2013; 87(5): 2597–607. <https://doi.org/10.1128/JVI.02885-12>
19. Kumlin U., Olofsson S., Dimock K., Arnberg N. Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2008; 2(5): 147–54. <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2008.00051.x>
20. Sugiyama M.G., Gamage A., Zyla R., Armstrong S.M., Advani S., Advani A., et al. Influenza virus infection induces platelet-endothelial adhesion which contributes to lung injury. *J. Virol.* 2015; 90(4): 1812–23. <https://doi.org/10.1128/JVI.02599-15>
21. Lee S., Hirohama M., Noguchi M., Nagata K., Kawaguchi A. Influenza A virus infection triggers pyroptosis and apoptosis of respiratory epithelial cells through the type I interferon signaling pathway in a mutually exclusive manner. *J. Virol.* 2018; 92(14): e00396-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00396-18>
22. Chan M.C., Chan R.W., Yu W.C., Ho C.C., Chui W.H., Lo C.K., et al. Influenza H5N1 virus infection of polarized human alveolar epithelial cells and lung microvascular endothelial cells. *Respir. Res.* 2009; 10(1): 102. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-102>
23. Zeng H., Pappas C., Belsler J.A., Houser K.V., Zhong W., Wadford D.A., et al. Human pulmonary microvascular endothelial cells support productive replication of highly pathogenic avian influenza viruses: possible involvement in the pathogenesis of human H5N1 virus infection. *J. Virol.* 2012; 86(2): 667–78. <https://doi.org/10.1128/JVI.06348-11>
24. Chan L.L.Y., Hui K.P.Y., Kuok D.I.T., Bui C.H.T., Ng K.C., Mok C.K.P., et al. Risk assessment of the tropism and pathogenesis of the highly pathogenic avian influenza A/H7N9 virus using ex vivo and in vitro cultures of human respiratory tract. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(4): 578–88. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz165>
25. Simon P., de La Vega M.A., Paradis E., Mendoza E., Coombs K.M., Kobasa D., et al. Avian influenza viruses that cause highly virulent infections in humans exhibit distinct replicative properties in contrast to human H1N1 viruses. *Sci. Rep.* 2016; 6: 24154. <https://doi.org/10.1038/srep24154>
26. Han T., Lai Y., Jiang Y., Liu X., Li D. Influenza A virus infects pulmonary microvascular endothelial cells leading to microvascular leakage and release of pro-inflammatory cytokines. *PeerJ.* 2021; 9: e11892. <https://doi.org/10.7717/peerj.11892>
27. Gu Y., Zuo X., Zhang S., Ouyang Z., Jiang S., Wang F., et al. The mechanism behind influenza virus cytokine storm. *Viruses.* 2021; 13(7): 1362. <https://doi.org/10.3390/v13071362>
28. Tang B.M., Cootes T., McLean A.S. From influenza-induced acute lung injury to multiorgan failure. In: *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2019.* 2018: 449–58. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06067-1_35
29. Yang Y., Tang H. Aberrant coagulation causes a hyper-inflammatory response in severe influenza pneumonia. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13(4): 432–42. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.1>
30. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2022; 23(2): 73. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2302073>
31. Immanuel J., Yun S. Vascular inflammatory diseases and endothelial phenotypes. *Cells.* 2023; 12(12): 1640. <https://doi.org/10.3390/12121640>
32. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней. *Казанский медицинский журнал.* 2015; 96(4): 659–65. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-659> <https://elibrary.ru/ubegwv>
33. Власова Т.И., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия как типовое патологическое состояние. *Региональное кровообращение и микроциркуляция.* 2022; 21(2): 4–15. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2022-21-2-4-15> <https://elibrary.ru/zsheshs>
34. Yang Y., Bazhin A.V., Werner J., Karakhanova S. Reactive oxygen species in the immune system. *Int. Rev. Immunol.* 2013; 32(3): 249–70. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>
35. Bach F.H., Robson S.C., Ferran C., Winkler H., Millan M.T., Stuhlmeier K.M., et al. Endothelial cell activation and thromboregulation during xenograft rejection. *Immunol. Rev.* 1994; 141: 5–30. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065x.1994.tb00870.x>
36. Pober J.S., Sessa W.C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7(10): 803–15. <https://doi.org/10.1038/nri2171>
37. Бигильдеев А.Е., Чепурных Ю.Ф., Петинати Н.А., Дризе Н.И. Особенности экспрессии генов сигнального пути NF-κB в тканях облученных мышей и у старых животных. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2019; 59(6): 565–74. <https://doi.org/10.1134/S0869803119060031> <https://elibrary.ru/ebdunp>
38. Waitkus M.S., Harris D.P., DiCorleto P.E. Mechanisms of Endothelial Activation. In: Mackay I.R., Rose N.R., Diamond B., Davidson A., eds. *Encyclopedia of Medical Immunology.* New York: Springer; 2014. https://doi.org/10.1007/978-0-387-84828-0_183
39. Endemann D.H., Schiffrin E.L. Endothelial dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15(8): 1983–92. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA>
40. Hadi H.A., Carr C.S., Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc. Health Risk Manag.* 2005; 1(3): 183–98.
41. Widmer R.J., Lerman A. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* 2014; 2014(3): 291–308. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2014.43>

42. Han T., Lai Y., Jiang Y., Liu X., Li D. Influenza A virus infects pulmonary microvascular endothelial cells leading to microvascular leakage and release of pro-inflammatory cytokines. *PeerJ*. 2021; 9: e11892. <https://doi.org/10.7717/peerj.11892>
43. Siragusa M., Thole J., Bibli S.I., Luck B., Loot A.E., de Silva K., et al. Nitric oxide maintains endothelial redox homeostasis through PKM2 inhibition. *EMBO J*. 2019; 38(17): e100938. <https://doi.org/10.15252/embj.2018100938>
44. Марченко В.А., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Мухаметдинова Д.В., Галагудза М.М., Лиознов Д.А. и др. Длительность системных нарушений вазомоторной функции эндотелия микрососудов, вызванных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2023; 22(4): 74–86. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2023-22-4-74-86> <https://elibrary.ru/mmwnsf>
45. Бойцов С.А. Грипп, новая коронавирусная инфекция и сердечно-сосудистые заболевания. *Кардиологический вестник*. 2021; 16(1): 5–9. <https://doi.org/10.17116/Cardiobulletin2021160115> <https://elibrary.ru/zgvxkg>
46. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018; 115(23): 5839–48. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>
47. Beckman J.S., Koppenol W.H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am. J. Physiol*. 1996; 271(5 Pt. 1): C1424–37. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1996.271.5.C1424>
48. Babizhayev M.A., Deyev A.I. Management of the virulent influenza virus infection by oral formulation of nonhydrolyzed carnosine and isopeptide of carnosine attenuating proinflammatory cytokine-induced nitric oxide production. *Am. J. Ther*. 2012; 19(1): e25–47. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3181dcf589>
49. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2017; 16(1): 4–15. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-1-4-15> <https://elibrary.ru/yocujf>
50. Viemann D., Schmolke M., Lueken A., Boergeling Y., Friesenhagen J., Wittkowski H., et al. H5N1 virus activates signaling pathways in human endothelial cells resulting in a specific imbalanced inflammatory response. *J. Immunol*. 2011; 186(1): 164–73. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0904170>
51. Teijaro J.R., Walsh K.B., Cahalan S., Fremgen D.M., Roberts E., Scott F., et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell*. 2011; 146(6): 980–91. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.015>
52. Yu J., Sun X., Goie J.Y.G., Zhang Y. Regulation of host immune responses against influenza A virus infection by Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKs). *Microorganisms*. 2020; 8(7): 1067. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071067>
53. Fontijn R.D., Volger O.L., van der Pouw-Kraan T.C., Dodbaballapur A., Leyen T., Baggen J.M., et al. Expression of nitric oxide-transporting aquaporin-1 is controlled by KLF2 and marks non-activated endothelium in vivo. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0145777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145777>
54. Parmar K.M., Larman H.B., Dai G., Zhang Y., Wang E.T., Moorthy S.N., et al. Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Kruppel-like factor 2. *J. Clin. Invest*. 2006; 116(1): 49–58. <https://doi.org/10.1172/jci24787>
55. SenBanerjee S., Lin Z., Atkins G.B., Greif D.M., Rao R.M., Kumar A., et al. KLF2 Is a novel transcriptional regulator of endothelial proinflammatory activation. *J. Exp. Med*. 2004; 199: 1305–15. <https://doi.org/10.1084/jem.20031132>
56. Турпаев К.Т. Transcription factor KLF2 and its role in the regulation of inflammatory processes. *Biochemistry (Mosc)*. 2020; 85(1): 54–67. <https://doi.org/10.1134/S0006297920010058>
57. Азаренок А.А., Еропкина Е.М., Прочуханова А.Р., Шалджян А.А., Козлова Н.М., Козелецкая К.Н. и др. Воздействие вирусов гриппа А и их поверхностных белков на метаболизм клеток эндотелия кровеносных сосудов человека. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58(3): 25–7. <https://elibrary.ru/pzxtur>
58. Hiyoshi M., Indalao I.L., Yano M., Yamane K., Takahashi E., Kido H. Influenza A virus infection of vascular endothelial cells induces GSK-3 β -mediated β -catenin degradation in adherens junctions, with a resultant increase in membrane permeability. *Arch. Virol*. 2015; 160(1): 225–34. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2270-5>
59. Betteridge K.B., Arkill K.P., Neal C.R., Harper S.J., Foster R.R., Satchell S.C., et al. Sialic acids regulate microvessel permeability, revealed by novel in vivo studies of endothelial glycocalyx structure and function. *J. Physiol*. 2017; 595(15): 5015–35. <https://doi.org/10.1113/JP274167>
60. Taghavi S., Abdullah S., Shaheen F., Mueller L., Gagen B., Duchesne J., et al. Glycocalyx degradation and the endotheliopathy of viral infection. *PLoS One*. 2022; 17(10): e0276232. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276232>
61. Simionescu M. Structural biochemical and functional differentiation of the vascular endothelium. In: Risau W., ed. *Morphogenesis of the Endothelium*. Amsterdam: Harwood Academic; 2000: 1–21.
62. Armstrong S.M., Wang C., Tigdi J., Si X., Dumpit C., Charles S., et al. Influenza infects lung microvascular endothelium leading to microvascular leak: role of apoptosis and claudin-5. *PLoS One*. 2012; 7(10): e47323 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047323>
63. Yang Y., Schmidt E.P. The endothelial glycocalyx: an important regulator of the pulmonary vascular barrier. *Tissue Barriers*. 2013; 1(1): e23494. <https://doi.org/10.4161/tisb.23494>
64. Ferro T., Neumann P., Gertzberg N., Clements R., Johnson A. Protein kinase C- α mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF- α . *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. 2000; 278(6): L1107–17. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2000.278.6.L1107>
65. Kim K., Jung H., Shin I., Choi B., Kim D. Induction of interleukin-1 beta (IL-1 β) is a critical component of lung inflammation during influenza A (H1N1) virus infection. *J. Med. Virol*. 2015; 87: 1104–12. <https://doi.org/10.1002/jmv.24138>
66. Wang S., Le T.Q., Kurihara N., Chida J., Cisse Y., Yano M., et al. Influenza virus-cytokine-protease cycle in the pathogenesis of vascular hyperpermeability in severe influenza. *J. Infect. Dis*. 2010; 202(7): 991–1001. <https://doi.org/10.1086/656044>
67. Collins T., Read M.A., Neish A.S., Whitley M.Z., Thanos D., Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF- κ B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J*. 1995; 9(10): 899–909.
68. Guan X., Yang W., Sun X., Wang L., Ma B., Li H., et al. Association of influenza virus infection and inflammatory cytokines with acute myocardial infarction. *Inflamm. Res*. 2012; 61(6): 591–8. <https://doi.org/10.1007/s00011-012-0449-3>
69. Singh V., Kaur R., Kumari P., Pasricha C., Singh R. ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clin. Chim. Acta*. 2023; 548: 117487. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117487>
70. George S.T., Lai J., Ma J., Stacey H.D., Miller M.S., Mullarkey C.E. Neutrophils and influenza: a thin line between helpful and harmful. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(6): 597. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060597>
71. Tang B.M., Shojaei M., Teoh S., Meyers A., Ho J., Ball T.B., et al. Neutrophils-related host factors associated with severe disease and fatality in patients with influenza infection. *Nat. Commun*. 2019; 10(1): 3422. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11249-y>
72. Narasaraju T., Yang E., Samy R.P., Ng H.H., Poh W.P., Liew A.A., et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *Am. J. Pathol*. 2011; 179(1): 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.03.013>
73. Saffarzadeh M., Juenemann C., Queisser M.A., Lochnt G., Barreto G., Galuska S.P., et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One*. 2012; 7(2): e32366; <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032366>
74. Schleaf R.R., Bevilacqua M.P., Sawdey M., Gimbrone M.A. Jr., Loskutoff D.J. Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. *J. Biol. Chem*. 1988; 263(12): 5797–803.
75. Marchenko V., Mukhametdinova D., Amosova I., Lioznov D., Zhilinskaya I. Influenza A(H1N1)pdm09 virus alters expression of endothelial factors in pulmonary vascular endothelium in rats. *Viruses*. 2022; 14(11): 2518. <https://doi.org/10.3390/v14112518>
76. Bussolino F., Camussi G., Baglioni C. Synthesis and release of platelet-activating factor by human vascular endothelial cells treated with tumor necrosis factor or interleukin 1 alpha. *J. Biol. Chem*. 1988; 263(24): 11856–61.
77. Счастливец И.В., Лобастов К.В., Цаплин С.Н., Мкртычев Д.С. Современный взгляд на систему гемостаза: клеточная теория. *Медицинский совет*. 2019; (16): 72–7. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-16-72-77> <https://elibrary.ru/smygfk>
78. Visseren F.L., Bouwman J.J., Bouter K.P., Diepersloot R.J., de Groot P.H., Erkelens D.W. Procoagulant activity of endothelial cells

- after infection with respiratory viruses. *Thromb. Haemost.* 2000; 84(2): 319–24.
79. Zelaya H., Tada A., Vizoso-Pinto M.G., Salva S., Kanmani P., Agüero G., et al. Nasal priming with immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* modulates inflammation-coagulation interactions and reduces influenza virus-associated pulmonary damage. *Inflamm. Res.* 2015; 64(8): 589–602. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0837-6>
 80. Cesari M., Pahor M., Incalzi R.A. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc. Ther.* 2010; 28(5): e72–91. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x>
 81. Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Солопова А.Г., Цибизова В.И., Якубова Ф. и др. Роль тромбоцитов в противовирусном иммунитете. *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2022; 16(2): 204–12. [https://elibrary.ru/twhjna](https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.305)
 82. Iba T., Levi M., Thachil J., Levy J.H. Disseminated intravascular coagulation: the past, present, and future considerations. *Semin. Thromb. Hemost.* 2022; 48(8): 978–87. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1756300>
 83. Jansen A.J.G., Spaan T., Low H.Z., Di Iorio D., van den Brand J., Tieke M., et al. Influenza-induced thrombocytopenia is dependent on the subtype and sialoglycan receptor and increases with virus pathogenicity. *Blood Adv.* 2020; 4(13): 2967–78. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001640>
 84. Панина И.Ю., Румянцев А.Ш., Меншутина М.А., Ачкасова В.В., Дегтерева О.А., Тугушева Ф.А. и др. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек. обзор литературы и собственные данные. *Нефрология.* 2007; 11(4): 28–46. <https://elibrary.ru/jtygjh>
 85. Kim K.S., Jung H., Shin I.K., Choi B.R., Kim D.H. Induction of interleukin-1 beta (IL-1 β) is a critical component of lung inflammation during influenza A (H1N1) virus infection. *J. Med. Virol.* 2015; 87(7): 1104–12. <https://doi.org/10.1002/jmv.24138>
 86. Choroño-Parra J.A., Jiménez-Álvarez L.A., Cruz-Lagunas A., Rodríguez-Reyna T.S., Ramírez-Martínez G., Sandoval-Vega M., et al. Clinical and immunological factors that distinguish COVID-19 from pandemic influenza A(H1N1). *Front. Immunol.* 2021; 12: 593595. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.593595>
 87. Sumikoshi M., Hashimoto K., Kawasaki Y., Sakuma H., Suzutani T., Suzuki H., et al. Human influenza virus infection and apoptosis induction in human vascular endothelial cells. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6): 1072–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.21185>
 88. Cassina A.M., Hodara R., Souza J.M., Thomson L., Castro L., Ischiropoulos H., et al. Cytochrome c nitration by peroxynitrite. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(28): 21409–15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M909978199>
 89. Halder U.C., Bagchi P., Chattopadhyay S., Dutta D., Chawla-Sarkar M. Cell death regulation during influenza A virus infection by matrix (M1) protein: a model of viral control over the cellular survival pathway. *Cell Death Dis.* 2011; 2(9): e197. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.75>
 90. Winn R.K., Harlan J.M. The role of endothelial cell apoptosis in inflammatory and immune diseases. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3(8): 1815–24. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01378.x>
 91. Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., Гудымович В.Г. Эндотелий как мишень патологического воздействия вирусной инфекции. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова.* 2022; 17(2): 11–6. [https://elibrary.ru/yzfzvk](https://doi.org/10.25881/20728255_2022_17_2_11)
 92. Gui R., Chen Q. Molecular events involved in influenza A virus-induced cell death. *Front. Microbiol.* 2022; 12: 797789. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.797789>
 93. Zhironov O.P., Konakova T.E., Wolff T., Klenk H.D. NS1 protein of influenza A virus down-regulates apoptosis. *J. Virol.* 2002; 76(4): 1617–25. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.4.1617-1625.2002>
 94. Stasakova J., Ferko B., Kittel C., Sereinig S., Romanova J., Kattinger H., et al. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1beta and 18. *J. Gen. Virol.* 2005; 86(Pt. 1): 185–95. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80422-0>
 95. Wang X., Zheng T., Lin L., Zhang Y., Peng X., Yan Y., et al. Influenza A virus induces autophagy by its hemagglutinin binding to cell surface heat shock protein 90AA1. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 566348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566348>
 96. Othumpangat S., Noti J.D., McMillen C.M., Beezhold D.H. ICAM-1 regulates the survival of influenza virus in lung epithelial cells during the early stages of infection. *Virology.* 2016; 487: 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.10.005>
 97. Tinoco R., Deiro M., Lin M., Bradley L. P-selectin regulation of T cell immunity during influenza virus infection (49.14). *J. Immunol.* 2011; 186(1 Suppl.): 49.14. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.186.Supp.49.14>
 98. Short K.R., Veldhuis Kroeze E.J., Reperant L.A., Richard M., Kuiken T. Influenza virus and endothelial cells: a species specific relationship. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00653>
 99. Garcia C.C., Russo R.C., Guabiraba R., Fagundes C.T., Polidoro R.B., Tavares L.P., et al. Platelet-activating factor receptor plays a role in lung injury and death caused by Influenza A in mice. *PLoS Pathog.* 2010; 6(11): e1001171. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001171>
 100. Morichi S., Morishita N., Takeshita M., Ishida Y., Oana S., Yamanaka G., et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor (PDGF) levels in the cerebrospinal fluid of children with influenza-associated encephalopathy. *J. Infect. Chemother.* 2017; 23(2): 80–4. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.10.007>
 101. Schmitz N., Kurrer M., Bachmann M.F., Kopf M. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J. Virol.* 2005; 79(10): 6441–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.10.6441-6448.2005>
 102. Bawazeer A.O., Rosli S., Harpur C.M., Docherty C.A., Mansell A., Tate M.D. Interleukin-1 β exacerbates disease and is a potential therapeutic target to reduce pulmonary inflammation during severe influenza A virus infection. *Immunol. Cell Biol.* 2021; 99(7): 737–48. <https://doi.org/10.1111/imcb.12459>
 103. Жилинская И.Н., Марченко В.А., Харченко Е.П. Сравнение фрагментов, мимикрирующих белки системы гемостаза человека, в белках вирусов гриппа А/Н1Н1 и коронавирусов. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2022; 40(4): 43–6. [https://elibrary.ru/mwqoig](https://doi.org/10.17116/molgen20224004143)
 104. Гольдштейн Э.М. Смертность от болезней системы кровообращения и болезней органов дыхания, ассоциированная с гриппом, в российской федерации во время сезонов гриппа с 2013–2014 до 2018–2019. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2019; (12-1): 9–16. [https://elibrary.ru/dhthqt](https://doi.org/10.17513/mjpf.12945)

REFERENCES

1. Office WHOEMR. Global Influenza Strategy 2019–2030. *Weekly Epidemiological Record*; 2019.
2. Boehme A.K., Luna J., Kulick E.R., Kamel H., Elkind M.S.V. Influenza-like illness as a trigger for ischemic stroke. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2018; 5(4): 45663. <https://doi.org/10.1002/acn3.545>
3. Muscente F., De Caterina R. Causal relationship between influenza infection and risk of acute myocardial infarction: pathophysiological hypothesis and clinical implications. *Eur. Heart J.* 2020; 22(Suppl. E): E68–72. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suaa064>
4. Skaarup K.G., Modin D., Nielsen L., Jensen J.U.S., Biering-Sorensen T. Influenza and cardiovascular disease pathophysiology: strings attached. *Eur. Heart J.* 2023;25(Suppl. A): A5–11. <https://doi.org/10.1093/eurheartjsupp/suac117>
5. Rubino R., Imburgia C., Bonura S., Trizzino M., Iaria C., Cascio A. Thromboembolic events in patients with influenza: a scoping review. *Viruses.* 2022; 14(12): 2817. <https://doi.org/10.3390/v14122817>
6. Short K.R., Kuiken T., Van Riel D. Role of endothelial cells in the pathogenesis of influenza in humans. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(11): 1859–60. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz349>
7. Armstrong S.M., Darwish I., Lee W.L. Endothelial activation and dysfunction in the pathogenesis of influenza A virus infection. *Virulence.* 2013; 4(6): 537–42. <https://doi.org/10.4161/viru.25779>
8. Marchenko V.A., Barashkova S.V., Zelinskaya I.A., Toropova Ya.G., Ramsay E.S., Zhilinskaya I.N. Modulation of endothelial factors activity in human endothelial cells in influenza A(H1N1)PDM09 virus infection. *Voprosy virusologii.* 2021; 66(3): 198–210. [https://elibrary.ru/wsxlvb](https://doi.org/10.36233/0507-4088-48) (in Russian)
9. Aird W.C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ. Res.* 2007; 100(2): 158–73. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>

10. Zhang J., Defelice A.F., Hanig J.P., Colatsky T. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury. *Toxicol. Pathol.* 2010; 38(6): 856–71. <https://doi.org/10.1177/0192623310378866>
11. Matrosovich M.N., Matrosovich T.Y., Gray T., Roberts N.A., Klenk H.D. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(13): 4620–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308001101>
12. Ibricevic A., Pekosz A., Walter M.J., Newby C., Battaile J.T., Brown E.G., et al. Influenza virus receptor specificity and cell tropism in mouse and human airway epithelial cells. *J. Virol.* 2006; 80(15): 7469–80. <https://doi.org/10.1128/JVI.02677-05>
13. Abe Y., Smith C.W., Katkin J.P., Thurmon L.M., Xu X., Mendoza L.H., et al. Endothelial alpha 2,6-linked sialic acid inhibits VCAM-1-dependent adhesion under flow conditions. *J. Immunol.* 1999; 163(5): 2867–76.
14. Cioffi D.L., Pandey S., Alvare D.F., Cioffi E.A. Terminal sialic acids are an important determinant of pulmonary endothelial barrier integrity. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2012; 302(10): L1067–77. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00190.2011>
15. Denney L., Ho L.P. The role of respiratory epithelium in host defence against influenza virus infection. *Biomed. J.* 2018; 41(4): 218–33. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.08.004>
16. Herold S., Becker C., Ridge K.M., Budinger G.R. Influenza virus-induced lung injury: pathogenesis and implications for treatment. *Eur. Respir. J.* 2015; 45(5): 1463–78. <https://doi.org/10.1183/09031936.00186214>
17. Herold S., Steinmueller M., von Wulffen W., Cakarova L., Pinto R., Pleschka S., et al. Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J. Exp. Med.* 2008; 205(13): 3065–77. <https://doi.org/10.1084/jem.20080201>
18. Zeng H., Goldsmith C.S., Maines T.R., Belser J.A., Gustin K.M., Pekosz A., et al. Tropism and infectivity of influenza virus, including highly pathogenic avian H5N1 virus, in ferret tracheal differentiated primary epithelial cell cultures. *J. Virol.* 2013; 87(5): 2597–607. <https://doi.org/10.1128/JVI.02885-12>
19. Kumlin U., Olofsson S., Dimock K., Arnberg N. Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2008; 2(5): 147–54. <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2008.00051.x>
20. Sugiyama M.G., Gamage A., Zyla R., Armstrong S.M., Advani S., Advani A., et al. Influenza virus infection induces platelet-endothelial adhesion which contributes to lung injury. *J. Virol.* 2015; 90(4): 1812–23. <https://doi.org/10.1128/JVI.02599-15>
21. Lee S., Hirohama M., Noguchi M., Nagata K., Kawaguchi A. Influenza A virus infection triggers pyroptosis and apoptosis of respiratory epithelial cells through the type I interferon signaling pathway in a mutually exclusive manner. *J. Virol.* 2018; 92(14): e00396-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00396-18>
22. Chan M.C., Chan R.W., Yu W.C., Ho C.C., Chui W.H., Lo C.K., et al. Influenza H5N1 virus infection of polarized human alveolar epithelial cells and lung microvascular endothelial cells. *Respir. Res.* 2009; 10(1): 102. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-102>
23. Zeng H., Pappas C., Belser J.A., Houser K.V., Zhong W., Wadford D.A., et al. Human pulmonary microvascular endothelial cells support productive replication of highly pathogenic avian influenza viruses: possible involvement in the pathogenesis of human H5N1 virus infection. *J. Virol.* 2012; 86(2): 667–78. <https://doi.org/10.1128/JVI.06348-11>
24. Chan L.L.Y., Hui K.P.Y., Kuok D.I.T., Bui C.H.T., Ng K.C., Mok C.K.P., et al. Risk assessment of the tropism and pathogenesis of the highly pathogenic avian influenza A/H7N9 virus using ex vivo and in vitro cultures of human respiratory tract. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(4): 578–88. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz165>
25. Simon P., de La Vega M.A., Paradis E., Mendoza E., Coombs K.M., Kobasa D., et al. Avian influenza viruses that cause highly virulent infections in humans exhibit distinct replicative properties in contrast to human H1N1 viruses. *Sci. Rep.* 2016; 6: 24154. <https://doi.org/10.1038/srep24154>
26. Han T., Lai Y., Jiang Y., Liu X., Li D. Influenza A virus infects pulmonary microvascular endothelial cells leading to microvascular leakage and release of pro-inflammatory cytokines. *PeerJ.* 2021; 9: e11892. <https://doi.org/10.7717/peerj.11892>
27. Gu Y., Zuo X., Zhang S., Ouyang Z., Jiang S., Wang F., et al. The mechanism behind influenza virus cytokine storm. *Viruses.* 2021; 13(7): 1362. <https://doi.org/10.3390/v13071362>
28. Tang B.M., Cootes T., McLean A.S. From influenza-induced acute lung injury to multiorgan failure. In: *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2019*. 2018: 449–58. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06067-1_35
29. Yang Y., Tang H. Aberrant coagulation causes a hyper-inflammatory response in severe influenza pneumonia. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13(4): 432–42. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.1>
30. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2022; 23(2): 73. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2302073>
31. Immanuel J., Yun S. Vascular inflammatory diseases and endothelial phenotypes. *Cells.* 2023; 12(12): 1640. <https://doi.org/10.3390/cells12121640>
32. Mel'nikova Yu.S., Makarova T.P. Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis. *Kazanskii meditsinskii zhurnal.* 2015; 96(4): 659–65. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-659> <https://elibrary.ru/ubegwv> (in Russian)
33. Vlasova T.I., Petrishchev N.N., Vlasov T.D. Endothelial dysfunction as the typical pathological state. *Regionarnoe krovoobraschenie i mikrotsirkulyatsiya.* 2022; 21(2): 4–15. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2022-21-2-4-15> <https://elibrary.ru/zshes5> (in Russian)
34. Yang Y., Bazhin A.V., Werner J., Karakhanova S. Reactive oxygen species in the immune system. *Int. Rev. Immunol.* 2013; 32(3): 249–70. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>
35. Bach F.H., Robson S.C., Ferran C., Winkler H., Millan M.T., Stuhlmeier K.M., et al. Endothelial cell activation and thromboregulation during xenograft rejection. *Immunol. Rev.* 1994; 141: 5–30. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065x.1994.tb00870.x>
36. Pober J.S., Sessa W.C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7(10): 803–15. <https://doi.org/10.1038/nri2171>
37. Bigildeev A.E., Chepurnykh Yu.F., Petinati N.A., Drize N.J. Features of the expression of NF-kB pathway genes in tissues of irradiated mice and in old animals. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2019; 59(6): 565–74. <https://doi.org/10.1134/S0869803119060031> <https://elibrary.ru/ebdunp> (in Russian)
38. Waitkus M.S., Harris D.P., DiCorleto P.E. Mechanisms of Endothelial Activation. In: Mackay I.R., Rose N.R., Diamond B., Davidson A., eds. *Encyclopedia of Medical Immunology*. New York: Springer; 2014. https://doi.org/10.1007/978-0-387-84828-0_183
39. Endemann D.H., Schiffrin E.L. Endothelial dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15(8): 1983–92. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA>
40. Hadi H.A., Carr C.S., Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc. Health Risk Manag.* 2005; 1(3): 183–98.
41. Widmer R.J., Lerman A. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* 2014; 2014(3): 291–308. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2014.43>
42. Han T., Lai Y., Jiang Y., Liu X., Li D. Influenza A virus infects pulmonary microvascular endothelial cells leading to microvascular leakage and release of pro-inflammatory cytokines. *PeerJ.* 2021; 9: e11892. <https://doi.org/10.7717/peerj.11892>
43. Siragusa M., Thole J., Bibli S.I., Luck B., Loot A.E., de Silva K., et al. Nitric oxide maintains endothelial redox homeostasis through PKM2 inhibition. *EMBO J.* 2019; 38(17): e100938. <https://doi.org/10.15252/embj.2018100938>
44. Marchenko V.A., Zelinskaya I.A., Toropova YA.G., Mukhametdinova D.V., Galagudza M.M., Lioznov D.A., et al. Duration of systemic alteration in vasomotor function of microvascular endothelium caused by the influenza A(H1N1)pdm09 virus. *Regionarnoe krovoobraschenie i mikrotsirkulyatsiya.* 2023; 22(4): 74–86. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2023-22-4-74-86> <https://elibrary.ru/mmwmsf> (in Russian)
45. Boytsov SA. Influenza, novel coronavirus infection and cardiovascular diseases. Russian *Kardiologicheskii vestnik.* 2021; 16(1): 5–9. <https://doi.org/10.17116/Cardiobulletin2021160115> <https://elibrary.ru/zgvxkg> (in Russian)
46. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(23): 5839–48. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>

47. Beckman J.S., Koppenol W.H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am. J. Physiol.* 1996; 271(5 Pt. 1): C1424–37. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1996.271.5.C1424>.
48. Babizhayev M.A., Deyev A.I. Management of the virulent influenza virus infection by oral formulation of nonhydrolyzed carnosine and isopeptide of carnosine attenuating proinflammatory cytokine-induced nitric oxide production. *Am. J. Ther.* 2012; 19(1): e25–47. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3181dcf589>
49. Vasina L.V., Petrishchev N.N., Vlasov T.D. Markers of endothelial dysfunction. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya.* 2017; 16(1): 4–15. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-1-4-15> <https://elibrary.ru/yocujf> (in Russian)
50. Viemann D., Schmolke M., Lueken A., Boergeling Y., Friesenhagen J., Wittkowski H., et al. H5N1 virus activates signaling pathways in human endothelial cells resulting in a specific imbalanced inflammatory response. *J. Immunol.* 2011; 186(1): 164–73. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0904170>
51. Teijaro J.R., Walsh K.B., Cahalan S., Fremgen D.M., Roberts E., Scott F., et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell.* 2011; 146(6): 980–91. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.015>
52. Yu J., Sun X., Goje J.Y.G., Zhang Y. Regulation of host immune responses against influenza A virus infection by Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKs). *Microorganisms.* 2020; 8(7): 1067. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071067>
53. Fontijn R.D., Volger O.L., van der Pouw-Kraan T.C., Dodbaballapur A., Leyen T., Baggen J.M., et al. Expression of nitric oxide-transporting aquaporin-1 is controlled by KLF2 and marks non-activated endothelium in vivo. *PLoS One.* 2015; 10(12): e0145777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145777>
54. Parmar K.M., Larman H.B., Dai G., Zhang Y., Wang E.T., Moorthy S.N., et al. Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Kruppel-like factor 2. *J. Clin. Invest.* 2006; 116(1): 49–58. <https://doi.org/10.1172/jci24787>
55. SenBanerjee S., Lin Z., Atkins G.B., Greif D.M., Rao R.M., Kumar A., et al. KLF2 Is a novel transcriptional regulator of endothelial proinflammatory activation. *J. Exp. Med.* 2004; 199: 1305–15. <https://doi.org/10.1084/jem.20031132>
56. Turpaev K.T. Transcription factor KLF2 and its role in the regulation of inflammatory processes. *Biochemistry (Mosc.).* 2020; 85(1): 54–67. <https://doi.org/10.1134/S0006297920010058>
57. Azarenok A.A., Eropkina E.M., Prochukhanova A.R., Shaldzhyan A.A., Kozlova N.M., Kozeletskaya K.N., et al. The influenza viruses and their surface proteins impact on the metabolism of human blood vessel endothelium cells. *Voprosy virusologii.* 2013; 58(3): 25–7. <https://elibrary.ru/pzxtur> (in Russian)
58. Hiyoshi M., Indalao I.L., Yano M., Yamane K., Takahashi E., Kido H. Influenza A virus infection of vascular endothelial cells induces GSK-3 β -mediated β -catenin degradation in adherens junctions, with a resultant increase in membrane permeability. *Arch. Virol.* 2015; 160(1): 225–34. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2270-5>
59. Betheridge K.B., Arkill K.P., Neal C.R., Harper S.J., Foster R.R., Satchell S.C., et al. Sialic acids regulate microvessel permeability, revealed by novel in vivo studies of endothelial glycocalyx structure and function. *J. Physiol.* 2017; 595(15): 5015–35. <https://doi.org/10.1113/JP274167>
60. Taghavi S., Abdullah S., Shaheen F., Mueller L., Gagen B., Duchesne J., et al. Glycocalyx degradation and the endotheliopathy of viral infection. *PLoS One.* 2022; 17(10): e0276232. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276232>
61. Simionescu M. Structural biochemical and functional differentiation of the vascular endothelium. In: Risau W., ed. *Morphogenesis of the Endothelium.* Amsterdam: Harwood Academic; 2000: 1–21.
62. Armstrong S.M., Wang C., Tigdi J., Si X., Dumpit C., Charles S., et al. Influenza infects lung microvascular endothelium leading to microvascular leak: role of apoptosis and claudin-5. *PLoS One.* 2012; 7(10): e47323 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047323>
63. Yang Y., Schmidt E.P. The endothelial glycocalyx: an important regulator of the pulmonary vascular barrier. *Tissue Barriers.* 2013; 1(1): e23494. <https://doi.org/10.4161/tisb.23494>
64. Ferro T., Neumann P., Gertzberg N., Clements R., Johnson A. Protein kinase C- α mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF- α . *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2000; 278(6): L1107–17. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2000.278.6.L1107>
65. Kim K., Jung H., Shin I., Choi B., Kim D. Induction of interleukin-1 beta (IL-1 β) is a critical component of lung inflammation during influenza A (H1N1) virus infection. *J. Med. Virol.* 2015; 87: 1104–12. <https://doi.org/10.1002/jmv.24138>
66. Wang S., Le T.Q., Kurihara N., Chida J., Cisse Y., Yano M., et al. Influenza virus-cytokine-protease cycle in the pathogenesis of vascular hyperpermeability in severe influenza. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(7): 991–1001. <https://doi.org/10.1086/656044>
67. Collins T., Read M.A., Neish A.S., Whitley M.Z., Thanos D., Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF- κ B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J.* 1995; 9(10): 899–909.
68. Guan X., Yang W., Sun X., Wang L., Ma B., Li H., et al. Association of influenza virus infection and inflammatory cytokines with acute myocardial infarction. *Inflamm.* 2012; 61(6): 591–8. <https://doi.org/10.1007/s00011-012-0449-3>
69. Singh V., Kaur R., Kumari P., Pasricha C., Singh R. ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clin. Chim. Acta.* 2023; 548: 117487. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117487>
70. George S.T., Lai J., Ma J., Stacey H.D., Miller M.S., Mullarkey C.E. Neutrophils and influenza: a thin line between helpful and harmful. *Vaccines (Basel).* 2021; 9(6): 597. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060597>
71. Tang B.M., Shojaei M., Teoh S., Meyers A., Ho J., Ball T.B., et al. Neutrophils-related host factors associated with severe disease and fatality in patients with influenza infection. *Nat. Commun.* 2019; 10(1): 3422. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11249-y>
72. Narasaraju T., Yang E., Samy R.P., Ng H.H., Poh W.P., Liew A.A., et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonia. *Am. J. Pathol.* 2011; 179(1): 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.03.013>
73. Saffarzadeh M., Juenemann C., Queisser M.A., Lochnit G., Barreto G., Galuska S.P., et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One.* 2012; 7(2): e32366; <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032366>
74. Schleaf R.R., Bevilacqua M.P., Sawdey M., Gimbrone M.A. Jr., Loskutoff D.J. Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. *J. Biol. Chem.* 1988; 263(12): 5797–803.
75. Marchenko V., Mukhametdinova D., Amosova I., Lioznov D., Zhilinskaya I. Influenza A(H1N1)pdm09 virus alters expression of endothelial factors in pulmonary vascular endothelium in rats. *Viruses.* 2022; 14(11): 2518. <https://doi.org/10.3390/v14112518>
76. Bussolino F., Camussi G., Baglioni C. Synthesis and release of platelet-activating factor by human vascular endothelial cells treated with tumor necrosis factor or interleukin 1 alpha. *J. Biol. Chem.* 1988; 263(24): 11856–61.
77. Schastlivtsev I.V., Lobastov K.V., Tsaplin S.N., Mkrtychev D.S. Modern view on hemostasis system: cell theory. *Meditsinskii sovet.* 2019; (16): 72–7. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-16-72-77> <https://elibrary.ru/smgfyk> (in Russian)
78. Visseren F.L., Bouwman J.J., Bouter K.P., Diepersloot R.J., de Groot P.H., Erkelens D.W. Procoagulant activity of endothelial cells after infection with respiratory viruses. *Thromb. Haemost.* 2000; 84(2): 319–24.
79. Zelaya H., Tada A., Vizoso-Pinto M.G., Salva S., Kanmani P., Agüero G., et al. Nasal priming with immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* modulates inflammation-coagulation interactions and reduces influenza virus-associated pulmonary damage. *Inflamm. Res.* 2015; 64(8): 589–602. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0837-6>
80. Cesari M., Pahor M., Incalzi R.A. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc. Ther.* 2010; 28(5): e72–91. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x>
81. Slukhanchuk E.V., Bitsadze V.O., Khizroeva J.K.H., Solopova A.G., Tsubizova V.I., Yakubova F., et al. The role of platelets in antiviral immunity. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduktivnaya.* 2022; 16(2): 204–12. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.305> <https://elibrary.ru/twhjna> (in Russian)
82. Iba T., Levi M., Thachil J., Levy J.H. Disseminated intravascular coagulation: the past, present, and future considerations. *Semin. Thromb. Hemost.* 2022; 48(8): 978–87. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1756300>

83. Jansen A.J.G., Spaan T., Low H.Z., Di Iorio D., van den Brand J., Tieke M., et al. Influenza-induced thrombocytopenia is dependent on the subtype and sialoglycan receptor and increases with virus pathogenicity. *Blood Adv.* 2020; 4(13): 2967–78. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020001640>
84. Panina I.Yu., Rummyantsev A.Sh., Menshutina M.A., Achkaso-va V.V., Degtereva O.A., Tugusheva F.A., et al. Specific functions of the endothelium in chronic kidney disease. literature review and personal data. *Nefrologiya.* 2007; 11(4): 28–46. <https://elibrary.ru/jtygjh> (in Russian)
85. Kim K.S., Jung H., Shin I.K., Choi B.R., Kim D.H. Induction of interleukin-1 beta (IL-1 β) is a critical component of lung inflammation during influenza A (H1N1) virus infection. *J. Med. Virol.* 2015; 87(7): 1104–12. <https://doi.org/10.1002/jmv.24138>
86. Choreño-Parra J.A., Jiménez-Álvarez L.A., Cruz-Lagunas A., Rodríguez-Reyna T.S., Ramírez-Martínez G., Sandoval-Vega M., et al. Clinical and immunological factors that distinguish COVID-19 from pandemic influenza A(H1N1). *Front. Immunol.* 2021; 12: 593595. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.593595>
87. Sumikoshi M., Hashimoto K., Kawasaki Y., Sakuma H., Suzutani T., Suzuki H., et al. Human influenza virus infection and apoptosis induction in human vascular endothelial cells. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6): 1072–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.21185>
88. Cassina A.M., Hodara R., Souza J.M., Thomson L., Castro L., Ischiropoulos H., et al. Cytochrome c nitration by peroxynitrite. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(28): 21409–15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M909978199>
89. Halder U.C., Bagchi P., Chattopadhyay S., Dutta D., Chawla-Sarkar M. Cell death regulation during influenza A virus infection by matrix (M1) protein: a model of viral control over the cellular survival pathway. *Cell Death Dis.* 2011; 2(9): e197. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.75>
90. Winn R.K., Harlan J.M. The role of endothelial cell apoptosis in inflammatory and immune diseases. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3(8): 1815–24. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01378.x>
91. Shevchenko YU.L., Stojko YU.M., Gudymovich V.G. Endothelium as a target of pathological effects of viral infection. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tseentra im. N.I. Pirogova.* 2022; 17(2): 11–6. https://doi.org/10.25881/20728255_2022_17_2_11 <https://elibrary.ru/yzfzqv> (in Russian)
92. Gui R, Chen Q. Molecular events involved in influenza A virus-induced cell death. *Front. Microbiol.* 2022; 12: 797789. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.797789>
93. Zhirmov O.P., Konakova T.E., Wolff T., Klenk H.D. NS1 protein of influenza A virus down-regulates apoptosis. *J. Virol.* 2002; 76(4): 1617–25. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.4.1617-1625.2002>
94. Stasakova J., Ferko B., Kittel C., Sereinig S., Romanova J., Kattinger H., et al. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1beta and 18. *J. Gen. Virol.* 2005; 86(Pt. 1): 185–95. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80422-0>
95. Wang X., Zheng T., Lin L., Zhang Y., Peng X., Yan Y., et al. Influenza A virus induces autophagy by its hemagglutinin binding to cell surface heat shock protein 90AA1. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 566348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566348>
96. Othumpangat S., Noti J.D., McMillen C.M., Beezhold D.H. ICAM-1 regulates the survival of influenza virus in lung epithelial cells during the early stages of infection. *Virology.* 2016; 487: 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.10.005>
97. Tinoco R., Deiro M., Lin M., Bradley L. P-selectin regulation of T cell immunity during influenza virus infection (49.14). *J. Immunol.* 2011; 186(1 Suppl.): 49.14. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.186.Supp.49.14>
98. Short K.R., Veldhuis Kroeze E.J., Reperant L.A., Richard M., Kuiken T. Influenza virus and endothelial cells: a species specific relationship. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00653>
99. Garcia C.C., Russo R.C., Guabiraba R., Fagundes C.T., Polidoro R.B., Tavares L.P., et al. Platelet-activating factor receptor plays a role in lung injury and death caused by Influenza A in mice. *PLoS Pathog.* 2010; 6(11): e1001171. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001171>
100. Morichi S., Morishita N., Takeshita M., Ishida Y., Oana S., Yamanaka G., et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor (PDGF) levels in the cerebrospinal fluid of children with influenza-associated encephalopathy. *J. Infect. Chemother.* 2017; 23(2): 80–4. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.10.007>
101. Schmitz N., Kurrer M., Bachmann M.F., Kopf M. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J. Virol.* 2005; 79(10): 6441–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.10.6441-6448.2005>
102. Bawazeer A.O., Rosli S., Harpur C.M., Docherty C.A., Mansell A., Tate M.D. Interleukin-1 β exacerbates disease and is a potential therapeutic target to reduce pulmonary inflammation during severe influenza A virus infection. *Immunol. Cell Biol.* 2021; 99(7): 737–48. <https://doi.org/10.1111/imcb.12459>
103. Zhilinskaya I.N., Marchenko V.A., Kharchenko E.P. Comparison of fragments in human hemostatic proteins that mimics fragments in proteins of A/H1N1 viruses and coronaviruses. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2022; 40(4): 43–6. <https://doi.org/10.17116/molgen20224004143> <https://elibrary.ru/mwqoig> (in Russian)
104. Goldsteyn E.M. Influenza-associated mortality for circulatory and respiratory causes during the 2013–2014 through the 2018–2019 influenza seasons in Russia. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2019; (12-1): 9–16. <https://doi.org/10.17513/mjpf.12945> <https://elibrary.ru/dhthqt> (in Russian)

Информация об авторах:

Марченко Владимир Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vmarcenco@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6870-3157>

Жилинская Ирина Николаевна – д-р биол. наук, профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0084-1323>

Участие авторов: Марченко В.А. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Жилинская И.Н. – научное редактирование статьи.

Поступила 16.09.2024
Принята в печать 04.11.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Vladimir A. Marchenko – Ph. D. in medicine, Associate Professor of Medical Microbiology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia. E-mail: vmarcenco@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6870-3157>

Irina N. Zhilinskaya – D. Sc. in Biology, Professor of Medical Microbiology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0084-1323>

Contribution: Marchenko V.A. – collection, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Zhilinskaya I.N. – editing and reviewing the manuscript.

Received 16 September 2024
Accepted 04 November 2024
Published 26 December 2024

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-275>

© ТРАЧУК К.Н., ПЕСТОВ Н.Б., БИРЮКОВА Ю.К., КОЛЯСНИКОВА Н.М., 2024



Влияние врожденного иммунного ответа на эффективность действия онколитических вирусов

Трачук К.Н.✉, Пестов Н.Б., Бирюкова Ю.К., Колясникова Н.М.

ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, г. Москва, Россия

Резюме

Онколитические вирусы представляют собой перспективный класс иммунотерапевтических агентов для борьбы со злокачественными новообразованиями. Первоначально механизм действия различных онколитических вирусов объясняли способностью вируса селективно лизировать опухолевые клетки, не повреждая здоровые. В последнее время появляется все больше работ, определяющих влияние действия противовирусного иммуностимулирующего механизма на эффективность лечения онкологических пациентов. Стимуляция клеток врожденного иммунитета онколитическим вирусом может инициировать адаптивный противоопухолевый иммунный ответ, в то же время соответствующая противовирусная активность иммунной системы может ограничивать распространение вируса, тем самым снижая его эффективность действия. Таким образом, успех клинического применения онколитического вируса напрямую зависит от трех ключевых составляющих: опухолевой иммуносупрессии, противовирусного и противоопухолевого иммунных ответов.

В обзоре представлены актуальные данные о влиянии рецепторов распознавания паттернов на эффективность действия онколитических вирусов.

Ключевые слова: обзор; онколитические вирусы; врожденный иммунный ответ; PRRs

Для цитирования: Трачук К.Н., Пестов Н.Б., Бирюкова Ю.К., Колясникова Н.М. Влияние врожденного иммунного ответа на эффективность действия онколитических вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 479–488. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-275> EDN: <https://elibrary.ru/yuzhvf>

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания FNZG-2024-0003 «Изучение патогенного и онколитического потенциала вируса клещевого энцефалита, возбудителей других трансмиссивных инфекций и их рекомбинантных производных».

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

REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-275>

The impact of innate immune response on the efficacy of oncolytic viruses

Kirill N. Trachuk✉, Nikolai B. Pestov, Yulia K. Biryukova, Nadezhda M. Kolyasnikova

Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), 108819, Moscow, Russia

Abstract

Oncolytic viruses represent a promising class of immunotherapeutic agents for the treatment of malignant tumors. The proposed mechanism of action of various oncolytic viruses has initially been explained by the ability of such viruses to selectively lyse tumor cells without damaging healthy ones. Recently, there have emerged more studies determining the effect of the antiviral immunostimulating mechanisms on the effectiveness of treatment in cancer patients. Stimulation of innate immune cells by an oncolytic virus can initiate an adaptive antitumor immune response, yet at the same time, the antiviral mechanisms of the immune system can limit the spread of the virus, thereby reducing its effectiveness. Thus, the success of the clinical application of the oncolytic viruses directly depends on the three key components: tumor immunosuppression, antiviral responses, and antitumor immune responses. The review presents current data on the influence of pattern recognition receptors on the effectiveness of oncolytic viruses.

Keywords: review; oncolytic viruses; the innate immune response; PRRs

For citation: Trachuk K.N., Pestov N.B., Biryukova Yu.K., Kolyasnikova N.M. The impact of innate immune response on the efficacy of oncolytic viruses. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 479–488. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-275 EDN: https://elibrary.ru/yuzhvf

Funding. This research was funded by the Russian Federation fundamental research program for the long-term period for 2023–2030 FNZG-2024-0003 «Study of the pathogenic and oncolytic potential of tick-borne encephalitis virus, agents of other vector-borne infections and their recombinant derivatives».

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

Введение

Первые упоминания онколитических вирусов появились в XX в., и тогда исследования основывались на изучении вирусов дикого типа или аттенуированных вакцинных штаммов. В настоящее время наблюдается тенденция к разработке рекомбинантных онколитических вирусов с повышенной безопасностью, «вооруженных» трансгенами, которые усиливают противоопухолевое действие, в особенности в части иммуностимулирующего эффекта [1, 2]. Огромное значение имеет не только адаптивный иммунный ответ, но и работа врожденной иммунной системы как первой линии защиты организма от различных вирусных и бактериальных инфекций.

Рецепторы распознавания паттернов

Для врожденного иммунитета крайне важны рецепторы распознавания паттернов (Pattern Recognition Receptors, PRRs) – класс рецепторов, которые могут

напрямую распознавать чужеродные молекулярные паттерны, ассоциированные с патогеном (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs), например, вирусные белки, а также различные молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением собственных клеток (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMPs) [3]. После взаимодействия рецепторов PRRs с чужеродным лигандом запускается каскад реакций, что приводит к выработке интерферонов (interferon, IFN) типа I и типа III, хемокинов и провоспалительных цитокинов, активирующих другие компоненты врожденного и адаптивного иммунитета [4]. Существует несколько классов рецепторов PRRs, чувствительных к вирусам (рис. 1).

Toll-подобные рецепторы

Toll-подобные рецепторы (Toll-Like Receptors, TLRs) являются первыми рецепторами PRRs, обнаруженными во врожденной иммунной системе, кото-

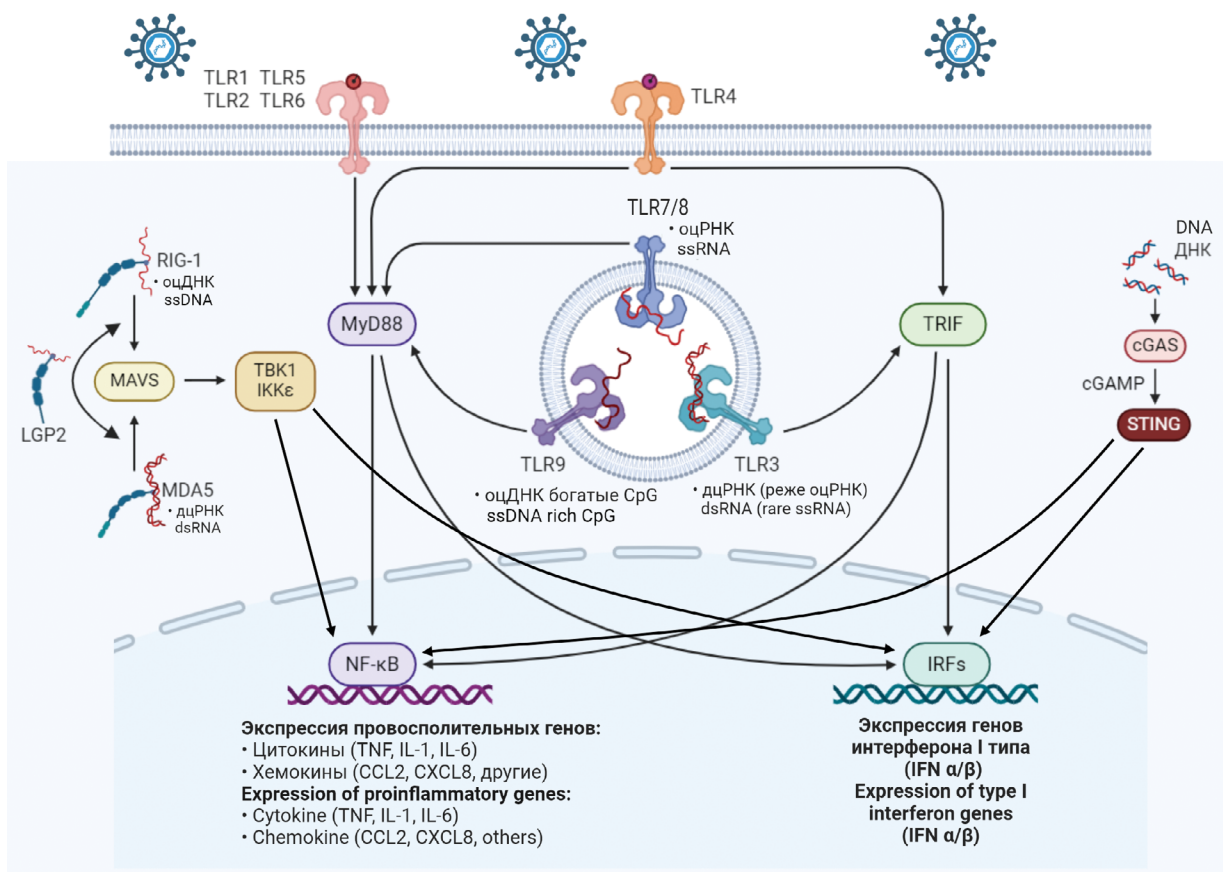


Рис. 1. Рецепторы распознавания паттернов (PRRs), участвующие в противовирусном ответе.

Fig. 1. Pattern recognition receptors (PRRs) involved in the antiviral response.

рые играют важную роль в воспалительных реакциях [5]. Всего у человека открыто 10 рецепторов TLRs, которые можно разделить по месту их локализации: 1-я группа – рецепторы, которые экспрессируются на поверхности клетки и в большей степени связаны с обнаружением бактериальных агентов; 2-я группа – рецепторы, которые экспрессируются в эндосомах и связаны с обнаружением нуклеиновых кислот [6]. Рецепторы TLRs представляют собой трансмембранные гликопротеины I типа, включающие внеклеточную область, которая содержит богатые лейцином повторы и отвечает за распознавание специфических лигандов, а также трансмембранную и внутриклеточную области, последняя содержит домен Toll/IL-1R (TIR), отвечающий за передачу сигнала [7]. После того как рецепторы TLRs распознают и связывают соответствующие молекулы PAMPs и DAMPs, домены TIR проводят сигналы путем связывания с различными белками-адаптерами рецепторов в цитоплазматической области [8]. Все рецепторы TLRs, кроме TLR3, используют TIR-домен для связи с адаптерным белком первичного ответа миелоидной дифференцировки 88 (Myeloid Differentiation primary response gene 88, MyD88). После активации белок MyD88 взаимодействует N-концевым доменом с семейством белков киназы, ассоциированной с рецептором интерлейкина (interleukin, IL) 1, что обуславливает их активацию и последующее фосфорилирование транскрипционного ядерного фактора каппа В (Nuclear Factor kappa B, NF-κB). Это приводит к экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и фактор некроза опухоли-альфа (Tumor Necrosis Factor Alpha, TNF-α) [9–11].

Рецепторы TLR3 расположены внутри эндосом и распознают преимущественно двухцепочечную РНК (дцРНК), однако способны также связываться и с одноцепочечной РНК (оцРНК) и двухцепочечной ДНК (дцДНК) [12]. Рецепторы TLR3 широко экспрессируются в нейронах, иммунных клетках, фибробластах и различных эпителиальных клетках [13, 14]. Среди иммунных клеток TLR3 экспрессируют только миелоидные дендритные клетки (ДК), макрофаги и тучные клетки [15, 16]. После взаимодействия с нуклеиновой кислотой рецептор TLR3 активирует белок TRIF для запуска нижестоящего сигнального каскада TLR3-TRIF-IRF3/NF-κB. Белки IRF3 и IRF7 являются регуляторными факторами IFN, которые опосредуют активацию транскрипционного фактора NF-κB, при этом IRF3 активируется по пути TRIF, а IRF7 – по пути MyD88 [7].

Человеческие рецепторы TLR7 и TLR8, кодирующиеся одними и теми же генетическими локусами на X-хромосоме, являются эндосомальными рецепторами для вирусной оцРНК и экспрессируются в моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, миелоидных ДК и регуляторных Т-клетках [17–19]. Рецепторы TLR7/8 распознают такие вирусы, как вирус везикулярного стоматита (VBS), вирус Сендай, вирус Коксаки типа В, а также ряд флавивирусов – вирус желтой лихорадки (ВЖЛ), вирус денге, вирус Зика и др.

Рецепторы TLR9 локализуются в поздних эндосомах или лизосомах, где распознают неметилированные мотивы цитидинфосфат-гуанозина CpG в дцДНК бактериальных и вирусных агентов [20]. При взаимодействии лиганда с рецептором TLR9 запускается MyD88-зависимый путь, опосредованный активацией разных факторов транскрипции, включая NF-κB и активаторный белок-1 (Activating Protein-1, AP-1). NF-κB и AP-1 индуцируют ДК секретировать высокие уровни провоспалительных цитокинов, включая TNF-α, IL-6 и IL-12, что приводит к быстрой активации цитотоксичности естественных киллеров и продукции IFN-γ для мощного иммунного ответа [21].

RIG-I-подобные рецепторы

RIG-I-подобные рецепторы (RIG-I-Like Receptors, RLRs) представляют собой семейство внутриклеточных РНК-рецепторов, которые в отличие от TLRs, находящихся на поверхности клеток или в эндосомальных компартментах, детектируют вирусные и бактериальные РНК в цитоплазме. В семейство рецепторов RLRs входят: рецептор RIG-I (Retinoic acid-Inducible Gene 1) – белок 1, индуцируемый ретиноевой кислотой; рецептор MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5) – белок 5, ассоциированный с дифференцировкой меланомы; и рецептор LGP2 (Laboratory of Genetics and Physiology 2) [22].

В структуру рецепторов RIG-I и MDA5 входят: два домена активации и рекрутирования каспазы (Caspase Activation and Recruitment Domains, CARD), которые опосредуют дальнейшую активацию сигнальных путей; геликазный домен RecA, отвечающий за внутреннее связывание дцРНК и функции гидролиза аденозинтрифосфата; С-концевой домен, ответственный за связывание с концами РНК [23, 24]. Рецепторы RIG-I и MDA5 состоят из одинаковых доменов и выполняют схожие функции, однако взаимодействуют с разными РНК-лигандами. При этом рецептор RIG-I преимущественно связывается с короткими оцРНК, рецептор MDA5 распознает длинные доступные дцРНК или агрегаты РНК [25, 26]. Связывание вирусной РНК с рецепторами RIG-I/MDA5 приводит к конформационным изменениям и мультимеризации домена CARD, что позволяет RIG-I взаимодействовать с митохондриальным противовирусным сигнальным белком (Mitochondrial AntiViral-Signaling protein, MAVS). Затем олигомеризованный белок MAVS запускает каскад белковых реакций TRAF3-TBK1/IKKε, что приводит к повышенному фосфорилированию, димеризации и ядерной транслокации IRF-3 и IRF-7, а также активации факторов транскрипции NF-κB и STAT [23, 27].

Рецептор LGP2 отличается от двух других RLRs отсутствием доменов CARD, которые необходимы для передачи сигналов. В связи с этим основной функцией LGP2 является регуляция RIG-I и MDA5 [28]. Рецептор LGP2 может ингибировать передачу сигналов RIG-I с помощью различных механизмов, таких как прерывание взаимодействия между рецептором RIG-I и белком MAVS [29, 30], предотвращение связывания

вирусной дцРНК с рецептором RIG-I [31] и подавление опосредованного белком TRIM25 убиквитинирования рецептора RIG-I [32]. Рецепторы RLRs в большей степени распознают геномы РНК-вирусов, а также промежуточные продукты репликации вирусов, что играет важную роль в инициации противовирусного врожденного иммунного ответа против разных РНК-вирусов [22, 33].

cGAS и другие ДНК-рецепторы

На сегодняшний день в геноме человека найдено более 14 рецепторов, распознающих ДНК. Наиболее универсальный и важный – это рецептор циклической гуанозинмонофосфат-аденозинмонофосфат-синтазы (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS), который распознает дцДНК независимо от последовательности [34]. После связывания с ДНК рецепторы задействуют адаптерные белки, такие как стимулятор генов интерферона (STimulator of INterferon Genes, STING), MyD88 или β-катенин, которые активируют факторы транскрипции IRF3, IRF7 [35]. Белок STING – это трансмембранный белок, локализованный в неактивном состоянии в эндоплазматическом ретикулуме в виде димера, который активируется следующими рецепторами, распознающими ДНК: cGAS, IFI16, IFIX, ZBP1/DAI, DDX41 и MRE11-Rad 50 [36–42]. Активация факторов транскрипции белком STING индуцирует экспрессию генов IFN типа I и III, цитокинов и хемокинов, что приводит к противовирусному состоянию клетки и ее окружения.

Онколитические вирусы – тенденции

В зависимости от особенностей репликации различных онколитических вирусов и их взаимодействий

с иммунной системой хозяина, механизм их действия может различаться (рис. 2). На данный момент выделяют два механизма действия онколитических вирусов – прямой лизис опухолевых клеток (онколиз) и иммуногенная клеточная гибель, индуцированная воздействием вируса [43, 44]. Часто для достижения терапевтического эффекта задействованы оба механизма, как, например, при использовании вируса простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) в качестве онколитического агента [45]. Первоначальным механизмом действия ВПГ-1 является прямой лизис опухолевых клеток. После связывания с рецепторами и проникновения в клетку ВПГ-1 реплицируется, лизирует ее, высвобождая вирусные частицы для дальнейшего заражения соседних опухолевых клеток [45, 46].

На этом этапе запускается следующий механизм действия онколитических вирусов – индукция противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа. Иммуногенная клеточная гибель, индуцированная воздействием вируса, включая иммуногенный апоптоз, некроптоз и пироптоз, приводит к высвобождению множества молекул, в том числе PAMP, DAMP, а также опухоль-ассоциированных антигенов (Tumor-Associated Antigens, TAA) и опухоль-ассоциированных неоантигенов (Tumor-Associated Neoantigens, TAN) [47, 48]. Идентификация PAMP/DAMP через PRRs в опухолевых или иммунных клетках запускает экспрессию провоспалительных цитокинов, IFN типа I, IL-1β, IL-6, IL-12, TNF-α и хемокины, такие как CCL2, CCL3, CCL5 и CXCL10 [49]. Хемокины привлекают нейтрофилы и макрофаги к очагам инфекции, а цитокины стимулируют активность клеток врожденного иммунитета, таких как дендритные и НК-клетки, которые дополнительно стимулируют продукцию IFN, TNF-α,

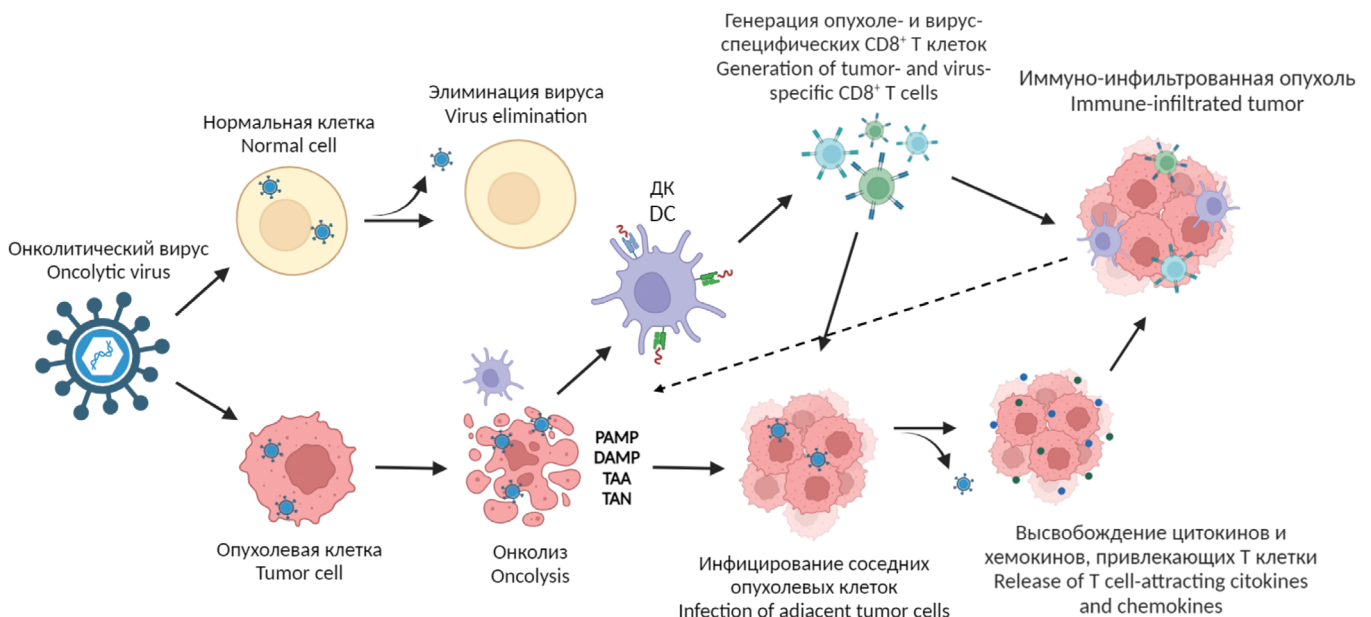


Рис. 2. Механизмы действия онколитических вирусов.

Fig. 2. Mechanisms of oncolytic virus action.

IL-12, IL-6 и новых хемокинов, что приводит к усилению врожденного иммунного ответа и превращению иммунологически «холодных» опухолей в «горячие» [50, 51]. Также иммуногенность онколитического вируса можно увеличить с помощью различных трансгенов, например, цитокинов (IL-15, IL-12, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) или полноразмерных антител (анти-CD47, анти-PD-1) [52–54]. Таким образом, различные вирусы могут активировать разные классы PRRs (**таблица**), что способствует стимуляции врожденного и адаптивного иммунных ответов.

Хорошо известно, что дефекты в путях IFN способствуют прогрессированию рака – выживанию и ускоренной пролиферации злокачественных клеток [85]. Немалая часть подавляющих эпигенетических изменений, связанных с канцерогенезом, относится к генам, вовлеченным в IFN-пути [86]. Такая ситуация часто наблюдается при раке мочевого пузыря, глиомах и лейкомиах [87–89]. С другой стороны, такие дефекты иммунного ответа облегчают репликацию вирусов и, таким образом, повышают эффективность вирусного онколиза.

Стратегии нацеливания на PRRs при иммунотерапии рака

Результаты исследований онколитического действия реовируса на клеточной линии рака яични-

ков OV-90 показали, что быстро реплицирующийся в опухолевых клетках реовирус приводит к высвобождению большого количества вирусных частиц и вирусной дцРНК. Высвободившиеся молекулы PAMPs через сигнальный путь рецептора TLR3 активируют транскрипционные факторы NF-κB и IRF-3 и индуцируют апоптотическую гибель опухолевых клеток [76].

Живая аттенуированная вакцина на основе штамма 17D вируса ВЖЛ продемонстрировала высокий потенциал в качестве онколитического вируса [2]. Вакцинный штамм 17D ВЖЛ является классическим представителем семейства *Flaviridae*, геном которого представляет собой (+)оцРНК. При инфицировании клетки 17D ВЖЛ распознается эндосомальными рецепторами TLR7, расположенными на ДК, а также рецептором RIG-I, который относится к RLRs [62, 90]. В результате запускается сигнальный каскад реакций, который стимулирует выработку IFN типа I и активацию противовирусного ответа.

Изучение генетически модифицированного аденовируса Ad5D24, содержащего 18 иммуностимулирующих островков CpG (Ad5D24-CpG), на ксенотрансплантатной модели рака легкого продемонстрировало повышенную противоопухолевую активность Ad5D24-CpG по сравнению с онколитическим аденовирусом в отдельности, а также с комбинацией онколитического аденовируса и CpG-олигонуклеотидов [83].

Таблица. Взаимодействие различных вирусов с рецепторами PRRs

Table. The interaction of various viruses with PRRs

Группы вирусов Virus groups	Семейство вирусов Virus family	Онколитический вирус Oncolytic virus	PRRs	Ссылки References
оцРНК(-) ssRNA(-)	Rhabdoviridae	Вирус везикулярного стоматита Vesicular stomatitis virus	TLR7, RIG-1	[55–57]
	Paramyxoviridae	Сендай вирус Sendai virus	TLR7, RIG-1	[58, 59]
	Paramyxoviridae	Вирус болезни Ньюкасла Newcastle disease virus	TLR7, RIG-1, MDA5	[60, 61]
оцРНК(+) ssRNA(+)	Flaviviridae	Вирус желтой лихорадки Yellow fever virus	TLR7, RIG-1, MDA5	[62, 63]
	Flaviviridae	Вирус денге Dengue virus	TLR3, TLR7/8, RIG-1, MDA5	[64–66]
	Flaviviridae	Вирус Зика Zika virus	TLR3, TLR7/8, RIG-1, MDA5	[66–68]
	Flaviviridae	Вирус японского энцефалита Japanese encephalitis virus	TLR3, TLR7/8, RIG-1	[69–71]
	Flaviviridae	Вирус Западного Нила West Nile virus	TLR3, TLR7/8, RIG-1	[72, 73]
дцРНК dsRNA	Picornaviridae	Полиовирус Poliovirus	TLR3, TLR7/8, MDA5	[74, 75]
	Spinareoviridae	Реовирус Reovirus	TLR3, RIG-1	[76, 77]
	Sedoreoviridae	Ротавирус Rotavirus	TLR3, RIG-1, MDA5	[78, 79]
дцДНК dsDNA	Orthoherpesviridae	Вирус простого герпеса 1-го типа Herpes simplex virus 1 type	TLR9, RIG-1, cGAS/ STING	[80–82]
	Adenoviridae	Аденовирус типа 5 Adenovirus 5 type	TLR9, cGAS/STING	[83, 84]

Было показано, что повышенная противоопухолевая активность Ad5D24-CpG обусловлена активацией естественных киллеров.

BBC относится к семейству Rhabdoviridae, и его геном представлен (–)оцРНК, которая кодирует 5 белков: белок нуклеокапсида, фосфопротеин, матричный белок, гликопротеин и полимеразу. Инфекция, вызванная BBC, у человека обычно протекает бессимптомно, что делает его перспективным онколитическим терапевтическим агентом [91]. Репликация BBC в клетках может генерировать дефектную интерферирующую РНК (диРНК), усеченную форму генома BBC. Как диРНК, так и весь геном BBC при попадании в клетку может активировать рецептор RIG-I, вызывая противовирусный иммунный ответ [55]. Однако матричный белок BBC, который нацелен на нуклеопорин Nup98, способен ингибировать нуклеоцитоплазматический транспорт мРНК клетки, тем самым подавляя экспрессию белков, включая IFN и провоспалительные цитокины, за счет чего в инфицированных клетках иммунные ответы на инфекцию, вызванную BBC, могут быть подавлены [92]. Сообщалось, что рекомбинантный штамм ΔM51 BBC является отличным кандидатом в онколитические вирусы, т.к. способен оказывать селективное действие при раке толстой кишки и раке поджелудочной железы [93, 94]. Z. Zhang и соавт. показали, что внутриопухолевая инъекция ΔM51 BBC на мышинной модели рака легкого эффективно снижает рост опухоли [56].

Вирус болезни Ньюкасла, который относится к семейству Paramyxoviridae и имеет (–)оцРНК геном, является еще одним кандидатом в онколитические вирусы. После инфицирования линии клеток рака яичников человека OVCAR3 рекомбинантным низкопатогенным вирусом болезни Ньюкасла наблюдалась опосредованная рецепторами RIG-I и MDA5 экспрессия IFN типа I, что способствовало противоопухолевому эффекту [60].

Ротавирусы, вызывающие гастроэнтерит у людей и многих позвоночных, принадлежат к семейству Reoviridae и имеют геном, состоящий из двцРНК. Было показано, что штаммы ротавируса могут индуцировать MDA5-опосредованный иммунный ответ [78]. T. Shekarian и соавт. сообщили о том, что вакцинный штамм ротавируса при внутриопухолевом введении активирует рецепторы двцРНК RIG-I и MDA5, стимулирует передачу сигналов IFN типа I, что приводит к инфильтрации в опухоль миелоидных и CD8⁺ клеток [79].

ВПГ-1 является членом семейства Orthoherpesviridae, а его геном представлен двцДНК длиной 152 т.п.о. Одним из первых препаратов на основе ВПГ-1 был Talimogene Laherpaprevc (T-VEC), одобренный FDA (Food and Drug Administration) в 2015 г. для лечения неоперабельной меланомы [95]. T-VEC представляет собой рекомбинантный ВПГ-1 с делецией в гене *ICP34.5*, гене *ICP47* и вставкой, кодирующей гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Было показано, что при инфицировании ВПГ-1 цитозольная митохондриальная ДНК усилива-

ет RIG-I-опосредованную индукцию IFN I типа [80]. Однако не стоит забывать, что ВПГ-1 способен уклоняться от врожденного иммунного ответа благодаря различным механизмам, в том числе при помощи вирусных белков US3 и US11, которые ингибируют передачу сигналов рецепторов RIG-I/MDA5 [96, 97].

Также установлено, что разные флавивирусы, включая вирус Зика и вирус денге, активируют рецепторы TLR3, RIG-I, MDA5, опосредуя дальнейшую сигнализацию путей IFN и формирование противовирусного иммунного ответа [64, 67].

Иммунная сигнализация, опосредованная STING, в значительной степени нарушена в клетках меланомы, рака толстой кишки человека, и, скорее всего, похожая картина будет наблюдаться при других типах рака [98, 99]. Потеря функции STING сделала клетки меланомы более восприимчивыми к ВПГ-1 из-за нарушенных путей IFN типа I и других цитокинов. Такой эффект наблюдался для различных онколитических вирусов на основе ВПГ в клетках меланомы, рака яичников, в мышинной модели аденокарциномы протоков поджелудочной железы и колоректальной карциномы [81, 98–100]. Таким образом, онколитические вирусы являются перспективными кандидатами в современной онкотерапии против раковых заболеваний с нарушенной сигнализацией STING. На основе этого механизма уже проводится тестирование рекомбинантных онколитических вирусов со встроенными агонистами STING, например, STINGPOX на основе вируса осповакцины, а также стратегий комбинированной терапии онколитических вирусов с агонистами STING, например реовирус с агонистом ADU-S100 (MIW815) и ВПГ-1 с агонистом C-REV [101–103].

Заключение

Рецепторы PRRs играют ключевую роль в защите организма хозяина от разных вирусных инфекций. Хотя основной задачей рецепторов PRRs является скорейшая элиминация вируса, внутриопухолевое введение онколитического вируса способно активировать сигнальные пути TLRs/RLRs/cGAS-STING, тем самым превратить иммунологически «холодные» опухоли в «горячие», т.е. инфильтрованные иммунными клетками. Приобретение статуса иммунологически «горячей» опухоли будет способствовать активации Т-клеточного ответа, подавлению опухолевой иммуносупрессии, повышая эффект иммунотерапии. Однако активация противовирусного иммунного ответа будет способствовать элиминации онколитического вируса из организма, что также может повлиять на терапевтический эффект.

Успешное применение онколитического вируса для иммунотерапии злокачественных новообразований требует тщательного изучения механизмов взаимодействия конкретного вируса с иммунной системой пациента, включая характерные для семейства вируса взаимодействия с разными PRRs, систему уклонения вируса от иммунного ответа. С другой стороны, не менее важным является определение фенотипиче-

ских, морфологических и эпигенетических особенностей пула опухолевых клеток пациента, что также поможет предсказать эффект от иммуноопосредованного действия онколитического вируса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kolyasnikova N.M., Pestov N.B., Sanchez-Pimentel J.P., Barlev N.A., Ishmukhametov A.A. Anti-cancer virotherapy in Russia: lessons from the past, current challenges and prospects for the future. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2023; 24(2): 266–78. <https://doi.org/10.2174/1389201023666220516121813>
2. Nazarenko A.S., Vorovitch M.F., Biryukova Y.K., Pestov N.B., Orlova E.A., Barlev N.A., et al. Flaviviruses in antitumor therapy. *Viruses.* 2023; 15(10): 1973. <https://doi.org/10.3390/v15101973>
3. Li D., Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Sig. Transduct. Target. Ther.* 2021; 6(1): 291. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00687-0>
4. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature.* 1997; 388(6640): 394–7. <https://doi.org/10.1038/41131>
5. Fitzgerald K.A., Kagan J.C. Toll-like receptors and the control of immunity. *Cell.* 2020; 180(6): 1044–66. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.041>
6. Behzadi P., Garcia-Perdomo H.A., Karpiński T.M. Toll-like receptors: general molecular and structural biology. *J. Immunol. Res.* 2021; 2021: 9914854. <https://doi.org/10.1155/2021/9914854>
7. Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.* 2010; 11(5): 373–84. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>
8. Xu Y., Tao X., Shen B., Horng T., Medzhitov R., Manley J.L., et al. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature.* 2000; 408(6808): 111–5. <https://doi.org/10.1038/35040600>
9. Suzuki N., Suzuki S., Duncan G.S., Millar D.G., Wada T., Mirtsos C., et al. Severe impairment of interleukin-1 and Toll-like receptor signalling in mice lacking IRAK-4. *Nature.* 2002; 416(6882): 750–4. <https://doi.org/10.1038/nature736>
10. Baccala R., Gonzalez-Quintal R., Lawson B.R., Stern M.E., Kono D.H., Beutler B., et al. Sensors of the innate immune system: their mode of action. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2009; 5(8): 448–56. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2009.136>
11. Brown J., Wang H., Hajishengallis G.N., Martin M. TLR-signaling networks: an integration of adaptor molecules, kinases, and cross-talk. *J. Dent. Res.* 2011; 90(4): 417–27. <https://doi.org/10.1177/0022034510381264>
12. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity.* 2011; 34(5): 637–50. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.006>
13. Bugge M., Bergstrom B., Eide O.K., Solli H., Kjønstad I.F., Stenvik J., et al. Surface Toll-like receptor 3 expression in metastatic intestinal epithelial cells induces inflammatory cytokine production and promotes invasiveness. *J. Biol. Chem.* 2017; 292(37): 15408–25. <https://doi.org/10.1074/jbc.m117.784090>
14. Chen C.Y., Shih Y.C., Hung Y.F., Hsueh Y.P. Beyond defense: regulation of neuronal morphogenesis and brain functions via Toll-like receptors. *J. Biomed. Sci.* 2019; 26(1): 90. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0584-z>
15. Matsumoto M., Oshiumi H., Seya T. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway. *Rev. Med. Virol.* 2011; 21(2): 67–77. <https://doi.org/10.1002/rmv.680>
16. Agier J., Zelechowska P., Kozłowska E., Brzezińska-Błaszczuk E. Expression of surface and intracellular Toll-like receptors by mature mast cells. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2016; (4): 333–8. <https://doi.org/10.5114/ceji.2016.65131>
17. Kolli D., Velayutham T., Casola A. Host-viral interactions: role of pattern recognition receptors (PRRs) in human pneumovirus infections. *Pathogens.* 2013; 2(2): 232–63. <https://doi.org/10.3390/pathogens2020232>
18. Tomai M.A., Vasilakos J.P. Toll-like receptor 7 and 8 agonists for vaccine adjuvant use. In: *Immunopotentiators in Modern Vaccines.* Elsevier; 2017: 149–62.
19. Peng G., Guo Z., Kiniwa Y., Voo K.S., Peng W., Fu T., et al. Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4+ regulatory T cell function. *Science.* 2005; 309(5739): 1380–4. <https://doi.org/10.1126/science.1113401>
20. Cerullo V., Seiler M.P., Mane V., Brunetti-Pierri N., Clarke C., Bertin T.K., et al. Toll-like receptor 9 triggers an innate immune response to helper-dependent adenoviral vectors. *Mol. Ther.* 2007; 15(2): 378–85. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300031>
21. Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S. TLR9 as a key receptor for the recognition of DNA. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60(7): 795–804. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.12.004>
22. Rehwinkel J., Gack M.U. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. *Nat. Rev. Immunol.* 2020; 20(9): 537–51. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0288-3>
23. Ramos H.J., Gale M. RIG-I like receptors and their signaling crosstalk in the regulation of antiviral immunity. *Curr. Opin. Virol.* 2011; 1(3): 167–76. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.04.004>
24. Kowalinski E., Lunardi T., McCarthy A.A., Loubser J., Brunel J., Grigorov B., et al. Structural basis for the activation of innate immune pattern-recognition receptor RIG-I by viral RNA. *Cell.* 2011; 147(2): 423–35. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.039>
25. Luo D. Toward a crystal-clear view of the viral RNA sensing and response by RIG-I-like receptors. *RNA Biol.* 2014; 11(1): 25–32. <https://doi.org/10.4161/rna.27717>
26. Feng Q., Hato S.V., Langereis M.A., Zoll J., Virgen-Slane R., Peisley A., et al. MDA5 detects the double-stranded RNA replicative form in picornavirus-infected cells. *Cell Rep.* 2012; 2(5): 1187–96. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.10.005>
27. Onomoto K., Onoguchi K., Yoneyama M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral factors. *Cell. Mol. Immunol.* 2021; 18(3): 539–55. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00602-7>
28. Gong X.Y., Zhang Q.M., Zhao X., Li Y.L., Qu Z.L., Li Z., et al. LGP2 is essential for zebrafish survival through dual regulation of IFN antiviral response. *iScience.* 2022; 25(8): 104821. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104821>
29. Esser-Nobis K., Hatfield L.D., Gale M. Spatiotemporal dynamics of innate immune signaling via RIG-I-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(27): 15778–88. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921861117>
30. Saito T., Hirai R., Loo Y.M., Owen D., Johnson C.L., Sinha S.C., et al. Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104(2): 582–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606699104>
31. Rothenfusser S., Goutagny N., DiPerna G., Gong M., Monks B.G., Schoenemeyer A., et al. The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene-I. *J. Immunol.* 2005; 175(8): 5260–8. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5260>
32. Quicke K.M., Kim K.Y., Horvath C.M., Suthar M.S. RNA helicase LGP2 negatively regulates RIG-I signaling by preventing TRIM25-mediated caspase activation and recruitment domain ubiquitination. *J. Interferon Cytokine Res.* 2019; 39(11): 669–83. <https://doi.org/10.1089/jir.2019.0059>
33. Yoneyama M., Kikuchi M., Natsukawa T., Shinobu N., Imaizumi T., Miyagishi M., et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat. Immunol.* 2004; 5(7): 730–7. <https://doi.org/10.1038/ni1087>
34. Korneenko T.V., Pestov N.B., Nevzorov I.A., Daks A.A., Trachuk K.N., Solopova O.N., et al. At the crossroads of the cGAS-cGAMP-STING pathway and the DNA damage response: implications for cancer progression and treatment. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023; 16(12): 1675. <https://doi.org/10.3390/ph16121675>
35. De Oliveira Mann C.C., Hornung V. Molecular mechanisms of nonself nucleic acid recognition by the innate immune system. *Eur. J. Immunol.* 2021; 51(8): 1897–910. <https://doi.org/10.1002/eji.202049116>
36. Diner B.A., Li T., Greco T.M., Crow M.S., Fuesler J.A., Wang J., et al. The functional interactome of PYHIN immune regulators reveals IFIX is a sensor of viral DNA. *Mol. Syst. Biol.* 2015; 11(1): 787. <https://doi.org/10.15252/msb.20145808>
37. Unterholzner L., Keating S.E., Baran M., Horan K.A., Jensen S.B., Sharma S., et al. IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat. Immunol.* 2010; 11(11): 997–1004. <https://doi.org/10.1038/ni.1932>
38. Takaoka A., Wang Z., Choi M.K., Yanai H., Negishi H., Ban T., et al. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activa-

- tor of innate immune response. *Nature*. 2007; 448(7152): 501–5. <https://doi.org/10.1038/nature06013>
39. Wu J., Sun L., Chen X., Du F., Shi H., Chen C., et al. Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science*. 2013; 339(6121): 826–30. <https://doi.org/10.1126/science.1229963>
 40. Zhang Z., Yuan B., Bao M., Lu N., Kim T., Liu Y.J. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells. *Nat. Immunol.* 2011; 12(10): 959–65. <https://doi.org/10.1038/ni.2091>
 41. Kondo T., Kobayashi J., Saitoh T., Maruyama K., Ishii K.J., Barber G.N., et al. DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type I interferon by regulating STING trafficking. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(8): 2969–74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222694110>
 42. Ablasser A., Goldeck M., Cavlar T., Deimling T., Witte G., Röhl I., et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING. *Nature*. 2013; 498(7454): 380–4. <https://doi.org/10.1038/nature12306>
 43. Russell L., Peng K.W. The emerging role of oncolytic virus therapy against cancer. *Chin. Clin. Oncol.* 2018; 7(2): 16. <https://doi.org/10.21037/cco.2018.04.04>
 44. Kaufman H.L., Kohlhapp F.J., Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015; 14(9): 642–62. <https://doi.org/10.1038/nrd4663>
 45. Lou E. Oncolytic herpes viruses as a potential mechanism for cancer therapy. *Acta Oncol.* 2003; 42(7): 660–71. <https://doi.org/10.1080/0284186031000518>
 46. Chiocia E.A. Oncolytic viruses: 12. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2(12): 938–50. <https://doi.org/10.1038/nrc948>
 47. Ahmed A., Tait S.W.G. Targeting immunogenic cell death in cancer. *Mol. Oncol.* 2020; 14(12): 2994–3006. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12851>
 48. Ma J., Ramachandran M., Jin C., Quijano-Rubio C., Martikainen M., Yu D., et al. Characterization of virus-mediated immunogenic cancer cell death and the consequences for oncolytic virus-based immunotherapy of cancer. *Cell. Death Dis.* 2020; 11(1): 48. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2236-3>
 49. Gujar S., Pol J.G., Kim Y., Lee P.W., Kroemer G. Antitumor benefits of antiviral immunity: an underappreciated aspect of oncolytic virotherapies. *Trends Immunol.* 2018; 39(3): 209–21. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.11.006>
 50. Kleijn A., Kloezeman J., Treffers-Westerlaken E., Fulci G., Leenstra S., Dirven C., et al. The in vivo therapeutic efficacy of the oncolytic adenovirus Delta24-RGD is mediated by tumor-specific immunity. *PLoS One*. 2014; 9(5): e97495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097495>
 51. Guo Z.S., Liu Z., Bartlett D.L. Oncolytic immunotherapy: dying the right way is a key to eliciting potent antitumor immunity. *Front. Oncol.* 2014; 4: 74. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00074>
 52. Hu Z., Li Y., Yang J., Liu J., Zhou H., Sun C., et al. Improved antitumor effectiveness of oncolytic HSV-1 viruses engineered with IL-15/IL-15R α complex combined with oncolytic HSV-1-aPD1 targets colon cancer. *Sci. Rep.* 2024; 14(1): 23671. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72888-w>
 53. Xu B., Tian L., Chen J., Wang J., Ma R., Dong W., et al. An oncolytic virus expressing a full-length antibody enhances antitumor innate immune response to glioblastoma. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 5908. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26003-6>
 54. Aldrak N., Alsaab S., Algethami A., Bhere D., Wakimoto H., Shah K., et al. Oncolytic herpes simplex virus-based therapies for cancer. *Cells*. 2021; 10(6): 1541. <https://doi.org/10.3390/cells10061541>
 55. Linder A., Bothe V., Linder N., Schwarzmueller P, Dahlström F., Bartenhagen C., et al. Defective interfering genomes and the full-length viral genome trigger RIG-I after infection with vesicular stomatitis virus in a replication dependent manner. *Front. Immunol.* 2021; 12: 595390. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.595390>
 56. Zhang P., Han X., Tan W., Chen D., Sun Q. RIG-I-mediated innate immune signaling in tumors reduces the therapeutic effect of oncolytic vesicular stomatitis virus. *Thorac. Cancer*. 2023; 14(3): 246–53. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14740>
 57. Solmaz G., Puttur F., Francozo M., Lindenberg M., Guderian M., Swallow M., et al. TLR7 controls VSV replication in CD169+ SCS macrophages and associated viral neuroinvasion. *Front. Immunol.* 2019; 10: 466. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00466>
 58. Melchjorsen J., Jensen S.B., Malmgaard L., Rasmussen S.B., Weber F., Bowie A.G., et al. Activation of innate defense against a paramyxovirus is mediated by RIG-I and TLR7 and TLR8 in a cell-type-specific manner. *J. Virol.* 2005; 79(20): 12944–51. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.20.12944-12951.2005>
 59. De Marcken M., Dhaliwal K., Danielsen A.C., Gautron A.S., Dominguez-Villar M. TLR7 and TLR8 activate distinct pathways in monocytes during RNA virus infection. *Sci. Signal.* 2019; 12(605): eaaw1347. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaw1347>
 60. Rangaswamy U.S., Wang W., Cheng X., McTamney P., Carroll D., Jin H. Newcastle disease virus establishes persistent infection in tumor cells in vitro: contribution of the cleavage site of fusion protein and second sialic acid binding site of hemagglutinin-neuraminidase. *J. Virol.* 2017; 91(16): e00770-17. <https://doi.org/10.1128/jvi.00770-17>
 61. Zhang P., Ding Z., Liu X., Chen Y., Li J., Tao Z., et al. Enhanced replication of virulent Newcastle disease virus in chicken macrophages is due to polarized activation of cells by inhibition of TLR7. *Front. Immunol.* 2018; 9: 366. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00366>
 62. Bruni D., Chazal M., Sinigaglia L., Chauveau L., Schwartz O., Després P., et al. Viral entry route determines how human plasmacytoid dendritic cells produce type I interferons. *Sci. Signal.* 2015; 8(366): ra25. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaa1552>
 63. Querec T.D., Akondy R.S., Lee E.K., Cao W., Nakaya H.I., Teuwen D., et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat. Immunol.* 2009; 10(1): 116–25. <https://doi.org/10.1038/ni.1688>
 64. Nasirudeen A.M., Wong H.H., Thien P., Xu S., Lam K.P., Liu D.X. RIG-I, MDA5 and TLR3 synergistically play an important role in restriction of Dengue virus infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(1): e926. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000926>
 65. Ye S., Liang Y., Chang Y., Lai B., Zhong J. Dengue virus replicative-form dsRNA is recognized by RIG-I and MDA5 cooperatively to activate innate immunity. *bioRxiv*. 2024. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2024.10.15.618382>
 66. Sekaran S.D., Ismail A.A., Theragarajan G., Chandramathi S., Rahman S.K.H., Mani R.R., et al. Host immune response against DENV and ZIKV infections. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 975222. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.975222>
 67. Lu A.Y., Gustin A., Newhouse D., Gale M. Jr. Viral protein accumulation of Zika virus variants links with regulation of innate immunity for differential control of viral replication, spread, and response to interferon. *J. Virol.* 2023; 97(5): e01982-22. <https://doi.org/10.1128/jvi.01982-22>
 68. da Silva M.H.M., Moises R.N.C., Alves B.E.B., Pereira H.W.B., de Paiva A.A.P., Morais I.C., et al. Innate immune response in patients with acute Zika virus infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 2019; 208(6): 703–14. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00588-8>
 69. Jiang R., Ye J., Zhu B., Song Y., Chen H., Cao S. Roles of TLR3 and RIG-I in mediating the inflammatory response in mouse microglia following Japanese encephalitis virus infection. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014(1): 787023. <https://doi.org/10.1155/2014/787023>
 70. Nazmi A., Mukherjee S., Kundu K., Dutta K., Mahadevan A., Shankar S.K., et al. TLR7 is a key regulator of innate immunity against Japanese encephalitis virus infection. *Neurobiol. Dis.* 2014; 69: 235–47. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.05.036>
 71. Awais M., Wang K., Lin X., Qian W., Zhang N., Wang C., et al. TLR7 deficiency leads to TLR8 compensative regulation of immune response against JEV in mice. *Front. Immunol.* 2017; 8: 160. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00160>
 72. Welte T., Reagan K., Fang H., Machain-Williams C., Zheng X., Mendell N., et al. Toll-like receptor 7-induced immune response to cutaneous West Nile virus infection. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(Pt. 11): 2660–8. <https://doi.org/10.1099/vir.0.011783-0>
 73. Lim S.M., Koraka P., Osterhaus A.D., Martina B.E. West Nile virus: immunity and pathogenesis. *Viruses*. 2011; 3(6): 811–28. <https://doi.org/10.3390/v3060811>
 74. Oshiumi H., Okamoto M., Fujii K., Kawanishi T., Matsumoto M., Koike S., et al. The TLR3/TICAM-1 pathway is mandatory for innate immune responses to poliovirus infection. *J. Immunol.* 2011; 187(10): 5320–7. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1101503>
 75. Mohanty M.C., Deshpande J.M. Differential induction of Toll-like receptors & type I interferons. *Indian J. Med. Res.* 2013; 138(2): 209–18.

76. An Y., Wang X., Wu X., Chen L., Yang Y., Lin X., et al. Oncolytic reovirus induces ovarian cancer cell apoptosis in a TLR3-dependent manner. *Virus Res.* 2021; 301: 198440. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198440>
77. Rice M., Tili E., Loghmani H., Nuovo G.J. The differential expression of toll like receptors and RIG-I correlates to the severity of infectious diseases. *Ann. Diagn. Pathol.* 2023; 63: 152102. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2022.152102>
78. Dou Y., Yim H.C., Kirkwood C.D., Williams B.R., Sadler A.J. The innate immune receptor MDA 5 limits rotavirus infection but promotes cell death and pancreatic inflammation. *EMBO J.* 2017; 36(18): 2742–57. <https://doi.org/10.15252/embj.201696273>
79. Shekarian T., Sivado E., Jallas A.C., Depil S., Kielbassa J., Janoueix-Lerosey I., et al. Repurposing rotavirus vaccines for intratumoral immunotherapy can overcome resistance to immune checkpoint blockade. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(515): eaat5025. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat5025>
80. Berry N., Suspène R., Caval V., Khalfi P., Beauclair G., Rigaud S., et al. Herpes simplex virus type 1 Infection disturbs the mitochondrial network, leading to type I interferon production through the RNA polymerase III/RIG-I pathway. *mBio.* 2021; 12(6): e0255721. <https://doi.org/10.1128/mbio.02557-21>
81. Zhang N., Guan Y., Li J., Yu J., Yi T. Inactivation of the DNA-sensing pathway facilitates oncolytic herpes simplex virus inhibition of pancreatic ductal adenocarcinoma growth. *Int. Immunopharmacol.* 2023; 124(Pt. B): 110969. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110969>
82. Zyzak J., Mitkiewicz M., Leszczyńska E., Reniewicz P., Moynagh P.N., Siednienko J. HSV-1/TLR9-mediated IFN β and TNF α induction is mal-dependent in macrophages. *J. Innate Immun.* 2020; 12(5): 387–98. <https://doi.org/10.1159/000504542>
83. Cerullo V., Diaconu I., Romano V., Hirvonen M., Ugolini M., Escutenaire S., et al. An oncolytic adenovirus enhanced for toll-like receptor 9 stimulation increases antitumor immune responses and tumor clearance. *Mol. Ther.* 2012; 20(11): 2076–86. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.137>
84. He T., Hao Z., Lin M., Xin Z., Chen Y., Ouyang W., et al. Oncolytic adenovirus promotes vascular normalization and nonclassical tertiary lymphoid structure formation through STING-mediated DC activation. *Oncimmunology.* 2022; 11(1): 2093054. <https://doi.org/10.1080/2162402x.2022.2093054>
85. Matveeva O.V., Chumakov P.M. Defects in interferon pathways as potential biomarkers of sensitivity to oncolytic viruses. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(6): e2008. <https://doi.org/10.1002/rmv.2008>
86. Kulaeva O.I., Draghici S., Tang L., Kraniac J.M., Land S.J., Tain-sky M.A. Epigenetic silencing of multiple interferon pathway genes after cellular immortalization. *Oncogene.* 2003; 22(26): 4118–27. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206594>
87. Cairns P., Tokino K., Eby Y., Sidransky D. Homozygous deletions of 9p21 in primary human bladder T1mors detected by comparative multiplex polymerase chain reaction. *Cancer Res.* 1994; 54(6): 1422–4.
88. Diaz M.O., Ziemn S., Le Beau M.M., Pitha P., Smith S.D., Chilcote R.R., et al. Homozygous deletion of the alpha- and beta 1-interferon genes in human leukemia and derived cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988; 85(14): 5259–63. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5259>
89. Olopade O.I., Jenkins R.B., Ransom D.T., Malik K., Pomykala H., Nobori T., et al. Molecular analysis of deletions of the short arm of chromosome 9 in human gliomas. *Cancer Res.* 1992; 52(9): 2523–9.
90. Fernandez-Garcia M.D., Meertens L., Chazal M., Hafirassou M.L., Dejarnac O., Zamborlini A., et al. Vaccine and wild-type strains of yellow fever virus engage distinct entry mechanisms and differentially stimulate antiviral immune responses. *mBio.* 2016; 7(1): e01956-15. <https://doi.org/10.1128/mbio.01956-15>
91. Felt S.A., Grdzlishvili V.Z. Recent advances in vesicular stomatitis virus-based oncolytic virotherapy): a 5-year update. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(12): 2895–911. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000980>
92. Petersen J.M., Her L.S., Varvel V., Lund E., Dahlberg J.E. The matrix protein of vesicular stomatitis virus inhibits nucleocytoplasmic transport when it is in the nucleus and associated with nuclear pore complexes. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20(22): 8590–601. <https://doi.org/10.1128/mcb.20.22.8590-8601.2000>
93. Day G.L., Bryan M.L., Northrup S.A., Lyles D.S., Westcott M.M., Stewart J.H.4th. Immune effects of M51R vesicular stomatitis virus treatment of carcinomatosis from colon cancer. *J. Surg. Res.* 2020; 245: 127–35. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.07.032>
94. Seegers S.L., Frasier C., Greene S., Nesmelova I.V., Grdzlishvili V.Z. Experimental evolution generates novel oncolytic vesicular stomatitis viruses with improved replication in virus-resistant pancreatic cancer cells. *J. Virol.* 2020; 94(3): e01643-19. <https://doi.org/10.1128/jvi.01643-19>
95. Andbacka R.H.I., Kaufman H.L., Collichio F., Amatruda T., Senzer N., Chesney J., et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33(25): 2780–8. <https://doi.org/10.1200/jco.2014.58.3377>
96. van Gent M., Chiang J.J., Muppala S., Chiang C., Azab W., Kattenhorn L., et al. The US3 kinase of herpes simplex virus phosphorylates the RNA sensor RIG-I to suppress innate immunity. *J. Virol.* 2022; 96(4): e01510-21. <https://doi.org/10.1128/jvi.01510-21>
97. Xing J., Wang S., Lin R., Mossman K.L., Zheng C. Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 downmodulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3528–40. <https://doi.org/10.1128/jvi.06713-11>
98. Xia T., Konno H., Ahn J., Barber G.N. Deregulation of STING signaling in colorectal carcinoma constrains DNA damage responses and correlates with tumorigenesis. *Cell Rep.* 2016; 14(2): 282–97. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.029>
99. Xia T., Konno H., Barber G.N. Recurrent loss of STING signaling in melanoma correlates with susceptibility to viral oncolysis. *Cancer Res.* 2016; 76(22): 6747–59. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-1404>
100. de Queiroz N.M.G.P., Xia T., Konno H., Barber G.N. Ovarian cancer cells commonly exhibit defective STING signaling which affects sensitivity to viral oncolysis. *Mol. Cancer Res.* 2019; 17(4): 974–86. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-18-0504>
101. Whelan J.T., Singaravelu R., Wang F., Pelin A., Tammung L.A., Pugliese G., et al. CRISPR-mediated rapid arming of poxvirus vectors enables facile generation of the novel immunotherapeutic STINGPOX. *Front. Immunol.* 2023; 13: 1050250. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1050250>
102. Sugimura N., Kubota E., Mori Y., Aoyama M., Tanaka M., Shimura T., et al. Reovirus combined with a STING agonist enhances anti-tumor immunity in a mouse model of colorectal cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2023; 72(11): 3593–608. <https://doi.org/10.1007/s00262-023-03509-0>
103. Sibal P.A., Matsumura S., Ichinose T., Bustos-Villalobos I., Morimoto D., Eissa I.R., et al. STING activator 2'3'-cGAMP enhanced HSV-1-based oncolytic viral therapy. *Mol. Oncol.* 2024; 18(5): 1259–77. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13603>

Информация об авторах:

Трачук Кирилл Николаевич ✉ – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: trachuk_kn@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2061-0274>

Пестов Николай Борисович – канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9973-0120>

Бирюкова Юлия Константиновна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5804-4001>

Колясникова Надежда Михайловна – д-р мед. наук, заведующая лабораторией клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9934-2582>

Участие авторов: Трачук К.Н. – поиск информации, подготовка текста, создание рисунков; Пестов Н.Б. – концепция, обработка текста; Бирюкова Ю.К. – концепция, обработка текста; Колясникова Н.М. – научное редактирование статьи.

Поступила 16.10.2024
Принята в печать 04.12.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Kirill N. Trachuk✉ – P.G. student, Junior researcher of the Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: trachuk_kn@chumakovs.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2061-0274>

Nikolai B. Pestov – Ph. D., Senior Researcher of the Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9973-0120>

Yulia K. Biryukova – Ph. D., Researcher of the Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5804-4001>

Nadezhda M. Kolyasnikova – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9934-2582>

Contribution: Trachuk K.N. – information search, text preparation, illustrations creation; Pestov N.B. – concept, text processing; Biryukova Yu.K. – concept, text processing; Kolyasnikova N.M. – editing and reviewing the manuscript.

Received 16 October 2024
Accepted 04 December 2024
Published 26 December 2024

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259>

© НАГИЕВА Ф.Г., БАРКОВА Е.П., ХАРЧЕНКО О.С., СИДОРОВ А.В., АЛАТОРЦЕВА Г.И., ЧЕРЕПОВИЧ Б.С., ТАРАКАНОВА Ю.Н., ТРУБАЧЕВА О.А., ПАШКОВ Е.А., РТИЩЕВ А.А., СВИТИЧ О.А., ЗВЕРЕВ В.В., 2024

Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-Zoster (Varicellovirus humanalpha3)*

Нагиева Ф.Г.^{1✉}, Баркова Е.П.¹, Харченко О.С.¹, Сидоров А.В.¹, Алаторцева Г.И.¹, Черепович Б.С.¹, Тараканова Ю.Н.¹, Трубачева О.А.¹, Пашков Е.А.^{1,2}, Ртищев А.А.¹, Свитич О.А.^{1,2}, Зверев В.В.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, г. Москва, Россия; ²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Вирус ветряной оспы (ВО) и опоясывающего герпеса (*Varicella-Zoster virus*, VZV) – высококонтагиозный альфа-герпесвирус. Диагностика ВО остается сложной задачей, особенно в случаях ВО-прорыва, из-за трудностей диагностики на основе клинических симптомов, что обуславливает необходимость разработки надежных лабораторных тестов.

Цель. Разработка простого высокочувствительного и специфичного серологического теста для выявления антител к VZV в сыворотках крови человека и животных с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Материалы и методы. Культуры клеток человека и животных; штаммы VZV; иммунные сыворотки человека и животных; моноклональные антитела к VZV. В РПГА использовали формализованные эритроциты баранов, кур и коз, сенсibilизированные вирусоспецифическими гликопротеинами (ГП) VZV из вирусосодержащей жидкости.

Результаты. Подобраны клеточные культуры с максимальным цитопатическим эффектом при заражении VZV. Разработан простой оригинальный метод получения вирусоспецифических ГП VZV с помощью лектинов. Очищенные ГП получены с помощью их элюирования при температуре 37 °С с бараньих эритроцитов после адсорбции при 4 °С. Активность ГП VZV подтверждена в РПГА на антительном диагностикуме, изготовленном путем сенсibilизации формализованных бараньих эритроцитов моноклональными антителами к ГП Е штамма «vOка» VZV (США). С применением ГП разных штаммов VZV разработаны тест-системы для выявления антител в иммунных сыворотках человека и животных методами РПГА и иммуноферментного анализа на основе ГП (гРИФА). Показаны высокая чувствительность, специфичность и отсутствие перекрестной реактивности этих тестов.

Заключение. Отобраны клеточные культуры с максимальным цитопатическим эффектом при заражении VZV. Разработан способ получения ГП из инфицированных клеток. С использованием очищенных вирусных ГП разработаны серологические тест-системы для выявления поствакцинальных и постинфекционных антител в иммунных сыворотках методами РПГА и гРИФА. Показаны высокая специфичность, чувствительность, воспроизводимость, а также простота их применения.

Ключевые слова: вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса; вирусоспецифический ГП; формализованные бараньи эритроциты; антигенные и антительные диагностикумы; реакция пассивной гемагглютинации; иммуноферментный анализ; перекрестная реактивность

Для цитирования: Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Харченко О.С., Сидоров А.В., Алаторцева Г.И., Черепович Б.С., Тараканова Ю.Н., Трубачева О.А., Пашков Е.А., Ртищев А.А., Свитич О.А., Зверев В.В. Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-zoster (Varicellovirus humanalpha3)*. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 489–499. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259> EDN: <https://elibrary.ru/ykzhop>

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.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (Протокол № 8 от 13.08.2024).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259>

A simple, highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus humanalpha3*)

Firaya G. Nagieva¹✉, Elena P. Barkova¹, Olga S. Kharchenko¹, Alexander V. Sidorov¹, Galina I. Alatorseva¹, Bogdan S. Cherepovich¹, Yulia N. Tarakanova¹, Olga A. Trubacheva¹, Evgeny A. Pashkov^{1,2}, Artem A. Rtishchev¹, Oksana A. Svitich^{1,2}, Vitaly V. Zverev^{1,2}

¹I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119048, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Varicella-Zoster virus (VZV) is a highly contagious alpha-herpes virus. The diagnosis of chickenpox remains a difficult task especially in cases of breakthrough chickenpox, so the development of reliable laboratory tests is necessary. The simplest and most sensitive serological test for detecting antibodies in human and animal sera is the passive hemagglutination reaction (PHAR).

The aim. To develop of a simple, highly sensitive and specific serological tests for the detection of antibodies to VZV in human and animal blood sera.

Materials and methods. Human and animal cell cultures; various strains of VZV; human and animal immune sera; monoclonal antibody to VZV glycoprotein (GP) E. Formalin-treated erythrocytes of sheep, chickens and goats, sensibilised with GP of VZV from a virus-containing supernatant were used for PHAR.

Results. Cell cultures with the maximum cytopathic effect at VZV infection were selected. A simple original method for obtaining virus-specific VZV GPs using lectins has been developed. Purified GPs were obtained by their elution from sheep erythrocytes after adsorption. The activity of VZV GP was confirmed in PHAR by an antibody diagnostic assay using formalin-treated sheep erythrocytes sensibilised using monoclonal antibodies to GP E of the "vOka" VZV strain (USA). Using GPs from different VZV strains, PHAR test and GP-based enzyme-linked immunosorbent assay (gpELISA) have been developed to detect antibodies in human and animal immune sera. These tests have high sensitivity, specificity and lack of cross-reactivity.

Conclusion. A highly specific, sensitive and reproducible tests for the detection of antibodies to VZV have been developed.

Keywords: *Varicella-Zoster and Herpes zoster virus; virus-specific glycoprotein; phytohemagglutinin; formalin-treated sheep erythrocytes; antigenic and antibody diagnostic assays; passive hemagglutination reaction; enzyme immunoassay; cross-reactivity*

For citation: Nagieva F.G., Barkova E.P., Kharchenko O.S., Sidorov A.V., Alatorseva G.I., Cherepovich B.S., Tarakanova Yu.N., Trubacheva O.A., Pashkov E.A., Rtischev A.A., Svitich O.A., Zverev V.V. A simple highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus human-alpha3*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 489–499. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259> EDN: <https://elibrary.ru/ykzhop>

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

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

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 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Protocol No. 8 dated 13.08.2024).

Введение

Вирус ветряной оспы (ВО) и опоясывающего герпеса (*Varicella-Zoster virus*, VZV) представляет собой высококонтагиозный альфа-герпесвирус, которым инфицировано более 90% людей в мире [1, 2].

Согласно отчету, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2014 г., ежегодно ВО заболевают не менее 140 млн человек, из которых 4,2 млн имеют тяжелые осложнения, приводящие к госпитализации и смерти [3]. Для ВО в основном характерны легкая и средняя степени тяжести заболевания,

однако существует большой риск развития тяжелой формы ВО у беременных женщин, новорожденных, VZV-серонегативных взрослых и лиц с ослабленным иммунитетом [4]. Около 1/3 переболевших ВО заболевают в возрасте преимущественно старше 50 лет опоясывающим герпесом, обычно сопровождающимся постгерпетической невралгией [5, 6].

В эпоху всеобщей вакцинации против ВО диагностика этого заболевания на основе клинических симптомов является сложной задачей, особенно для участвовавших в последнее время случаев ВО-прорыва.

Проблема точной диагностики ВО в таких случаях может быть решена с помощью надежных лабораторных тестов [7]. В последние десятилетия для вспомогательной диагностики VZV-инфекции были созданы разнообразные серологические методы выявления специфических антител, которые нашли свое применение в эпидемиологических исследованиях, при изучении эффективности вакцин, а также при оценке риска заболевания у медицинских работников [8]. Из них наиболее высокой чувствительностью обладают коммерчески недоступные во многих странах метод флуоресцирующих антител к мембранному антигену VZV (Fluorescent antibody to membrane antigen assay, FAMA) и иммуноферментный анализ (ИФА) на основе гликопротеинов (ГП) VZV (gpИФА) [9]. Мажорным и иммунодоминантным вирусным белком в вирионах VZV и в инфицированных клетках является ГП Е (gpЕ), необходимый для репликации вируса и передачи его от клетки к клетке [10–12]. Учитывая клеточно-ассоциированную природу VZV, тест FAMA считают более надежным средством оценки защитного иммунитета по сравнению с реакцией нейтрализации (РН) [13].

Оценка антительного ответа к четырехкомпонентной вакцине – корь, эпидемический паротит, краснуха и ВО (MMRV) – играет жизненно важную роль в ведении пациентов. До недавнего времени большинство клинических лабораторий использовали для обнаружения антител IgG к антигенам MMRV тесты в формате ИФА. Однако Консультативный комитет по практике иммунизации (ACIP) и Центр по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) не рекомендуют их использовать для оценки уровня вакциноиндуцированного иммунитета против ВО из-за низкой чувствительности [14, 15]. Для клинических лабораторий, выполняющих большой объем исследований, недавно была внедрена более надежная, быстрая и чувствительная по сравнению с ИФА технология высокопроизводительной мультиплексной автоматизации для обнаружения антител против антигенов MMRV (BioPlex 2200, Bio-Rad), позволяющая одновременно обнаруживать IgG-антитела в сыворотке крови ко всем 4 вирусам в одной реакции [16].

Другим наиболее простым и высокочувствительным тестом для выявления антител в сыворотках человека и животных является реакция пассивной гемагглютинации (РПГА). С помощью этого теста определяют антитела к вирусам кори, краснухи, ящура, аденовирусу, цитомегаловирусу (ЦМВ), к вирусу иммунодефицита человека и др. [17–19].

Цель работы – разработка РПГА на основе формализованных эритроцитов, сенсibilизированных ГП VZV.

Материалы и методы

Культуры клеток. Клеточные культуры: MRC-5 – штамм диплоидных клеток легких эмбриона человека (Американская коллекция клеточных культур, ATCC); KM-27 – кожно-мышечная ткань эмбриона человека (коллекция ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова

РАН», Москва, Россия), Vero-CCL-81 – линия перевиваемых клеток почки зеленой марьшишки (ATCC); Vero-E6 – клон линии клеток Vero (коллекция ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»); A₅₄₉ – линия перевиваемых клеток карциномы человека (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия); ПТП – тестикулы поросенка (коллекция ВНИИВиМ, Покров, Владимирская обл., Россия); два типа мезенхимальных стволовых клеток из коллекции культуры клеток ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Культуры клеток выращивали в питательной среде DMEM/F-12 с 10 мМ NEPEPES, с добавлением 5% или 10% сыворотки крупного рогатого скота (ООО НПФ «БИОХИМСЕРВИС», Владимир, Россия).

Вирусы. Вакцинные штаммы вируса ВО «vFiraVax», вируса опоясывающего герпеса «vZelVax» (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова); японский штамм вируса ВО «vOka» (коллекция CCL, США); лабораторный штамм вируса ВО «Ellen» (коллекция CCL); дикие варианты вируса ВО, изолированные во время вспышки в закрытом коллективе (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова). Вирусы выращивали в культурах клеток в среде DMEM с повышенным содержанием глюкозы, без сыворотки.

Иммунные сыворотки и моноклональные антитела (МКА). Сыворотки крови человека к вирусу опоясывающего герпеса, взятые в период реактивации постгерпетической невралгии: Zel.-1 и Nik.-2; сыворотки крови от переболевших ВО пациентов ($n = 25$); иммунная сыворотка морской свинки к антигенам штамма AD₁₆₉ ЦМВ. Из сывороток удаляли термолабильные и термостабильные ингибиторы препаратом RDE (receptor dectroing enzyme, Denka Seiken, Япония) по инструкции производителя. МКА к gE вируса ВО – Varicella Mab (Potency, ID, Lot: PR 101022c, США). МКА к ГП gpV и gpD вирусов герпеса простого 1-го и 2-го типов, соответственно.

Реакция нейтрализации. РН проводили на клеточной культуре Vero-CCL-81, выращенной на 24-луночных планшетах (Costar) в ростовой питательной среде DMEM с 10% СКК. Приготовлены двукратные разведения иммунных вирусоспецифических сывороток морских свинок к вакцинным штаммам ВО – «vFiraVaX» и опоясывающему герпесу – «vZelVax». В каждое разведение иммунных сывороток в объеме 0,1 мл вносили равный объем 1000 доз ГАДЕ 50/0,1 мл вируса, смесь интенсивно перемешивали и оставляли на контакт на 1,5 ч при 36,5 °С в CO₂-инкубаторе, перемешивая каждые 15 мин. В 24-луночные планшеты с монослоем клеток и с предварительно удаленной ростовой средой вносили в каждые две лунки по 0,2 мл смеси вируса с сывороткой и оставляли на контакт на 1,5 ч в инкубаторе. Затем в лунки вносили по 0,8 мл поддерживающей среды DMEM без сыворотки. На планшете две лунки оставляли для контроля дозы вируса и контроля клеток, культивирование продолжали в течение 7 сут. Результат РН учитывали при 100% защите клеток.

Получение формализованных эритроцитов. Для получения формализованных бараньих, ку-

риных и козых эритроцитов кровь собирали в раствор Альсевера. Эритроциты отмывали трижды охлажденным физиологическим раствором (ФР) путем осаждения центрифугированием в течение 20 мин при 1500 об/мин. К отмываемым эритроцитам добавляли 2% раствор формалина в 10-кратном объеме ФР, содержащем 0,5% глюкозы, рН раствора доводили 1 М NaOH до 7,0–7,2. Формализованные эритроциты выдерживали при комнатной температуре 3–4 сут до полного оседания эритроцитов, надосадов удаляли, к осадку добавляли равный объем ФР и хранили при температуре 2–8 °С. Перед сенсibilизацией формализованные эритроциты проверяли на спонтанную агглютинацию.

Приготовление вирусоспецифических ГП. В культуральных флаконах площадью 175 см² выращивали клетки, чувствительные к VZV, заражали вирусосодержащей жидкостью (ВСЖ) и культивировали в течение 7–8 сут до 70–90% разрушения инфицированных клеток. Флаконы выдерживали сутки и более при –70 °С, затем их содержимое размораживали, клеточный дебрис удаляли центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин, в надосадочную жидкость вносили сахарозно-желатиновый стабилизатор и оставляли при –70 °С для хранения до сенсibilизации эритроцитов. Для извлечения вирусных ГП из ВСЖ к ней добавляли фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 25 мкг/мл и по 50% взвесей формализованных бараньих, куриных или козых эритроцитов в соотношении 10 : 1 по объему и оставляли при температуре 4 °С на 20 ч с периодическим встряхиванием для связывания вирусных ГП с ФГА на поверхности эритроцитов. Взвеси центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 мин, к осадкам нагруженных вирусными ГП формализованных эритроцитов добавляли ФР. Элюирование вирусных ГП с поверхности формализованных эритроцитов проводили в течение 1 ч при температуре 37 °С. Эритроциты удаляли из взвеси центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин. В полученный раствор вирусного ГП в качестве стабилизатора добавляли бычий сывороточный альбумин (БСА) до концентрации 1%. Концентрацию белков определяли на приборе NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США).

Получение антигенных диагностикумов на основе вирусных ГП. Формализованные эритроциты сенсibilизировали вирусоспецифическими ГП, полученными из разных типов клеток, инфицированных штаммами VZV. Для этого эритроциты ресуспендировали в 10-кратном объеме охлажденного ФР, осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин и готовили 50% взвесь эритроцитов в ФР. Далее в центрифужных пробирках соединяли 1 объем бидистиллированной воды с 0,1 объема 50% взвеси эритроцитов, с 0,1 объема раствора вирусных ГП и с 0,1 объема 0,33% хлористого хрома (CrCl₃). Пробирки помещали в водяную баню на 1 ч при температуре 42 °С, затем добавляли равный объем ФР, перемешивали и осаждали сенсibilизированные эритроциты центрифугированием

при 1500 об/мин в течение 5 мин. Осадок сенсibilизированных эритроцитов ресуспендировали в ФР, содержащим 1% БСА, отмывали дважды ФР с 1% БСА и готовили 2,5% взвесь сенсibilизированных формализованных эритроцитов в этом же растворе для использования в РПГА.

Получение антительных диагностикумов на основе МКА к VZV. К 0,1 мл взвеси 50% формализованных эритроцитов, предварительно отмывтых 3 раза ФР, добавляли 0,1 мл ФР, 0,1 мл МКА к grE (США) с концентрацией 318 мкг/0,1мл. Смесь перемешивали и вносили 0,3 мл 0,33% раствора хлорида хрома и 10 мкл 0,05 М NaOH. Смесь инкубировали в водяной бане в течение 1 ч при 42 °С, затем трижды отмывали ФР и готовили 2% антительный диагностикум в ФР.

РПГА для обнаружения антител к VZV в сыворотках животных и человека. Реакцию проводили микрометодом в объеме 150 мкл на V-образных планшетах. В каждую лунку планшета вносили по 50 мкл ФР, содержащего 1% нормальной кроличьей сыворотки, прогретой на водяной бане при 65 °С в течение 30 мин, по 50 мкл испытуемой сыворотки в разведениях от 1 : 100 до 1 : 12 400, и по 50 мкл сенсibilизированного антигенного диагностикума. В 4 свободные лунки по отдельности вносили по 50 мкл формализованных эритроцитов и по 50 мкл антигенного диагностикума для контроля на отсутствие спонтанной агглютинации. Планшет оставляли при температуре 4 °С до полного оседания контрольных эритроцитов и антигенного диагностикума и затем учитывали реакцию. При наличии в исследуемом материале специфических к вирусному антигену антител происходило фиксирование эритроцитов на дне и стенках лунки в виде зонтика гемагглютинации. При отрицательной реакции эритроциты оседали на дно лунки в виде пуговки.

РПГА для определения активности grE VZV. В лунки V-образного планшета вносили по 25 или 50 мкл 1% нормальной кроличьей сыворотки, затем добавляли по 25 или 50 мкл 2% антительного диагностикума. Свободные лунки использовали отдельно для контроля на спонтанную агглютинацию диагностикума и контроля формализованных бараньих эритроцитов. Планшет выдерживали 1,0–1,5 ч при температуре 4 °С до оседания эритроцитов в контрольных лунках и учитывали реакцию.

Иммуноферментный анализ. ИФА проводили общепринятым методом. На первом этапе вносили раствор антигена по 50 мкл в лунку, выдерживали ночь при температуре 4 °С, затем лунки планшета блокировали казеиново-сахарозным раствором 90 мин и высушивали планшеты 2 ч в термостате при температуре 37 °С с открытой дверцей. Для проведения ИФА в лунку вносили по 50 мкл разведений образцов сывороток крови человека, мыши или морской свинки в фосфатно-солевом буфере с твином (ФСБ-Т) с двукратным шагом, начиная с разведения 1 : 100, инкубировали 90 мин при температуре 37 °С; планшет промывали 3 раза ФСБ-Т; вносили по 50 мкл конъюгатов анти-Human IgG в рабочем разведении 1 : 5000, анти-мышь IgG Bio-Rad в рабочем

разведении 1 : 2000; анти-свинка IgG в рабочем разведении 1 : 5000 в ФСБ-Т + 1% БСА, инкубировали планшеты 60 мин при температуре 37 °С; планшет промывали 3 раза ФСБ-Т; вносили раствор тетраметилбензидаина, инкубировали 15 мин в темном месте; реакцию останавливали серной кислотой, результаты регистрировали на спектрофотометре при длине волн 450 нм (длина волны сравнения 630 нм).

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (Протокол № 8 от 13.08.2024).

Статистические методы. Для статистической обработки результатов использовали пакеты программ Excel 2013 (Microsoft, США). Сравнение количественных значений полученных выборок проводили с помощью непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни.

Результаты

На первом этапе разработки серологического теста РПГА были выбраны культуры клеток, при заражении которых VZV определялся максимальный цитопатический эффект (ЦПЭ), а именно – клетки KM-27, A₅₄₉ и ПТП, при инфицировании которых разными штаммами VZV на 7–8-е сутки наблюдалась 70–90% деструкция клеток.

Далее устанавливали адсорбирующую способность формализованных эритроцитов животных, являющихся носителем главных компонентов в РПГА. Были выбраны три вида эритроцитов: баранов, кур и коз.

Известно, что лектины специфически связывают ГП вирусов [20, 21]. Для выделения вирусоспецифи-

ческих ГП из ВСЖ были использованы два лектина – конкавалин А (КонА) и ФГА. В РПГА использовали сыворотку крови морской свинки, иммунизированной вакцинным штаммом «vZelVax» VZV. Титр иммунной сыворотки морской свинки в РН на чувствительных к VZV клетках KM-27 составил 1 : 6400 ГАДЕ50/0,2.

На **рис. 1** представлены результаты определения концентрации лектинов КонА и ФГА, необходимых для эффективного связывания вирусных ГП из ВСЖ для последующей сенсibilизации формализованных куриных эритроцитов. Оптимальная концентрация КонА и ФГА составила 25 мкг/мл ($p \leq 0,05$). При более высоких концентрациях титры сывороток в РПГА снижались в 4 раза.

На **рис. 2** представлены результаты титрования в РПГА иммунных сывороток человека и морской свинки с антигенными диагностикумами, сенсibilизированными вирусными гликопротеинами, полученными с помощью ФГА, КонА и смеси лектинов.

Представленные результаты четко демонстрируют, что на формализованных бараньих эритроцитах, сенсibilизированных полученным с помощью ФГА вирусным ГП, в РПГА выявляются вирусоспецифические антитела в сыворотках человека и животных, при этом в сыворотках животных в несколько сниженных титрах.

В РПГА с применением формализованных бараньих эритроцитов, сенсibilизованных вирусными ГП, полученными с помощью КонА, вирусоспецифические антитела в человеческих сыворотках не обнаруживаются. Использование смеси двух лектинов в равных концентрациях для получения вирусных ГП из той же ВСЖ снижает уровень титров антител в РПГА.

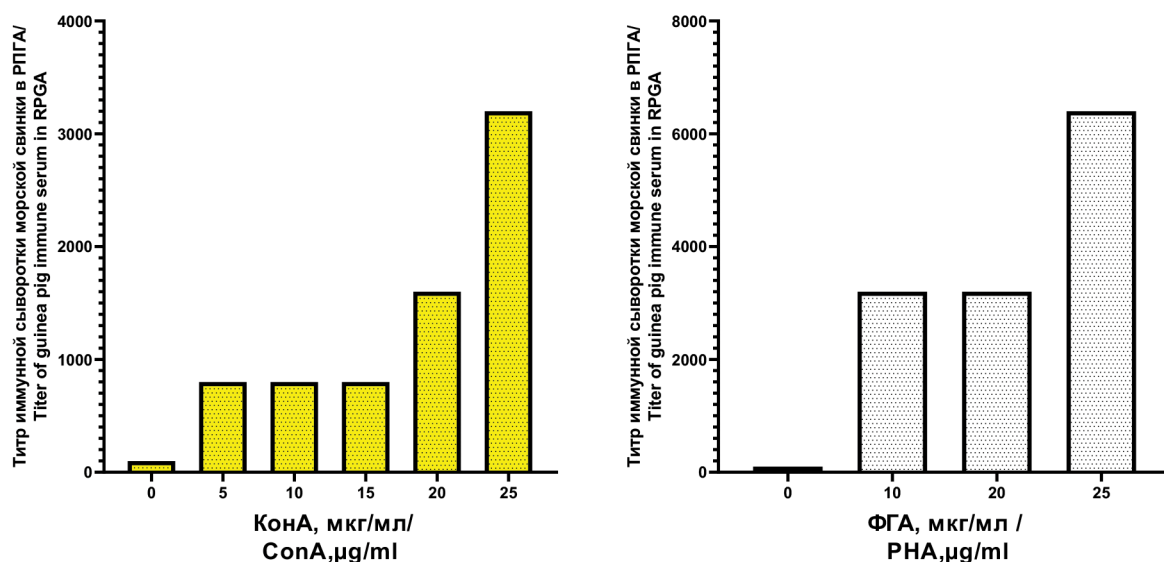


Рис. 1. Определение оптимальной концентрации КонА и ФГА для связывания вирусоспецифических ГП VZV из вирусосодержащей жидкости.

Fig. 1. Determination of the optimal concentration of ConA and PHA for binding virus-specific glycoproteins of VZV from virus-containing liquid.

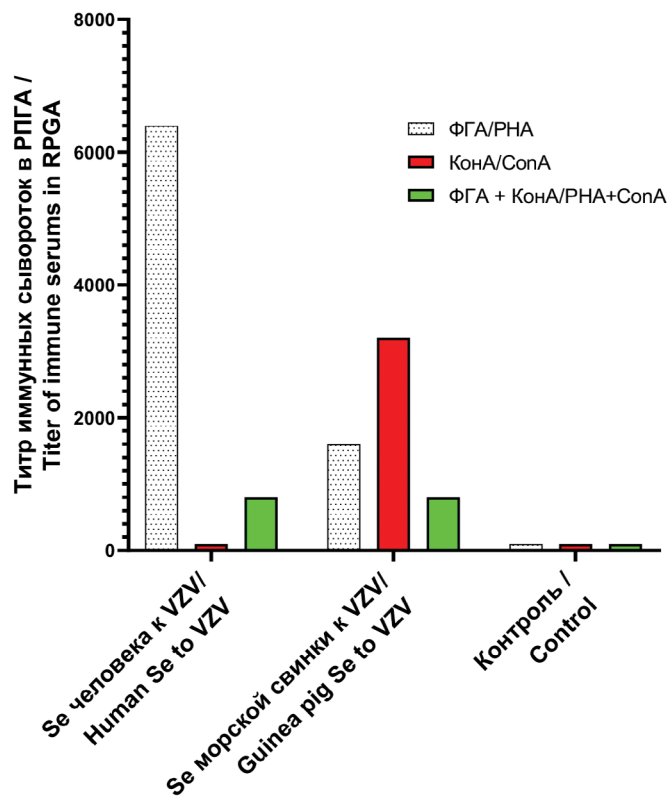


Рис. 2. Титр иммунных сывороток в gpRPGA с антигенными диагностикумами на формализованных бараньих эритроцитах, сенсibilизированных вирусными ГП, полученными с различными лектинами.

Fig. 2. Titer of immune sera in gpRPGA with antigenic diagnostics on formalized sheep erythrocytes, sensitized with viral glycoproteins obtained with various lectins.

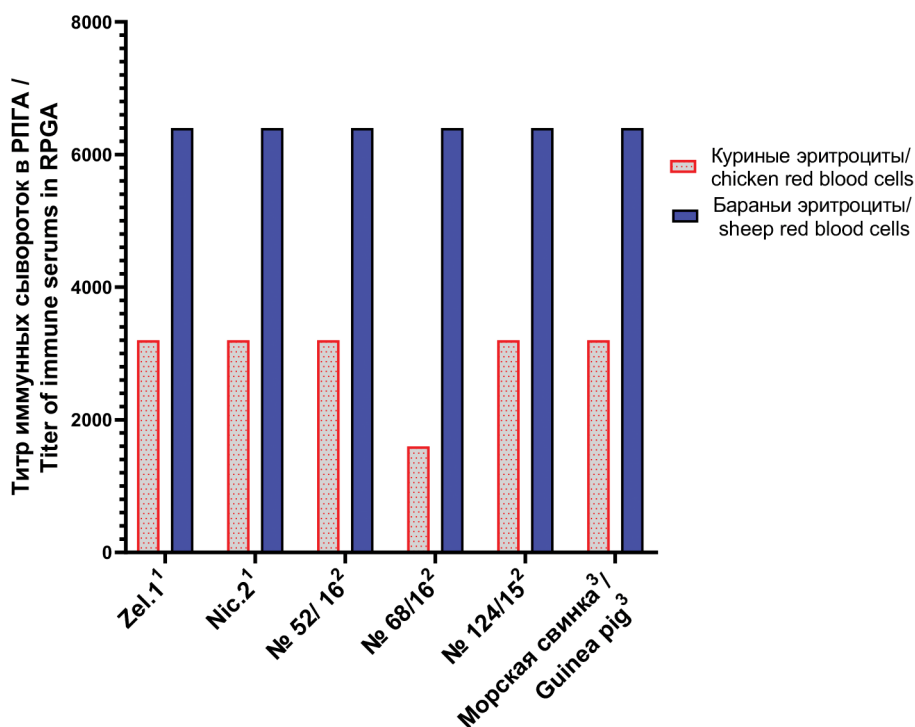


Рис. 3. Сравнительное титрование иммунных сывороток человека и морской свинки в gpRPGA с применением сенсibilизированных ГП VZV формализованных куриных и бараньих эритроцитов,

1 – сыворотка крови больного опоясывающим герпесом, полученная в период реактивации; 2 – сыворотка крови детей, переболевших ветряной оспой; 3 – сыворотка крови морской свинки, иммунизированной вакцинным штаммом «vZelVax» VZV.

Fig. 3. Comparative titration of human and guinea pig immune sera in gpRPGA using sensitized by GP VZV formalized chicken and lamb erythrocytes.

1 – serum of patient with herpes zoster; 2 – blood serum of children with chickenpox; 3 – blood serum of a guinea pig immunized with the «vZelVax» VZV vaccine strain.

Далее представлены результаты экспериментов с очищенными ГП, элюированными с формализованных бараньих эритроцитах. Титры очищенных вирусных ГП были определены в РПГА с помощью антигенодиагностикума, приготовленного на бараньих эритроцитах, сенсibilизированных МКА к grE VZV (США). Концентрации вирусных ГП, полученных при заражении клеточных культур A₅₄₉, KM-27, Vero-E6 и ПТП вирусными штаммами «vZelVax», «vFiraVax», «vOka», «Ellen», диким вирусом VZV (Москва), находились в диапазоне от 0,206 до 0,381 мг/мл, медиана титра для полученных ГП в РПГА составила 1 : 8.

Для оптимизации условий grRPGA определяли способность формализованных бараньих, куриных и козьих эритроцитов адсорбировать вирусные ГП. Сенсibilизированные ГП VZV эритроциты были использованы в grRPGA для титрования сыворотки крови морских свинок, инфицированных штаммом «vZelVax» VZV. Результаты показали, что бараньи эритроциты обладают более высокой сорбирующей способностью (титр в grRPGA 1 : 3200, скорость седиментации 1,0–1,5 ч) в отличие от куриных (титр в grRPGA 1 : 800, скорость седиментации 20 мин) и особенно от козьих (скорость седиментации 1,0–1,5 ч) эритроцитов. Эти данные согласуются с результатами других исследователей, полученных для иных вирусных и бактериальных агентов [22, 23].

На рис. 3 представлены результаты титрования в grRPGA сывороток крови лиц, переболевших опоясывающим герпесом и ВО, а также сыворотки крови иммунизированных штаммом «vZelVax» VZV морских свинок, с применением формализованных

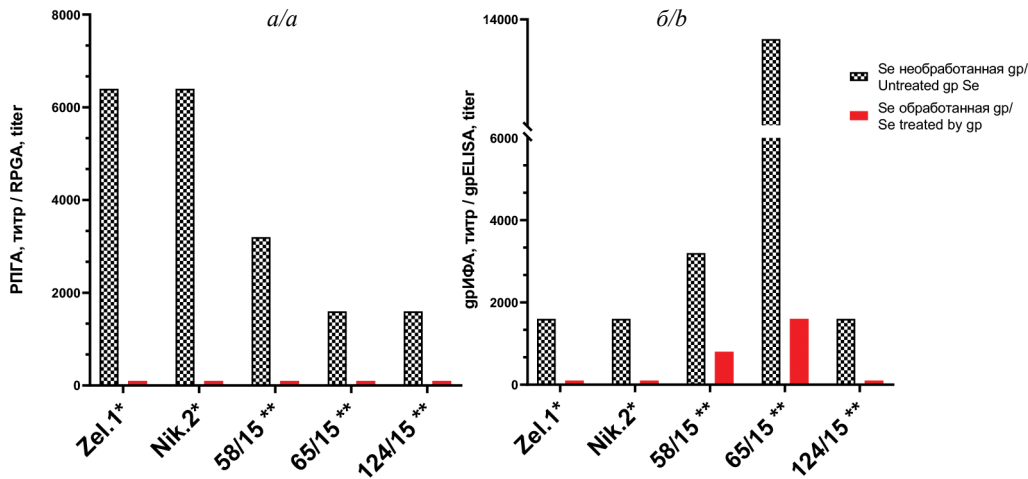


Рис. 4. Исследование специфичности серологических тестов gpРРГА (а) и gpИФА (б).

* – из сывороток предварительно удалены термолабильные и термостабильные ингибиторы серологических реакций; ** – из сывороток предварительно не удалены ингибиторы серологических реакций.

Fig. 4. Study on the specificity of immune sera in serological tests gpRPGA (a) and gpELISA (b).

* – termolabile and thermostable ingibitors of serological reactions have been preliminary removed from serums; ** – serological reactions have not been preliminary removed from serums.

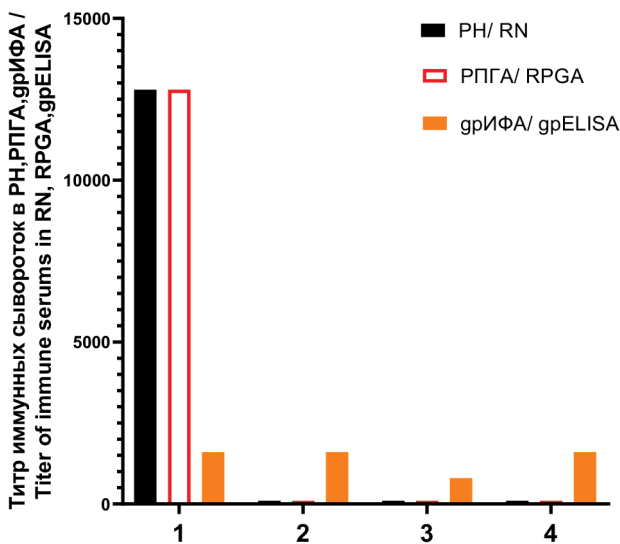


Рис. 5. Сравнительное титрование иммунных сывороток в РН (титр в ГАДЕ 50/0,5 мл), gpРРГА (титр в ГАЕ 50/0,5 мл) и gpИФА (титр в условных единицах).

Антитела в сыворотке: 1 – «FiraVax», морской свинки pig (к альфа-герпесвирусу типа 3); 2 – МКА-1Н-110, мышинные (к альфа-герпесвирусу типа 1); 3 – МКА-2Н-208, мышинные (к альфа-герпесвирусу типа 2); 4 – ЦМВ-159, морской свинки (к бета-герпесвирусу типа 5).

Fig. 5. Comparative titration of immune sera in RN (titer in GADE50/0,5 ml), gpRPGA (titer in GAE 50/0,5 ml) and gpELISA (titer in conventional units).

Antibodies in serum: 1 – «FiraVax», guinea pig (to alpha herpes virus type 3); 2 – MKA-1H-110, mouse (to alpha herpes virus type 1); 3 – MKA-2H-208, mouse (to alpha herpes virus type 2); 4 – CMV-169, guinea pig (to beta herpes virus type 5).

куриных и бараньих эритроцитов, сенсibilизированных ГП вируса опоясывающего герпеса, полученных с помощью лектина ФГА. Титры в gpРРГА были выше на бараньих эритроцитах в реакциях со всеми использованными в эксперименте образцами сывороток крови. Можно сделать заключение о пригодности теста выявления специфических антител как у людей, так и у животных.

Специфичность gpРРГА была установлена в реакциях с не содержащими антител к VZV сыворотками крови людей. Учитывая, что у 99,0% человеческой популяции содержатся антитела к VZV, к исследуемым сывороткам добавляли равный объем вирусного ГП, смесь выдерживали 30 мин при температуре 37 °C для связывания нейтрализующих антител. На рис. 4 представлены результаты тестирования в gpРРГА (рис. 4 а) и в gpИФА (рис. 4 б) 5 сывороток человека, обработанных и не обработанных ГП VZV.

Представленные результаты четко демонстрируют высокую специфичность gpРРГА по сравнению с gpИФА: gpРРГА не выявила антител ни в одной из обработанных проб, в то время как методом gpИФА в двух иммунных сыворотках антитела обнаружены, при этом их титры были снижены в 4 и 8 раз. Таким образом, отмечаются частичные перекрестные реакции в gpИФА. В целом существует проблема перекрестной реактивности серологических тестов, особенно ИФА, которую частично или полностью можно преодолеть путем удаления из сывороток термолабильных и термостабильных ингибиторов серологических реакций. На рис. 5 представлены результаты исследования иммунных сывороток на перекрестную реактивность.

Представленные результаты показывают, что в РН со 1000 ГАДЕ 50/0,1 мл дозой VZV и в РРГА с ан-

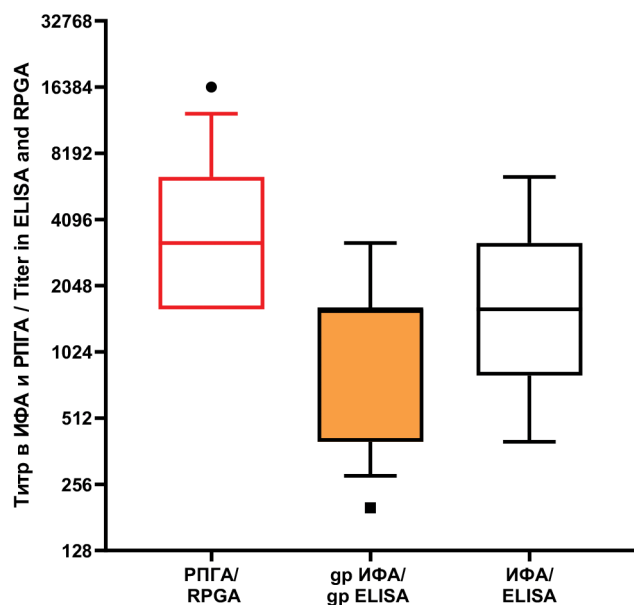


Рис. 6. Результаты сравнительного титрования иммунных сывороток к VZV в gpРПГА, грИФА и ИФА.

Fig. 6. Results of comparative titration of immune sera to VZV in gpRPGA and gpELISA and ELISA.

тигненным диагностикумом на сенсibilизированных ГП VZV формализованных бараньих эритроцитах выявляются только антитела к вирусу герпеса 3-го типа, а именно к вакцинному штамму «vFigaVax» VZV, и не обнаруживаются к герпесвирусам 1, 2 и 5-го типов, в отличие от теста грИФА, для которого продемонстрирована перекрестная иммунореактивность.

Далее было проведено сравнительное титрование 27 иммунных сывороток в gpРПГА, грИФА и ИФА. Результаты представлены рис. 6.

Анализ результатов титрования иммунных сывороток в gpРПГА и грИФА (рис. 6) показал, что 44,4% сывороток имели одинаковые титры, иногда отличающиеся на один шаг. При этом для 55,6% образцов титры в gpРПГА были больше титров в грИФА, и ни в одном случае титры в грИФА не превышали титры в gpРПГА. Сравнивая титры в грИФА и в обычном ИФА, можно отметить, что в 59,3% случаев титры в gpРПГА были ниже, чем в ИФА, для 29,6% образцов титры в грИФА были равны титрам в ИФА, в 11,1% случаев титры в грИФА были больше, чем в ИФА, на один шаг.

Обсуждение

Целью настоящей работы было создание высокочувствительного и специфичного простого серологического теста с доказанным отсутствием перекрестной реактивности. Этим требованиям соответствует формат серологического теста gpРПГА. С помощью gpРПГА можно выявлять антитела только к ГП VZV, т.е. к нейтрализующим эпитопам вирусных антигенов, обеспечивающим основной защитный эффект от VZV-инфекций. До настоящего времени счита-

ется, что инфекционность VZV остается тесно связанной с клеткой и вновь сформированный вирус не высвобождается в культуральную среду [24], поэтому тест gpРПГА для выявления антител против ГП VZV более надежен, чем РН. Поскольку с помощью этого теста определяется уровень антител, направленных исключительно к ГП вирусам, он является надежным и чувствительным индикатором иммунного статуса.

В зарубежной научной литературе имеется публикация о разработке gpРПГА для выявления антител к герпесвирусам на основе вирусных ГП [20]. Авторы получали очищенные ГП герпесвирусов из ВСЖ с помощью лектинов чечевицы, сенсibilизированных на сефарозе 4 В (Pharmacia) и элюированных 0,2 М α -methyl mannoside. Следует отметить, что большинство коммерческих иммуноферментных тест-систем недостаточно чувствительны для определения поствакцинальных антител [25].

Нами был разработан простой оригинальный метод получения ГП вируса VZV. ГП VZV выделяли из ВСЖ, зараженных разными штаммами VZV культур клеток посредством избирательного связывания с лектинами бобовых культур КонА и ФГА и сорбции на формализованных бараньих эритроцитах. Наиболее эффективным лектином оказался ФГА, позволяющий получать ГП для выявления в gpРПГА вирусоспецифических нейтрализующих антител в сыворотках крови человека и животных. Для получения очищенного ГП использовали известный метод очистки и концентрирования вирусов, в частности вируса гриппа: вирусы адсорбируются на эритроцитах цыплят или барана при температуре 4 °С, а затем элюируют с этих эритроцитов при температуре 37 °С [26]. Установленные с помощью антительного эритроцитарного диагностикума концентрации очищенных указанным способом вирусных ГП составили от 0,206 до 0,381 мг/мл, а их титры – 1 : 8. Подтвержден факт, что из трех типов исследованных формализованных эритроцитов животных: бараньих, куриных и козьих, наибольшей адсорбирующей способностью обладают бараньи эритроциты.

Сравнительный анализ показал, что разработанный тест gpРПГА обладает высокой специфичностью и воспроизводимостью. Важным его преимуществом в сравнении с ИФА является отсутствие перекрестной реактивности. Другим явным достоинством данного серологического теста является простота выполнения, что позволяет его применять в любой лаборатории.

Заключение

Разработан высокочувствительный и специфичный, простой в исполнении, не обладающий перекрестной реактивностью серологический тест gpРПГА для выявления поствакцинальных и постинфекционных антител к VZV. Его разработка – этап создания мультиплексного диагностикума для выявления антител в сыворотках крови детей, иммунизированных четы-

рехкомпонентной вакциной против кори, эпидемического паротита, краснухи и ВО.

ЛИТЕРАТУРА


- Gershon A.A., Breuer J., Cohen J.I., Cohrs R.J., Gershon M.D., Gilden D., et al. Varicella zoster virus infection. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2015; 1: 15016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.16>
- Arvin A.M., Moffat J.F., Abendroth A., Oliver S.L., eds. *Varicella-zoster Virus. Genetics, Pathogenesis and Immunity*. 6th ed. Cham: Springer; 2023. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-15305-1>
- Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014; 89(25): 265–87.
- Heininger U., Seward J.F. Varicella. *Lancet*. 2006; 368(9544): 1365–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69561-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69561-5)
- Harpaz R., Ortega-Sanchez I.R., Seward J.F. Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2008; 57(RR-5): 1–30; quiz CE2-4.
- Cohen J.I. Clinical practice: Herpes zoster. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(3): 255–63. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl302674>
- Shin D., Shin Y., Kim E., Nam H., Nan H., Lee J. Immunological characteristics of MAV/06 strain of varicella-zoster virus vaccine in an animal model. *BMC Immunol.* 2022; 23(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12865-022-00503-6>
- Higashimoto Y., Hattori F., Kawamura Y., Kozawa K., Hamano A., Kato M., et al. Analysis of the reliability of rapid diagnostic tests for varicella, including breakthrough cases. *J. Med. Virol.* 2023; 95(2): e28569. <https://doi.org/10.1002/jmv.28569>
- Pan D., Wang W., Cheng T. Current methods for the detection of antibodies of varicella-zoster virus: a review. *Microorganisms*. 2023; 11(2): 519. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020519>
- Otani N., Shima M., Tanimura S., Ueda T., Ichiki K., Nakajima K., et al. Sensitivity and specificity of different antibody tests for detecting varicella-zoster virus. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26(12): 1283–7. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.07.012>
- Mo C., Lee J., Sommer M., Grose C., Arvin A.M. The requirement of varicella zoster virus glycoprotein E (gE) for viral replication and effects of glycoprotein I on gE in melanoma cells. *Virology*. 2002; 304(2): 176–86. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1556>
- Berarducci B., Rajamani J., Reichelt M., Sommer M., Zerboni L., Arvin A.M. Deletion of the first cysteine-rich region of the varicella-zoster virus glycoprotein E ectodomain abolishes the gE and gI interaction and differentially affects cell-cell spread and viral entry. *J. Virol.* 2009; 83(1): 228–40. <https://doi.org/10.1128/JVI.00913-08>
- Hwang J.Y., Kim Y., Lee K.M., Shin O.S., Gim J.A., Shin Y., et al. Cross-reactive humoral immunity of clade 2 Oka and MAV/06 strain-based varicella vaccines against different clades of varicella-zoster virus. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023; 19(1): 2210961. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2210961>
- Marin M., Güris D., Chaves S.S., Schmid S., Seward J.F. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2007; 56(RR-4): 1–40.
- Centers for Disease Control and Prevention. Chickenpox (Varicella). Available at: <https://cdc.gov/chickenpox/hcp/index.html>
- Lafreniere M.A., Badr E., Beattie J., Macri J., Khan W.I. Performance evaluation system of the Bio-Rad Bioplex 2200 multiplex system in the detection of measles, mumps, rubella, and varicella-zoster antibodies. *J. Clin. Virol. Plus*. 2023; 3(1): 100131. <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2022.100131and>
- Coates S.R., Madsen R.D., Rippe D.F. New passive hemagglutination assay kit that uses hemagglutinin-sensitized erythrocytes for detection of rubella antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 16(6): 1117–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.16.6.1117-1122.1982>
- Kim K.S., Sapienza V., Chen C.M. Confirmation of human cytomegalovirus by reverse passive hemagglutination with monoclonal antibodies reactive to the major glycosylated peptide (GP-66). *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24(3): 474–7. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.3.474-477.1986>
- Maduie C.O., Ezeibe A.A., Anene N.I., Amechi B., Eze J.I., Animoke P.C. Direct passive hemagglutination test for rapid quantification of plasma load of the human immunodeficiency virus. *Sci. Res.* 2013; 5(9): 1351–4. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2013.59183>
- Wasmuth E.H., Miller W.J. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for antibody to varicella-zoster virus using purified VZV glycoprotein antigen. *J. Med. Virol.* 1990; 32(3): 189–93. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890320310>
- Kino Y., Minamishima Y. Passive hemagglutination assays for the detection of antibodies to herpes viruses. *Microbiol. Immunol.* 1993; 37(5): 365–8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1993.tb03223.x>
- Weinbach R. Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrocyten als Antigenträger in der Haemagglutination. *Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol.* 1958; 21(6): 1043–52. <https://doi.org/10.1159/000160565> (in German)
- Фриго Н.В., Комарова В.Д., Обрядина А.П., Бурков А.Н. Сравнительные результаты иммуноферментного анализа, реакции пассивной геммагглютинации и микрореакции в серодиагностике сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2000; (4): 4–36.
- Mendelson E., Aboudy Y., Smetana Z., Tepperberg M., Grossman Z. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod. Toxicol.* 2006; 21(4): 350–82. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.001>
- Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Лисакос А.Н., Сидоров А.В., Зверев В.В., Осокина О.В. и др. Практические аспекты выявления, культивирования и характеристики клинических изолятов вируса varicella-zoster. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(2): 387–96. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-PAO-1211> <https://elibrary.ru/ptnvtv>
- Шубладзе А.К., Гайдамович С.Я. *Краткий курс практической вирусологии*. М.: Медгиз; 1954.

REFERENCES

- Gershon A.A., Breuer J., Cohen J.I., Cohrs R.J., Gershon M.D., Gilden D., et al. Varicella zoster virus infection. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2015; 1: 15016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.16>
- Arvin A.M., Moffat J.F., Abendroth A., Oliver S.L., eds. *Varicella-zoster Virus. Genetics, Pathogenesis and Immunity*. 6th ed. Cham: Springer; 2023. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-15305-1>
- Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014; 89(25): 265–87.
- Heininger U., Seward J.F. Varicella. *Lancet*. 2006; 368(9544): 1365–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69561-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69561-5)
- Harpaz R., Ortega-Sanchez I.R., Seward J.F. Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2008; 57(RR-5): 1–30; quiz CE2-4.
- Cohen J.I. Clinical practice: Herpes zoster. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(3): 255–63. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl302674>
- Shin D., Shin Y., Kim E., Nam H., Nan H., Lee J. Immunological characteristics of MAV/06 strain of varicella-zoster virus vaccine in an animal model. *BMC Immunol.* 2022; 23(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12865-022-00503-6>
- Higashimoto Y., Hattori F., Kawamura Y., Kozawa K., Hamano A., Kato M., et al. Analysis of the reliability of rapid diagnostic tests for varicella, including breakthrough cases. *J. Med. Virol.* 2023; 95(2): e28569. <https://doi.org/10.1002/jmv.28569>
- Pan D., Wang W., Cheng T. Current methods for the detection of antibodies of varicella-zoster virus: a review. *Microorganisms*. 2023; 11(2): 519. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020519>
- Otani N., Shima M., Tanimura S., Ueda T., Ichiki K., Nakajima K., et al. Sensitivity and specificity of different antibody tests for detecting varicella-zoster virus. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26(12): 1283–7. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.07.012>
- Mo C., Lee J., Sommer M., Grose C., Arvin A.M. The requirement of varicella zoster virus glycoprotein E (gE) for viral replication and effects of glycoprotein I on gE in melanoma cells. *Virology*. 2002; 304(2): 176–86. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1556>
- Berarducci B., Rajamani J., Reichelt M., Sommer M., Zerboni L., Arvin A.M. Deletion of the first cysteine-rich region of the varicella-zoster virus glycoprotein E ectodomain abolishes the gE and gI interaction and differentially affects cell-cell spread and viral entry. *J. Virol.* 2009; 83(1): 228–40. <https://doi.org/10.1128/JVI.00913-08>
- Hwang J.Y., Kim Y., Lee K.M., Shin O.S., Gim J.A., Shin Y., et al. Cross-reactive humoral immunity of clade 2 Oka and MAV/06

- strain-based varicella vaccines against different clades of varicella-zoster virus. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023; 19(1): 2210961. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2210961>
14. Marin M., Güris D., Chaves S.S., Schmid S., Seward J.F. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2007; 56(RR-4): 1–40.
 15. Centers for Disease Control and Prevention. Chickenpox (Varicella). Available at: <https://cdc.gov/chickenpox/hcp/index.html>
 16. Lafreniere M.A., Badr E., Beattie J., Macri J., Khan W.I. Performance evaluation system of the Bio-Rad Bioplex 2200 multiplex assay in the detection of measles, mumps, rubella, and varicella-zoster antibodies. *J. Clin. Virol. Plus.* 2023; 3(1): 100131. <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2022.100131>
 17. Coates S.R., Madsen R.D., Rippe D.F. New passive hemagglutination assay kit that uses hemagglutinin-sensitized erythrocytes for detection of rubella antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 16(6): 1117–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.16.6.1117-1122.1982>
 18. Kim K.S., Sapienza V., Chen C.M. Confirmation of human cytomegalovirus by reverse passive hemagglutination with monoclonal antibodies reactive to the major glycosylated peptide (GP-66). *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24(3): 474–7. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.3.474-477.1986>
 19. Maduikie C.O., Ezeibe A.A., Anene N.I., Amechi B., Eze J.I., Animoke P.C. Direct passive hemagglutination test for rapid quantification of plasma load of the human immunodeficiency virus. *Sci. Res.* 2013; 5(9): 1351–4. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2013.59183>
 20. Wasmuth E.H., Miller W.J. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for antibody to varicella-zoster virus using purified VZV glycoprotein antigen. *J. Med. Virol.* 1990; 32(3): 189–93. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890320310>
 21. Kino Y., Minamishima Y. Passive hemagglutination assays for the detection of antibodies to herpes viruses. *Microbiol. Immunol.* 1993; 37(5): 365–8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1993.tb03223.x>
 22. Weinbach R. Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrocyten als Antigen-träger in der Haemagglutination. *Schweiz. Z. Pathol. Bakteriolog.* 1958; 21(6): 1043–52. <https://doi.org/10.1159/000160565> (in German)
 23. Frigo N.V., Komarova V.D., Obryadina A.P., Burkov A.N. Comparative results of enzyme immunoassay, reactions of passive hemagglutination and microreaction in serodiagnostics of syphilis. *Vestnik dermatologii i venerologii.* 2000; (4): 4–36. (in Russian)
 24. Mendelson E., Aboudy Y., Smetana Z., Tepperberg M., Grossman Z. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod. Toxicol.* 2006; 21(4): 350–82. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.001>
 25. Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V.V., Osokina O.V., et al. Practical aspects on identification, cultivation and characteristics of varicella-zoster virus isolates. *Infektsiya i immunitet.* 2020; 10(2): 387–96. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-PAO-1211> <https://elibrary.ru/ptnvtv> (in Russian)
 26. Shubludze A.K., Gaidamovich S.Ya. *Short Course of Practical Virology [Kratkii kurs prakticheskoi virusologii]*. Moscow: Medgiz; 1954. (in Russian)

Информация об авторах:

Нагиева Фирая Галиевна  – д-р мед. наук, доцент, заведующая лабораторией гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: fgn42@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8204-4899>

Баркова Елена Петровна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3369-8869>

Харченко Ольга Сергеевна – научный сотрудник лаборатории генетики ДНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2169-9610>

Сидоров Александр Викторович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией генетики ДНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3561-8295>

Алаторцева Галина Ивановна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией клонирования вирусных геномов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

Черепович Богдан Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Тараканова Юлия Николаевна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией диагностики вирусных инфекций отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3226-5989>

Трубачева Ольга Анатольевна – ведущий специалист лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0005-0821-5553>

Пашков Евгений Алексеевич – младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5682-4581>


Ртищев Артем Андреевич – научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Свитич Оксана Анатольевна – д-р мед. наук, член-корр. РАН, директор ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Зверев Виталий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Участие авторов: Нагиева Ф.Г. – концепция и дизайн исследования, проведение культуральных работ, анализ и интерпретация полученных результатов, написание и научное редактирование статьи; Баркова Е.П. – получение ГП VZV, формализация эритроцитов, проведение РПГА; Харченко О.С. – проведение ИФА и гРИФА; Сидоров А.В. – анализ научной литературы, анализ и обобщение результатов исследований; Алаторцева Г.И. – анализ научной литературы, анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Черепович Б.С. – анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Тараканова Ю.Н. – проведение исследований культуральными и вирусологическими методами; Трубачева О.А. – подготовка серологического материала, получение иммунных сывороток; Пашков Е.А. – статистическая обработка полученных результатов исследований; Ртищев А.А. – анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Свитич О.А. – концепция исследований, общее руководство, анализ результатов; Зверев В.В. – концепция исследований, общее руководство, анализ результатов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисковой и аналитической работы в подготовке статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Information about the authors:

Firaya G. Nagieva  – D. Sci. (Med.) Associate Professor, Head of Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: fgn42@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8204-4899>

Elena P. Barkova – Cand.Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3369-8869>

Olga S. Kharchenko – researcher, Laboratory of genetics of DNA-containing viruses, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2169-9610>

Alexander V. Sidorov – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of genetics of DNA-containing viruses, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3561-8295>

Galina I. Alatortseva – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of cloning of viruses genomes, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9887-4061>

Bogdan S. Cherepovich – Junior Researcher, Laboratory of genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Yulia N. Tarakanova – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of diagnostics of viral infections, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3226-5989>

Olga A. Trubacheva – leading specialist, Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0005-0821-5553>

Evgeny A. Pashkov – Junior Researcher, Laboratory of Virology Applied, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-5682-4581>

Artem A. Rtishchev – Researcher, Laboratory of genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Oksana A. Svitich – D. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Vitaly V. Zverev – D. Sci. (Biol.), Professor, RAS Full Member, Head of Laboratory of molecular biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Contribution: Nagieva F.G. – concept and design of the study, cultural work, analysis and interpretation of the results, writing and editing the article; Barkova E.P. – obtaining VZV GP, formalization of erythrocytes, conducting RPGA; Kharchenko O.S. – conducting ELISA and gpELISA; Sidorov A.V. – analysis of scientific literature, analysis of research results; Alatortseva G.I. – analysis of scientific literature, analysis of research results, writing and editing the article; Cherepovich B.S. – analysis of research results, writing and editing the article; Tarakanova Yu.N. – cultural and virological work; Trubacheva O.A. – preparation of serological material, obtaining immune sera; Pashkov E.A. – statistical processing of the results; Rtishchev A.A. – analysis of research results, writing and editing the article; Svitich O.A. – concept of the study, general management, analysis of results; Zverev V.V. – concept of the study, general management, analysis of results. 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 22 August 2024
Accepted 17 October 2024
Published 26 December 2024

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-265>

© ЗАХАРОВ В.В., БАЛЫКИНА Ю.Е., 2024



Ретроспективный анализ и прогнозирование распространения вирусов в реальном времени: на примере COVID-19 в Санкт-Петербурге и в Москве в 2020–2021 гг.

Захаров В.В., Балыкина Ю.Е.✉

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034, г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель исследования – применение математических методов для построения прогнозов динамики случайных значений процентного прироста общего количества заболевших и процентного прироста общего количества выздоровевших и умерших пациентов с проверкой методов при ретроспективном прогнозировании динамики эпидемического процесса COVID-19 в Санкт-Петербурге и в Москве.

Материалы и методы. При ретроспективном прогнозировании динамики общего количества заболевших COVID-19 и динамики общего количества пациентов, завершивших болезнь, использованы прогнозные значения процентных приростов этих показателей. Ретроспективный анализ и вычислительные эксперименты по прогнозированию динамики эпидемического процесса COVID-19 проводили на промежутках длиной 14 сут, начиная с 25 марта 2020 г. до 20 января 2021 г., с использованием метода прогнозирования временных рядов, предложенного авторами данной статьи.

Результаты и обсуждение. Представленные в работе ретроспективные 2-недельные прогнозы общего количества заболевших и количества активных случаев COVID-19 продемонстрировали достаточно высокую точность как в Москве, так и в Санкт-Петербурге. Ошибка MAPE (mean absolute percentage error) общего количества заболевших на пиках заболеваемости, как правило, не превышала 1%. Показано, что точность полученных ретроспективных прогнозов общего количества заболевших в Санкт-Петербурге, построенных начиная с мая 2020 г., значительно возросла по сравнению с апрельскими прогнозами. Аналогичное заключение можно сделать и относительно прогнозов общего количества заболевших в Москве в апреле и мае 2020 г.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; COVID-19; эпидемический процесс; заболеваемость; активные случаи болезни; ретроспективный анализ; прогнозирование; моделирование

Для цитирования: Захаров В.В., Балыкина Ю.Е. Ретроспективный анализ и прогнозирование распространения вирусов в реальном времени: COVID-19 в Санкт-Петербурге и в Москве в 2020–2021 гг. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 500–508. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-265> EDN: <https://elibrary.ru/faiorq>

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-21-10049 (<https://rscf.ru/project/23-21-10049/>) и гранта Санкт-Петербургского научного фонда.

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

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-265>

Retrospective analysis and forecasting of the spread of viruses in real time: the case of COVID-19 in St. Petersburg and Moscow in 2020–2021

Victor V. Zakharov, Yulia E. Balykina✉

St. Petersburg State University, 99034, St. Petersburg, Russia

Abstract

The **aim** of the study is to apply mathematical methods to generate forecasts of the dynamics of random values of the percentage increase in the total number of infected people and the percentage increase in the total number of recovered and deceased patients. The obtained forecasts are used for retrospective forecasting of COVID-19 epidemic process dynamics in St. Petersburg and in Moscow.

Materials and methods. When conducting a retrospective analysis and forecasting the dynamics of the total number of cases and the dynamics of the total number of patients who have either died or recovered, the values of

percentage increases in these indicators were used. Retrospective analysis and forecasting of the dynamics of the COVID-19 epidemic process were carried out over 14-day time intervals, starting from March 25, 2020 to January 20, 2021, using the time series forecasting method proposed by the authors.

Results and discussion. The retrospective two-week forecasts of the total number of cases and the number of active cases presented in the paper demonstrated a high accuracy performance, both in Moscow and St. Petersburg. The MAPE (mean absolute percentage error) for the total number of cases at the peaks of incidence, generally, did not exceed 1%. It is shown that the accuracy of the obtained retrospective forecasts of the total number of cases in St. Petersburg, built starting from May 2020, has increased significantly compared to the April forecasts. A similar conclusion can be made regarding the forecasts of the total number of cases in Moscow in April and May 2020.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; epidemic process; incidence; active cases of the disease; retrospective analysis; forecasting

For citation: Zakharov V.V., Balykina Yu.E. Retrospective analysis and forecasting of the spread of viruses in real time: COVID-19 in St. Petersburg and Moscow in 2020–2021. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 500–508. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-265> EDN: <https://elibrary.ru/faiopq>

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-21-10049 (<https://rscf.ru/project/23-21-10049/>) and the St. Petersburg Science Foundation grant.

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

Введение

Эпидемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в Российской Федерации, которая началась в марте 2020 г., вовлекла в эпидемический процесс население всех регионов страны. К концу декабря 2020 г. в стране было зарегистрировано более 3 млн случаев заболевания COVID-19. Такие темпы распространения эпидемии привели к значительному увеличению нагрузки на систему здравоохранения. Вместе с этим во весь рост встала и проблема отсутствия на тот период эффективных методов прогнозирования динамики распространения нового вируса, параметры которого еще не были изучены. По признанию Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), наличие адекватных математических моделей распространения вирусов и разработка методов прогнозирования динамики эпидемий может сыграть ключевую роль при подготовке принятия решений лицами, определяющими ресурсное обеспечение и политику здравоохранения. Такие модели помогают получить представление о будущей динамике распространения инфекционных заболеваний и потенциальной роли разных видов стратегий вмешательства со стороны общественного здравоохранения [1, 2]. Для описания процессов распространения инфекционных заболеваний многие исследователи используют трехкамерную модель SIR. Население страны, в которой распространяется инфекция, разделяется на 3 группы (камеры): восприимчивые к вирусу (Susceptible), инфицированные (Infected) и выздоровевшие или умершие (Removed). Предполагается, что численность населения страны равна сумме численностей этих 3 групп. Впервые модель была в общем виде описана в работе W. Kermack и A. McKendrick в 1927 г. [3], однако наибольший интерес исследователей был в дальнейшем сосредоточен на частном случае этой модели в виде системы из 3 дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами [4]. Некоторые специалисты предпочитают модель SIR

из-за небольшого количества требуемых на входе параметров и широких возможностей для применения традиционных классических подходов к моделированию и использованию вычислительных алгоритмов. Однако это преимущество одновременно становится и недостатком, поскольку упрощение модели порождает неточность получаемых на их основе прогнозов по сравнению с фактическими значениями основных переменных эпидемического процесса [5–7]. В ряде статей [8–11] приводятся примеры применения авторегрессионной модели ARIMA при построении прогнозов распространения пандемии в ряде стран мира. Отмечается, что эта модель по сравнению с другими инструментами дает более точные прогнозы, однако, хотя модели временных рядов и являются популярным инструментом прогнозирования, их применение для оценки распространения новых инфекций не всегда позволяет построить прогнозы высокой степени точности.

Помимо различных разновидностей моделей семейства ARIMA, для прогнозирования динамики COVID-19 могут также использоваться разные методы машинного обучения, включая деревья решений и ансамблевые модели, такие как случайный лес и градиентный бустинг [12, 13]. Эти техники позволяют учитывать множество факторов, включая уровень заражения, мобильность населения и применяемые меры ограничения социальной дистанции. Искусственные нейронные сети также находят широкое применение, благодаря своей способности обрабатывать временные ряды и делать прогнозы на основе последовательных данных [14–16].

Изучению закономерностей эпидемического распространения SARS-CoV-2 на начальном этапе пандемии COVID-19 в Российской Федерации, в Москве и Санкт-Петербурге в 2020 г. посвящены несколько статей [17–20], в которых выделен ряд важных периодов в динамике выявления новых случаев COVID-19: рост заболеваемости, период эпидемического затишья, период осеннего подъема,

период устойчиво высокого уровня заболеваемости COVID-19. Следует отметить, что важной мотивацией для проведения настоящего исследования явились в том числе публикации о вкладе академика В.Д. Белякова [21, 22] в развитие представлений о единой («общемедицинской» в его определении) эпидемиологии, включающей неинфекционные заболевания. В более ранних статьях [23–25] авторами настоящей статьи был предложен подход, основная идея которого заключается в прогнозировании сначала будущих прогнозных трендов стохастических параметров эпидемического процесса, а затем в вычислении будущих траекторий основных переменных этого процесса.

Цель настоящей работы заключается в построении прогнозов динамики временных рядов случайных значений процентного прироста общего количества заболевших и процентного прироста общего количества выздоровевших и умерших пациентов и описании результатов применения разработанных авторами методов для ретроспективного прогнозирования динамики эпидемических процессов в Санкт-Петербурге и в Москве.

Материалы и методы

Работа выполнена научным коллективом Центра аналитики динамических процессов и систем Санкт-Петербургского государственного университета. При проведении вычислительных экспериментов по прогнозированию динамики эпидемического процесса COVID-19 в Санкт-Петербурге в период с марта 2020 г. по июнь 2020 г. и в Москве с сентября 2020 г. по январь 2021 г. использовали временные ряды данных официальной регистрации ежедневного количества новых случаев заболевания и количества случаев завершения болезни (выздоровления или смерти пациентов), представленные на сайте стопкоронавирус.рф и статистические данные Центра CSSE Университета Джонса Хопкинса¹.

С точки зрения теории математической статистики, данные о новых случаях заболевания образуют временные ряды значений $x_{inf}(t)$ (количество новых случаев в день t), а данные о количестве случаев завершения болезни (выздоровления или смерти пациентов) образуют временные ряды $x_{of}(t)$, где t – это конкретный день эпидемии. Обозначим через $X_{inf}(t)$ общее количество зарегистрированных случаев заболевания с начала эпидемии до дня t включительно, а через $X_{of}(t)$ – общее количество пациентов, завершивших болезнь к этому дню. Полученные временные ряды $X_{inf}(t)$ и $X_{of}(t)$ называются интегральной формой временных рядов $x_{inf}(t)$ и $x_{of}(t)$ соответственно. Выраженность тенденции динамики новых случаев заболевания (рост/снижение) принято описывать по методике, предложенной В.Д. Беляковым [26].

Следует отметить, что поскольку члены временного ряда $x_{inf}(t)$ принимают случайные значения, которые могут то возрастать, то убывать, то процентный прирост количества новых случаев, так же как и тенденция роста/снижения, может принимать как отрицательные значения, так и положительные (или равные 0). Процентный прирост числа новых случаев в день t по отношению к числу новых случаев в день $t - 1$ мы обозначаем $r(t)$ и вычисляем по формуле:

$$r(t) = \frac{x_{inf}(t) - x_{inf}(t-1)}{x_{inf}(t-1)} \times 100\%.$$

Тенденция роста/снижения динамики количества новых случаев заболевания описывается как среднее значение процентного прироста на заданных промежутках времени и используется в качестве важной характеристики при осуществлении мониторинга эпидемического процесса [17]. Однако ее использование в процессе прогнозирования будущей динамики эпидемического процесса в реальном времени представляется проблематичным, в основном ввиду того, что ее значения случайным образом меняют знак с плюса на минус. Можно заметить, что временные ряды $X_{inf}(t)$ и $X_{of}(t)$, в отличие от временных рядов $x_{inf}(t)$ и $x_{of}(t)$, являются неотрицательными и возрастают с течением времени. В настоящем исследовании в качестве основных параметров динамики эпидемического процесса рассматривался процентный прирост общего количества заболевших $r_{inf}(t)$ и процентный прирост $r_{of}(t)$ общего количества пациентов, для которых болезнь завершилась [23–25]. Значения этих параметров для любого дня t эпидемии можно вычислить по следующим формулам:

$$r_{inf}(t) = \frac{X_{inf}(t) - X_{inf}(t-1)}{X_{inf}(t-1)} \times 100\% = \frac{x_{inf}(t)}{X_{inf}(t-1)} \times 100\%$$

$$r_{of}(t) = \frac{X_{of}(t) - X_{of}(t-1)}{X_{of}(t-1)} \times 100\% = \frac{x_{of}(t)}{X_{of}(t-1)} \times 100\%$$

Учитывая, что в числителе и знаменателе представленных формул стоят члены временных рядов, указанные процентные приросты тоже образуют временные ряды случайных величин. В ходе эпидемии общее количество случаев заболевания и общее количество завершивших болезнь пациентов, как правило, строго возрастают, поэтому значения этих параметров можно считать положительными для любого дня, за исключением дня, в котором число новых случаев равно 0. Кроме того, если процентный прирост $r_{inf}(t)$ больше процентного прироста $r_{inf}(t-1)$, то имеет место неравенство:

$$\frac{x_{inf}(t)}{X_{inf}(t-1)} > \frac{x_{inf}(t-1)}{X_{inf}(t-2)}$$

или, что то же самое:

$$\frac{x_{inf}(t)}{x_{inf}(t-1)} > \frac{X_{inf}(t-1)}{X_{inf}(t-2)} \geq 1.$$

Из последнего неравенства можно сделать вывод, что при возрастании процентного прироста общего количества заболевших количество новых случаев заболевания тоже, как правило, возрастает. Однако утверждение, что при убывании процентного прироста

¹COVID-19 Data Visualization Center [Internet]. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. Доступно по: <https://coronavirus.jhu.edu/data>

ста общего количества заболевших количество новых случаев убывает, справедливо не всегда.

То же верно и для процентного прироста общего количества выздоровевших и умерших пациентов. Еще одна тенденция, которую можно обнаружить при анализе статистических данных заболеваемости в Санкт-Петербурге и в Москве в мае 2020 г., состоит в том, что снижение процентного прироста общего количества заболевших началось примерно за неделю до наступления пика по числу новых случаев. Эта же ситуация повторилась и в декабре 2020 г. Поэтому мы полагаем, что мониторинг динамики изменения процентного прироста общего количества заболевших имеет существенное значение при прогнозировании динамики как общего количества заболевших, так и новых случаев заболевания.

В рамках настоящего исследования для статистических данных 2020 г. в Санкт-Петербурге и в Москве были построены 20 последовательных 2-недельных ретроспективных прогнозов процентного прироста общего количества заболевших и процентного прироста общего количества пациентов, для которых болезнь завершилась.

Если обратиться к **таблице**, то можно заметить, что процентный прирост общего количества заболевших в Санкт-Петербурге после 22 апреля 2020 г. имеет явную тенденцию к убыванию. Та же ситуация наблюдалась и в Москве. Аналогичную тенденцию, хотя и менее выраженного характера и с запаздыванием на 2–3 нед, имеет процентный прирост общего количества пациентов, для которых болезнь завершилась.

Наш метод построения прогноза в конкретный заданный день предполагает на 1-м этапе выбор подходящей функции (линейной, степенной или экспоненциальной) для аппроксимации значений процентных приростов $r_{inf}(t)$ и $r_{of}(t)$ за предшествующие 14 сут до дня построения прогноза. После завершения 1-го этапа с помощью выбранной аппроксимирующей функции вычисляются прогнозные значения процентных приростов $\tilde{r}_{inf}(t)$ и $\tilde{r}_{of}(t)$ в течение следующих после дня построения прогноза 14 сут. Полученные значения процентных приростов использовались для вычисления в течение горизонта прогнозирования прогнозных значений $\tilde{X}_{inf}(t)$ и $\tilde{X}_{of}(t)$ по формулам:

$$\tilde{X}_{inf}(t) = \tilde{X}_{inf}(t-1) \times \left(1 + \frac{\tilde{r}_{inf}(t)}{100}\right)$$

$$\tilde{X}_{of}(t) = \tilde{X}_{of}(t-1) \times \left(1 + \frac{\tilde{r}_{of}(t)}{100}\right).$$

Для каждого дня t промежутка прогнозирования можно вычислить отклонение $e(t)$ прогнозного значения от фактического, например:

$$e(t) = \tilde{X}_{inf}(t) - X_{inf}(t),$$

и абсолютную ошибку прогноза:

$$\Delta(t) = \left(\frac{|X_{inf}(t) - \tilde{X}_{inf}(t)|}{X_{inf}(t)}\right) \times 100\%.$$

В качестве средней ошибки прогноза для каждого промежутка прогнозирования выбрали часто используемую в статистике ошибку MAPE (mean absolute

percentage error). Значения MAPE вычисляли для промежутка прогнозирования длиной 14 сут по формуле:

$$MAPE = \frac{1}{14} \sum_{t=1}^{14} \Delta(t).$$

Результаты

Результаты проведенных вычислительных экспериментов представлены в **табл. S1–S8**, помещенных в **Приложение**. В табл. S1–S3 приведены прогнозы динамики процентных приростов общего количества заболевших в Санкт-Петербурге с начала эпидемии, построенные 8 и 22 апреля, 6 и 20 мая, 3 и 17 июня 2020 г.

Средняя ошибка MAPE для прогноза общего количества заболевших, построенного 8 апреля 2020 г., равна 5,15%, 22 апреля – 19,66%. Таким образом, точность прогнозов общего количества заболевших в апреле оказалась не очень высокой. Средняя ошибка MAPE для прогноза, построенного 6 мая 2020 г., равна 4,52% (**рис. 1**). Следует отметить, что июньские прогнозы, представленные в табл. S3, имеют уже более высокую точность, чем майские. Ошибка MAPE для прогноза, построенного 3 июня 2020 г., равна 3,17%, а для прогноза 17 июня – 0,77%.

Данные о некоторых прогнозах в осенне-зимний период в Москве приведены в табл. S4 и S5. Ошибка MAPE для прогноза в Москве, построенного 25 ноября 2020 г., равна 0,13%, построенного 9 декабря – 0,13%. Ошибка MAPE для прогноза, построенного 23 декабря 2020 г., равна 0,17%, а построенного 6 января 2021 г. – 0,30% (**рис. 2**).

Как известно, количество активных случаев болезни в любой день можно вычислить, вычитая из общего числа заболевших общее число выздоровевших и умерших пациентов. Прогнозируемое количество активных случаев болезни вычисляли как разность между спрогнозированным общим числом заболевших и спрогнозированным общим числом пациентов, завершивших болезнь. На **рис. 3** и в табл. S6 представлены прогнозные и фактические значения количества активных случаев болезни в Санкт-Петербурге в период прохождения пика эпидемии в мае 2020 г. В табл. S7 содержатся данные о прогнозах количества новых случаев заболевания и количества активных случаев в Москве с 24 декабря 2020 г. по 6 января 2021 г. в период прохождения пиков эпидемии (**рис. 4, 5**). Жирным шрифтом в таблицах выделены максимальные значения фактических и прогнозируемых величин активных случаев болезни в окрестностях пиков эпидемии первой и второй волны.

Для того чтобы оценить возможность предсказания резкого роста заболеваемости при распространении штамма Delta в Москве в июне 2021 г., мы обратились к статистическим данным о динамике COVID-19 за этот период. Резкий рост заболеваемости наблюдался с 8 по 15 июня. Мониторинг динамики процентного прироста общего количества заболевших показал, что изменение тенденции устойчивого убывания

Таблица. Общее количество заболевших COVID-19 в Санкт-Петербурге в апреле–июне 2020 г.

Table. Total number of registered COVID-19 cases in St. Petersburg in April–June 2020

Дата Date	Общее число заболевших, абс. Total number of cases, abs.	$r_{ин}(t)$, %	Дата Date	Общее число заболевших, абс. Total number of cases, abs.	$r_{ин}(t)$, %
12.04.2020	557	14,14	21.05.2020	12 203	3,46
13.04.2020	678	21,72	22.05.2020	12 592	3,19
14.04.2020	799	17,85	23.05.2020	12 955	2,88
15.04.2020	929	16,27	24.05.2020	13 339	2,96
16.04.2020	1083	16,58	25.05.2020	13 713	2,80
17.04.2020	1507	39,15	26.05.2020	14 076	2,65
18.04.2020	1646	9,22	27.05.2020	14 463	2,75
19.04.2020	1760	6,93	28.05.2020	14 846	2,65
20.04.2020	1846	4,89	29.05.2020	15 215	2,49
21.04.2020	1973	6,88	30.05.2020	15 580	2,40
22.04.2020	2267	14,90	31.05.2020	15 949	2,37
23.04.2020	2458	8,43	01.06.2020	16 313	2,28
24.04.2020	2711	10,29	02.06.2020	16 689	2,30
25.04.2020	2926	7,93	03.06.2020	17 069	2,28
26.04.2020	3077	5,16	04.06.2020	17 444	2,20
27.04.2020	3238	5,23	05.06.2020	17 822	2,17
28.04.2020	3436	6,11	06.06.2020	18 169	1,95
29.04.2020	3726	8,44	07.06.2020	18 509	1,87
30.04.2020	4062	9,02	08.06.2020	18 835	1,76
01.05.2020	4411	8,59	09.06.2020	19 153	1,69
02.05.2020	4734	7,32	10.06.2020	19 466	1,63
03.05.2020	5029	6,23	11.06.2020	19 769	1,56
04.05.2020	5346	6,30	12.06.2020	20 043	1,39
05.05.2020	5572	4,23	13.06.2020	20 305	1,31
06.05.2020	5884	5,60	14.06.2020	20 561	1,26
07.05.2020	6190	5,20	15.06.2020	20 813	1,23
08.05.2020	6565	6,06	16.06.2020	21 047	1,12
09.05.2020	6990	6,47	17.06.2020	21 275	1,08
10.05.2020	7404	5,92	18.06.2020	21 506	1,09
11.05.2020	7711	4,15	19.06.2020	21 734	1,06
12.05.2020	8050	4,40	20.06.2020	21 966	1,07
13.05.2020	8485	5,40	21.06.2020	22 195	1,04
14.05.2020	8945	5,42	22.06.2020	22 412	0,98
15.05.2020	9486	6,05	23.06.2020	22 632	0,98
16.05.2020	10 011	5,53	24.06.2020	22 850	0,96
17.05.2020	10 462	4,51	25.06.2020	23 071	0,97
18.05.2020	10 887	4,06	26.06.2020	23 294	0,97
19.05.2020	11 340	4,16	27.06.2020	23 518	0,96
20.05.2020	11 795	4,01	28.06.2020	23 735	0,92

процентного прироста наблюдалось до 2 июня, затем его значение остановилось на 3 сут на отметке 0,24%, после чего процентный прирост начал возрастать. К 8 июня значение процентного прироста уже достигло уровня 0,32%. Такой быстрый подъем процентного прироста в течение 4 сут, по-нашему мнению, может свидетельствовать о возможном дальнейшем экспоненциальном росте процентного прироста и числа новых случаев заболевания. Ретроспективный прогноз,

построенный 8 июня на 6 сут с использованием предлагаемых нами методов, представлен в табл. S8 и на **рис. 6**. Он имеет ошибку MARE для общего количества заболевших 0,06%, для новых случаев – 10,41%.

Обсуждение

Как показали вычислительные эксперименты, в апреле 2020 г. динамика процентного прироста общего количества заболевших в Санкт-Петербур-

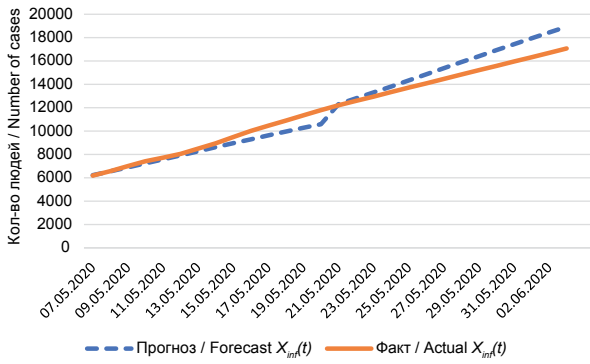


Рис. 1. Двухнедельные прогнозы общего количества заболевших в Санкт-Петербурге в мае 2020 г.

Fig. 1. Two-week forecasts of the total number of cases in St. Petersburg in May 2020.

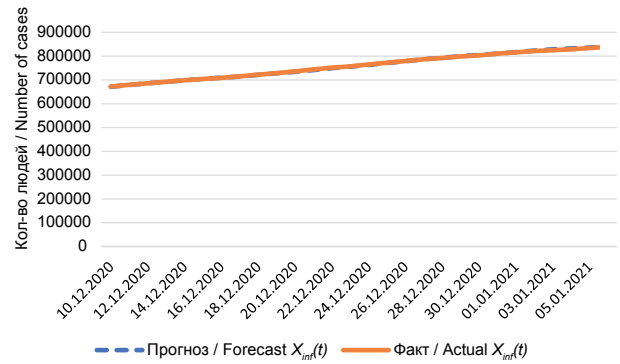


Рис. 2. Двухнедельные прогнозы общего количества заболевших в Москве в декабре 2020 г.

Fig. 2. Two-week forecasts of the total number of cases in Moscow in December 2020.

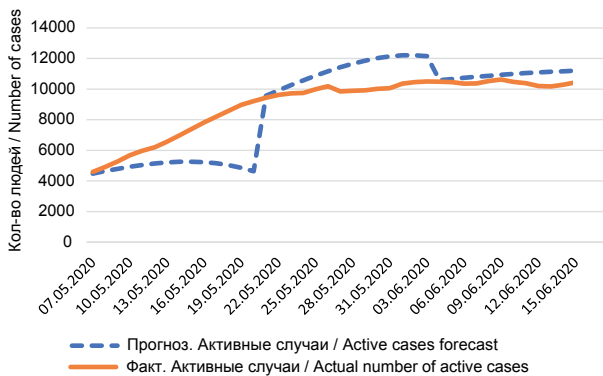


Рис. 3. Прогноз количества активных случаев болезни в Санкт-Петербурге в мае-июне 2020 г.

Fig. 3. Forecast of the number of active cases in St. Petersburg in May-June 2020.

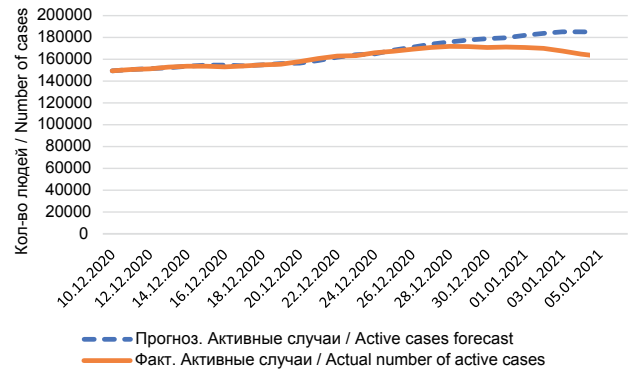


Рис. 4. Прогноз количества активных случаев болезни в Москве в декабре 2020 г.

Fig. 4. Forecast of the number of active cases in Moscow in December 2020.

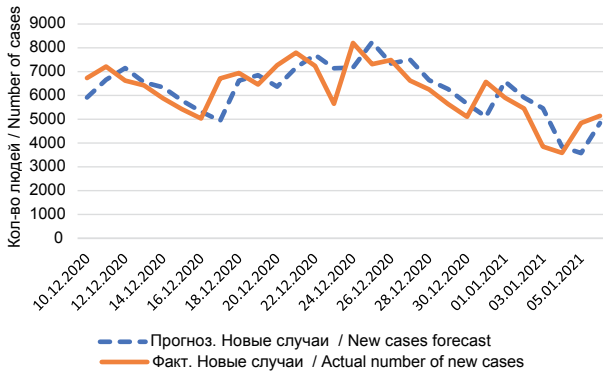


Рис. 5. Прогноз новых случаев болезни в Москве в декабре 2020 г.

Fig. 5. Forecast of new cases in Moscow in December 2020.

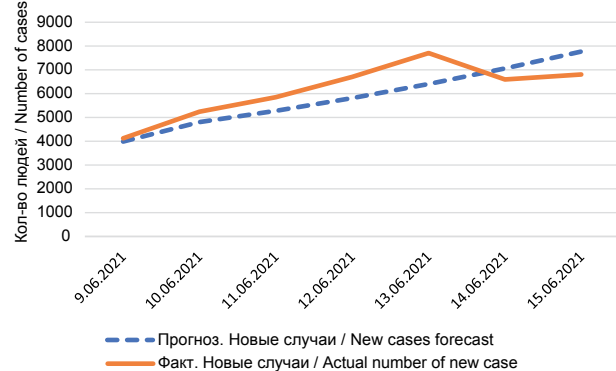


Рис. 6. Прогноз новых случаев при распространении штамма дельта в Москве в июне 2021 г.

Fig. 6. Forecast of new cases in during the spread of delta strain in Moscow in June 2021

ге была трудно предсказуема, однако построенные в мае-июне прогнозы оказались уже достаточно точны. Точность полученных ретроспективных прогнозов общего количества заболевших, построенных в мае, значительно возросла по сравнению с апрелем (табл. S2 и рис. 1). Это, по-нашему мнению, объясняется тем, что выбранный метод прогнозирования прошел в апреле стадию обучения на текущих данных и после этого оказался адаптированным к ис-

пользованию для новых данных, полученных в мае. Из этого можно сделать вывод, что неопределенность в оценке будущей динамики развития эпидемического процесса к началу мая значительно уменьшилась. Эффективность предложенного метода прогнозирования подтвердилась и при построении ретроспективных 2-недельных прогнозов в Москве (табл. S4 и S5, рис. 2). Следует отметить, что в периоды начала распространения более вирулентных

штаммов вируса и при введении жестких мер противодействия распространению эпидемии, точность работы предложенного в статье метода может быть ограничена. Такие ситуации требуют дополнительного изучения. В рамках настоящего исследования проводили вычислительные эксперименты по построению 2-недельных ретроспективных прогнозов не только динамики общего количества заболевших, но также были построены прогнозы динамики числа ежедневных новых случаев заболевания, общего числа пациентов, завершивших болезнь, числа активных случаев болезни (текущего числа болеющих людей). Результаты прогнозирования продемонстрировали достаточно высокую точность полученных прогнозов. В качестве примеров в табл. S6 и S7 также приведены данные о прогнозах и фактических значениях количества активных случаев болезни в период прохождения пиков эпидемии в мае 2020 г. в Санкт-Петербурге (рис. 3) и в декабре 2020 г. в Москве (рис. 4). На этих рисунках видно, что спрогнозированные значения количества активных случаев при приближении к пику эпидемии отличаются незначительно от фактических значений. Ошибка MAPE прогнозирования активных случаев болезни в Москве на горизонте прогнозирования 25 декабря 2020 г. – 6 января 2021 г. равна 6,16%. В начальный период подъема заболеваемости фактический максимальный уровень (10 619) болеющих в Санкт-Петербурге был зафиксирован 6 июня, а по прогнозу он составил 12 210 активных случаев болезни и был спрогнозирован на 2 июня. Максимальное число новых случаев в период второго подъема заболеваемости в Москве было спрогнозировано на 25 декабря 2020 г. и составило 8237, а фактическое его значение (8203) было зафиксировано 24 декабря (рис. 5). Ошибка MAPE прогнозирования новых случаев в Москве на горизонте прогнозирования 25 декабря 2020 г. – 6 января 2021 г. равна 15,12%.

Заключение

Анализ динамики ежедневного количества новых случаев заболевания COVID-19 показывает, что это изменение в ходе всей эпидемии имеет стохастический характер, является трудно предсказуемым и, как следствие, создает значительную неопределенность в оценке будущих значений этого показателя и эволюции эпидемического процесса. Рассмотренный в работе метод прогнозирования будущих значений процентных приростов общего количества заболевших и общего количества пациентов, завершивших болезнь, был проверен на статистических данных портала стопкоронавирус.рф в период с марта 2020 г. по июнь 2021 г. Построенные в ходе вычислительных экспериментов и описанные в работе ретроспективные 2-недельные прогнозы общего количества заболевших в течение двух пиковых периодов эпидемии, когда нагрузка на систему здравоохранения была максимальной, продемонстрировали достаточно высокую точность. Точность полученных ретроспективных прогнозов общего количества заболевших, построенных в мае, значительно возросла по сравнению

с точностью апрельских прогнозов. Это, по нашему мнению, свидетельствует о том, что выбранный метод прогнозирования динамики процентного прироста общего количества заболевших прошел в апреле стадию обучения на текущих данных и после этого оказался адаптированным к использованию для новых данных, полученных, начиная с мая 2020 г. Применение предлагаемого в работе метода прогнозирования также оказалось достаточно эффективным и при прогнозировании динамики активных случаев болезни и новых случаев в окрестности пиков эпидемии первой и второй волны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Foppa I.M. *A Historical Introduction to Mathematical Modeling of Infectious Diseases: Seminal Papers in Epidemiology*. London: Academic Press; 2016.
2. Shinde G.R., Kalamkar A.B., Mahalle P.N., Dey N., Chaki J., Hassanien A.E. Forecasting models for coronavirus disease (COVID-19): A survey of the state-of-the-art. *SN Comput. Sci.* 2020; 1(4): 197. <https://doi.org/10.1007/s42979-020-00209-9>
3. Kermack W.O., McKendrick A.G. A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proc. R. Soc. (London) A.* 1927; 115(772): 700–21. <https://doi.org/10.1098/rspa.1927.0118>
4. Anderson R.M., May R.M. *Infectious Diseases of Humans. Dynamics and Control*. Oxford: Oxford University Press; 1991.
5. Moein S., Nickaeen N., Roointan A., Borhani N., Heidary Z., Javanmard S.H., et al. Inefficiency of SIR models in forecasting COVID-19 epidemic: a case study of Isfahan. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 4725. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84055-6>
6. Melikechi O., Young A.L., Tang T., Bowman T., Dunson D., Johndrow J. Limits of epidemic prediction using SIR models. *J. Math Biol.* 2022; 85(4): 36. <https://doi.org/10.1007/s00285-022-01804-5>
7. Dil S., Dil N., Maken Z.H. COVID-19 trends and forecast in the Eastern Mediterranean region with a particular focus on Pakistan. *Cureus.* 2020; 12(6): e8582. <https://doi.org/10.7759/cureus.8582>
8. Moftakhar L., Seif M., Safe M.S. Exponentially increasing trend of infected patients with COVID-19 in Iran: A comparison of neural network and ARIMA forecasting models. *Iran J. Public Health.* 2020; 49(Suppl. 1): 92–100. <https://doi.org/10.18502/ijph.v49iS1.3675>
9. Ahmar A.S., Del Val E.B. SutteARIMA: Short-term forecasting method, a case: Covid-19 and stock market in Spain. *Sci. Total Environ.* 2020; 729: 138883. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138883>
10. Chaudhry R.M., Hanif A., Chaudhary M., Minhas S. 2nd, Mirza K., Ashraf T., et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Forecast of an emerging urgency in Pakistan. *Cureus.* 2020; 12(5): e8346. <https://doi.org/10.7759/cureus.8346>
11. Tandon H., Ranjan P., Chakraborty T., Suhag V. Coronavirus (COVID-19): ARIMA-based time-series analysis to forecast near future and the effect of school reopening in India. *J. Health Manag.* 2022; 24(3): 373–88. <https://doi.org/10.1177/09720634221109087>
12. Özen F. Random forest regression for prediction of COVID-19 daily cases and deaths in Turkey. *Heliyon.* 2024; 10(4): e25746. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25746>
13. Galasso J., Cao D.M., Hochberg R. A random forest model for forecasting regional COVID-19 cases utilizing reproduction number estimates and demographic data. *Chaos Solitons Fractals.* 2022; 156: 111779. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2021.111779>
14. Wiczorek M., Silka J., Woźniak M. Neural network powered COVID-19 spread forecasting model. *Chaos Solitons Fractals.* 2020; 140: 110203. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110203>
15. Dadyan E., Avetisyan P. Neural networks and forecasting COVID-19. *Opt. Mem. Neural Networks.* 2021; 30: 225–35. <https://doi.org/10.3103/S1060992X21030085>
16. Tamang S., Singh P., Datta B. Forecasting of COVID-19 cases based on prediction using artificial neural network curve fitting

- technique. *Glob. J. Environ. Sci. Manag.* 2020; 6(S): 53–64. <https://doi.org/10.22034/GJESM.2019.06.SI.06>
17. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семенов Т.А., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В. и др. Закономерности эпидемиологического распространения SARS-CoV-2 в условиях мегаполиса. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(4): 203–11. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-4-203-211> <https://elibrary.ru/fxkaqf>
 18. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семенов Т.А., Плоскирева А.А., Дубоделов Д.В., Тиванова Е.В. и др. Характеристика эпидемиологической ситуации по COVID-19 в Российской Федерации в 2020 г. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2021; 76(4): 412–22. <https://doi.org/10.15690/vramn1505> <https://elibrary.ru/zmowbe>
 19. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Плоскирева А.А., Углева С.В., Семенов Т.А., Пшеничная Н.Ю. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение I: проявления эпидемиологического процесса COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2022; 99(3): 269–86. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-276> <https://elibrary.ru/zxgtfd>
 20. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Колосовская Е.Н., Кудрявцева Е.Н., Семенов Т.А., Плоскирева А.А. и др. Характеристика эпидемиологической ситуации по COVID-19 в Санкт-Петербурге. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2021; 98(5): 497–511. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-154> <https://elibrary.ru/dtmnhz>
 21. Белов А.Б. Академик В.Д. Беляков – основоположник отечественной теории эпидемиологической науки XXI века. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016; 15(6): 9–15. <https://elibrary.ru/xemevf>
 22. Саркисов А.С. Академик В.Д. Беляков и его вклад в развитие эпидемиологии. *Бюллетень национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко.* 2020; (4): 68–72. <https://doi.org/10.25742/NRIPH.2020.04.010> <https://elibrary.ru/qaeczn>
 23. Захаров В.В., Балькина Ю.Е. Балансовая модель эпидемии COVID-19 на основе процентного прироста. *Информатика и автоматизация.* 2021; 20(5): 1034–64. <https://doi.org/10.15622/20.5.2> <https://elibrary.ru/zczxuw>
 24. Zakharov V., Balykina Y., Ilin I., Tick A. Forecasting a new type of virus spread: a case study of COVID-19 with stochastic parameters. *Mathematics.* 2022; 10(20): 3725. <https://doi.org/10.3390/math10203725>
 25. Балькина Ю.Е., Захаров В.В. Интегральная модель притока и оттока и ее приложения. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Прикладная математика. Информатика. Процессы управления.* 2024; 20(2): 121–35. <https://doi.org/10.21638/spbu10.2024.201>
 26. Беляков В.Д., Дегтярев А.А., Иванников Ю.Г. *Качество и эффективность противоэпидемических мероприятий.* Ленинград: Медицина; 1981. <https://elibrary.ru/zferwn>
 27. Foppa I.M. *A Historical Introduction to Mathematical Modeling of Infectious Diseases: Seminal Papers in Epidemiology.* London: Academic Press; 2016.
 28. Shinde G.R., Kalamkar A.B., Mahalle P.N., Dey N., Chaki J., Hassanien A.E. Forecasting models for coronavirus disease (COVID-19): A survey of the state-of-the-art. *SN Comput. Sci.* 2020; 1(4): 197. <https://doi.org/10.1007/s42979-020-00209-9>
 29. Kermack W.O., McKendrick A.G. A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proc. R. Soc. (London) A.* 1927; 115(772): 700–21. <https://doi.org/10.1098/rspa.1927.0118>
 30. Anderson R.M., May R.M. *Infectious Diseases of Humans. Dynamics and Control.* Oxford: Oxford University Press; 1991.
 31. Moein S., Nickaeen N., Roointan A., Borhani N., Heidary Z., Javanmard S.H., et al. Inefficiency of SIR models in forecasting COVID-19 epidemic: a case study of Isfahan. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 4725. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84055-6>
 32. Melikechi O., Young A.L., Tang T., Bowman T., Dunson D., Johndrow J. Limits of epidemic prediction using SIR models. *J. Math Biol.* 2022; 85(4): 36. <https://doi.org/10.1007/s00285-022-01804-5>
 33. Dil S., Dil N., Maken Z.H. COVID-19 trends and forecast in the Eastern Mediterranean region with a particular focus on Pakistan. *Cureus.* 2020; 12(6): e8582. <https://doi.org/10.7759/cureus.8582>
 34. Moftakhar L., Seif M., Safe M.S. Exponentially increasing trend of infected patients with COVID-19 in Iran: A comparison of neural network and ARIMA forecasting models. *Iran J. Public Health.* 2020; 49(Suppl. 1): 92–100. <https://doi.org/10.18502/ijph.v49iS1.3675>
 35. Ahmar A.S., Del Val E.B. SutteARIMA: Short-term forecasting method, a case: Covid-19 and stock market in Spain. *Sci. Total Environ.* 2020; 729: 138883. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138883>
 36. Chaudhry R.M., Hanif A., Chaudhary M., Minhas S. 2nd, Mirza K., Ashraf T., et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Forecast of an emerging urgency in Pakistan. *Cureus.* 2020; 12(5): e8346. <https://doi.org/10.7759/cureus.8346>
 37. Tandon H., Ranjan P., Chakraborty T., Suhag V. Coronavirus (COVID-19): ARIMA-based time-series analysis to forecast near future and the effect of school reopening in India. *J. Health Manag.* 2022; 24(3): 373–88. <https://doi.org/10.1177/09720634221109087>
 38. Özen F. Random forest regression for prediction of COVID-19 daily cases and deaths in Turkey. *Heliyon.* 2024; 10(4): e25746. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25746>
 39. Galasso J., Cao D.M., Hochberg R. A random forest model for forecasting regional COVID-19 cases utilizing reproduction number estimates and demographic data. *Chaos Solitons Fractals.* 2022; 156: 111779. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2021.111779>
 40. Wiczorek M., Silka J., Woźniak M. Neural network powered COVID-19 spread forecasting model. *Chaos Solitons Fractals.* 2020; 140: 110203. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110203>
 41. Dadyan E., Avetisyan P. Neural networks and forecasting COVID-19. *Opt. Mem. Neural Networks.* 2021; 30: 225–35. <https://doi.org/10.3103/S1060992X21030085>
 42. Tamang S., Singh P., Datta B. Forecasting of COVID-19 cases based on prediction using artificial neural network curve fitting technique. *Glob. J. Environ. Sci. Manag.* 2020; 6(S): 53–64. <https://doi.org/10.22034/GJESM.2019.06.SI.06>
 43. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семенов Т.А., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В., et al. Patterns of the SARS-CoV-2 epidemic spread in a megacity. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(4): 203–11. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-4-203-211> <https://elibrary.ru/fxkaqf> (in Russian)
 44. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семенов Т.А., Плоскирева А.А., Дубоделов Д.В., Тиванова Е.В., et al. Characteristics of the COVID-19 epidemiological situation in the Russian Federation in 2020. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2021; 76(4): 412–22. <https://doi.org/10.15690/vramn1505> <https://elibrary.ru/zmowbe> (in Russian)
 45. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Плоскирева А.А., Углева С.В., Семенов Т.А., Пшеничная Н.Ю., et al. Covid-19: the evolution of the pandemic in Russia. Report I: manifestations of the COVID-19 epidemic process. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2022; 99(3): 269–86. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-276> <https://elibrary.ru/zxgtfd> (in Russian)
 46. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Колосовская Е.Н., Кудрявцева Е.Н., Семенов Т.А., Плоскирева А.А., et al. Assessment of the COVID-19 epidemiological situation in St. Petersburg. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2021; 98(5): 497–511. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-154> <https://elibrary.ru/dtmnhz> (in Russian)
 47. Белов А.Б. The academician V.D. Belyakov – the founder of the domestic theory of epidemiological science of the XXI century. *Epidemiologia i Vaksino profilaktika.* 2016; 15(6): 9–15. <https://elibrary.ru/xemevf> (in Russian)
 48. Sarkisov A.S. Academician V.D. Belyakov and its contribution to the development of epidemiology. *Byulleten' natsional'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta obshchestvennogo zdorov'ya imeni N.A. Semashko.* 2020; (4): 68–72. <https://doi.org/10.25742/NRIPH.2020.04.010> <https://elibrary.ru/qaeczn> (in Russian)
 49. Zakharov V., Balykina Y. Balance model of COVID-19 epidemic based on percentage growth rate. *Informatika i avtomatizatsiya.* 2021; 20(5): 1034–64. <https://doi.org/10.15622/20.5.2> <https://elibrary.ru/zczxuw> (in Russian)
 50. Zakharov V., Balykina Y., Ilin I., Tick A. Forecasting a new type of virus spread: a case study of COVID-19 with stochastic parameters. *Mathematics.* 2022; 10(20): 3725. <https://doi.org/10.3390/math10203725>

REFERENCES

25. Balykina Yu.E., Zakharov V.V. Integral inflow and outflow model and its applications. *Prikladnaya matematika. Informatika. Protsesty upravleniya*. 2024; 20(2): 121–35. <https://doi.org/10.21638/spbu10.2024.201> (in Russian)
26. Belyakov V.D., Degtyarev A.A., Ivannikov Yu.G. *Quality and Efficiency of Anti-Epidemic Measures [Kachestvo i effektivnost' protivoepidemicheskikh meropriyatiy]*. Leningrad: Meditsina; 1981. <https://elibrary.ru/zfepwn> (in Russian)

Информация об авторах:

Захаров Виктор Васильевич – д-р физ.-мат. наук, профессор кафедры математического моделирования энергетических систем ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: v.zaharov@spbu.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2743-3880>

Балыкина Юлия Ефимовна✉ – канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры математического моделирования энергетических систем ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: j.balykina@spbu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2143-0440>

Участие авторов: Захаров В.В. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Балыкина Ю.Е. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста.

Поступила 24.09.2024
Принята в печать 14.11.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Victor V. Zakharov – PhD, Professor, Department of Mathematical Modeling of Energy Systems, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: v.zaharov@spbu.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2743-3880>

Yulia E. Balykina✉ – PhD, Associate Professor, Department of Mathematical Modeling of Energy Systems, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: j.balykina@spbu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2143-0440>

Contribution: Zakharov V.V. – study concept and design, experiments, data collection, analysis and interpretation, text preparation; Balykina Yu.E. – study concept and design, experiments, data collection, analysis and interpretation, text preparation.

Received 24 September 2024
Accepted 14 November 2024
Published 26 December 2024

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-266>

© ТЮЛЬКО Ж.С., ФАДЕЕВ А.В., ВАСИЛЕНКО А.Г., ГРАДОБОВА Е.А., ЯКИМЕНКО В.В., КОМИССАРОВ А.Б., 2024



Анализ изменений в геноме вируса омской геморрагической лихорадки (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) при лабораторных практиках сохранения вируса

Тюлько Ж.С.^{1,2✉}, Фадеев А.В.³, Василенко А.Г.¹, Градобоева Е.А.¹, Якименко В.В.¹, Комиссаров А.Б.³¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Россия;²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия;³ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Введение. Омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ) – тяжелое заболевание, выявленное в России в 1940-х гг. в Западной Сибири. Вызывается вирусом ОГЛ, относящимся к роду *Orthoflavivirus*.

Цель работы. Анализ изменений в геноме, связанных с изоляцией штаммов вируса ОГЛ, на лабораторных животных (белых мышах).

Материалы и методы. Использованы полногеномные нуклеотидные последовательности штаммов вируса ОГЛ из рабочей коллекции лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, а также последовательности из GenBank. Оценку изменений в геноме вируса ОГЛ осуществляли при помощи методов дискриминантного анализа, анализируя состав и локализацию появляющихся точечных замен в последовательностях вирусной РНК, полученных при адаптации вирусов к организму мыши в результате пассирования. Связанные нуклеотидные замены выявляли при вычислении взаимной информации для каждой пары столбцов в массиве выровненных нуклеотидных последовательностей. При филогенетическом анализе применяли алгоритм нестрогих (ослабленных) часов программы BEAST.

Результаты. Показано, что точечные замены в случае пассирования в организме мыши возникают во всех частях генома вирусов ОГЛ. Причем многие из них входят в схему связанных замен, выявленную в геноме ОГЛ. Дискриминантный анализ различий в точечных нуклеотидных заменах для групп, объединяющих последовательности по числу пассажей, не позволяет надежно разделять последовательности, полученные из первичного материала (мозга ондатры), и последовательности первых пассажей, но хорошо распознает последовательности, прошедшие 7 и более пассажей, что предполагает возможность адаптивного отбора нуклеотидных замен при взаимодействии с организмом лабораторного хозяина – белой мыши. Расчет средней скорости возникновения замен на сайт в год без учета возникновения адаптационных и связанных замен дает значение 10^{-5} , что почти на порядок отличается от результата, учитывающего их наличие – 10^{-4} .

Заключение. Изменения в нуклеотидных последовательностях ОГЛ, которые возникают при лабораторных практиках сохранения вируса, могут влиять на определяемые значения скорости эволюции при анализе этих последовательностей и требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: вирус омской геморрагической лихорадки; адаптация вируса ОГЛ к организму мыши; дискриминантный анализ; связанные нуклеотидные замены; скорость возникновения замен; филогенетический анализ.

Для цитирования: Тюлько Ж.С., Фадеев А.В., Василенко А.Г., Градобоева Е.А., Якименко В.В., Комиссаров А.Б. Анализ изменений в геноме вируса омской геморрагической лихорадки (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) при лабораторных практиках сохранения вируса. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 509–523. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-266> EDN: <https://elibrary.ru/zfqkev>

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.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (Протокол № 5 от 10.11.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-266>**Analysis of changes in the genome of the Omsk hemorrhagic fever virus (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) during laboratory practices for virus preservation**Zhanna S. Tyulko^{1,2✉}, Artem V. Fadeev³, Aleksei G. Vasilenko¹, Ekaterina A. Gradoboeva¹, Valerii V. Yakimenko¹, Andrey B. Komissarov³¹Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare), 644080, Omsk, Russia;²Omsk State Medical University of the Russian Ministry of Health, 644099, Omsk, Russia;³Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of Russian Federation, 197022, St. Petersburg, Russia**Abstract****Introduction.** Omsk hemorrhagic fever (OHF) is a severe disease identified in the 1940s in Western Siberia, Russia. Disease is caused by the OHF virus, which belongs to the genus *Orthoflavivirus*.**The purpose of the work.** Analysis of changes in the genome associated with the isolation of OHF virus strains in laboratory animals (*Mus musculus*).**Materials and methods.** Whole-genome nucleotide sequences of OHF virus strains from the working collection of the laboratory of arboviral infections of the department of natural focal viral infections of the Omsk Research Institute of Natural Focal Infections of Rospotrebnadzor were used in the study, as well as sequences from GenBank. Assessment of adaptive changes in the genome of the OHF virus was carried out using discriminant analysis methods, analyzing the composition and localization of emerging substitutions in viral RNA sequences obtained during the adaptation of viruses to the mouse organism as a result of passaging. Linked nucleotide substitutions were identified by calculating the mutual information for each pair of columns in the array of aligned nucleotide sequences. In the phylogenetic analysis, the relaxed clock algorithm of the BEAST program was used.**Results.** It has been shown that point substitutions during adaptation of OHF viruses to the mouse organism occur in all parts of the genome. Many of these substitutions are included in the pattern of linked substitutions identified in the genome of the OHF virus. Discriminant analysis of differences in nucleotide substitutions for groups combining sequences by the number of passages does not allow reliable discrimination between original sequences obtained from muskrat and sequences from first passages, but it recognizes well sequences from 7 or more passages, which suggests the possibility of adaptive selection of nucleotide substitutions when interacting with the body of a white mouse. Calculation of the average rate of substitutions per site per year without taking into account the occurrence of adaptive and related substitutions gives a value of 10^{-5} , which is almost an order of magnitude different from the result when their presence is taken into account – 10^{-4} .**Conclusion.** Changes in the nucleotide sequences of OHF that occur during laboratory virus preservation practices may influence the evolutionary rate values determined when analyzing these sequences and require further study.**Keywords:** Omsk hemorrhagic fever virus; OHF virus adaptation to the mouse organism; discriminant analysis; linked nucleotide substitutions; rate of substitutions occurrence; phylogenetic analysis.**For citation:** Tyulko Zh.S., Fadeev A.V., Vasilenko A.G., Gradoboeva E.A., Yakimenko V.V., Komissarov A.B. Analysis of changes in the genome of the Omsk hemorrhagic fever virus (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) during laboratory practices for virus preservation. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 509–523 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-266> EDN: <https://elibrary.ru/zfqkev>**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.** Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the institution, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare) (Protocol No. 5 dated 10.11.2021).**Введение**

Омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ) – тяжелое заболевание, выявленное в России в 1940-х гг. в Западной Сибири [1]. Вызывается вирусом ОГЛ, относящимся к роду *Orthoflavivirus* (семейство Flaviviridae). В период эпизоотических вспышек в популяциях интродуцированного вида – ондатры (*Ondatra zibethicus*) – вирус ОГЛ был выявлен более чем у 30 видов теплокровных животных. Источником инфекции для человека являются ондатра и иксодовые

клещи (во все периоды эпидемической активности природных очагов ОГЛ преобладал нетрансмиссивный путь заражения, в том числе и в первый период регистрации активности вируса в 40–50-х гг. XX века). В эволюционной истории ОГЛ остаются вопросы. В частности, оценка даты происхождения и последующей дивергенции вируса ОГЛ имеет противоречивый характер. Так, время возникновения вируса оценивается по-разному – от 4,5 тыс. лет [2] до 50 лет [3]. Ранее [4] время происхождения вируса ОГЛ было отнесено к XIV веку, а периоды дивергенции виру-

са – к XVII, XIX и началу XX вв. Такой разброс этого показателя связан, прежде всего, с отсутствием возможности адекватного оценивания скорости накопления мутаций, в связи с чем вводятся искусственные условия, определяемые, как правило, точкой зрения автора.

При отсутствии возможности сравнения с предковыми формами, представляется целесообразным изучить и определить мутационные изменения в геноме, связанные с адаптацией вируса к разным системам (позвоночные – членистоногие, разные группы хозяев из числа позвоночных), и мутации, не связанные с адаптацией к разным организмам. В частности, нами предпринята попытка оценить изменения в геноме, связанные с изоляцией штаммов вируса на лабораторных животных (белых мышах). Предполагая реверсивный характер этих мутаций, мы попытались оценить сроки происхождения и дивергенции вируса ОГЛ на основании исключения из анализа мутаций этого типа, а также связанных с данными мутациями изменений в других областях генома. О наличии связанных замен в геноме ортофлавириусов сообщалось ранее [5].

В настоящее время влияние различных ортофлавириусов на организмы специфичных и случайных хозяев, и в частности, на клетки хозяина, изучено достаточно хорошо [6, 7]. Подобные исследования проводились как на лабораторных животных, так и в культурах клеток [6, 8]. Однако об особенностях адаптации большинства ортофлавириусов к их резервуарным хозяевам известно намного меньше и совсем мало информации о влиянии на вирус его случайных хозяев. При взаимодействии флавириусов с клетками инфицированного животного происходят многочисленные изменения в геноме вируса, которые могут затрагивать как кодирующую, так и некодирующую части генома [9–13].

Цель работы – анализ изменений в геноме, связанных с изоляцией штаммов вируса ОГЛ, на лабораторных животных (белых мышах).

Материалы и методы

Для первоначального изучения возможного влияния организма мыши на геном вируса ОГЛ проводили анализ нуклеотидных последовательностей вируса ОГЛ, полученных от инфицированных ондатр в 2007 г. в первичном материале от *O. zibethicus* (мозг – 3 последовательности); от инфицированных белых мышей (*Mus musculus*) при первичном заражении (мозг – 7; урина – 1) и после первого (мозг – 9; урина – 1) и второго пассажей (мозг – 4) в процессе изоляции штаммов вируса ОГЛ (в табл. 1 эти последовательности представлены под номерами 22–46). Таким образом, оценку изменений в геноме вируса осуществляли на основе анализа состава и локализации в геноме вируса точечных мутаций в серии последовательностей, полученных из первичного материала от ондатр и (или) при изоляции возбудителя на этапах первичного заражения, первого и второго пассажей из органов, крови и (или) урины лаборатор-

ных животных (новорожденные белые мыши). После этого проводили расширенный анализ нуклеотидных замен с привлечением полноразмерных последовательностей вирусов ОГЛ, полученных в другие годы (табл. 1), для выявления возможной связи мутаций, возникающих при взаимодействии с организмом мыши, с типичной локализацией наиболее частых замен или наличием связанных замен в геноме ОГЛ.

Всего в исследовании были использованы нуклеотидные последовательности геномов штаммов вируса ОГЛ (полногеномные последовательности 62 штаммов) из рабочей коллекции лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (табл. 1). Рабочая коллекция включает штаммы периодов эпидемической и эпизоотической активности природных очагов ОГЛ и межэпидемических периодов, начиная с 1946 г., когда вирус был описан как самостоятельная нозологическая форма [14]. Штаммы вируса были изолированы в Новосибирской, Омской и Курганской областях от разных источников возбудителя. Кроме штамма «Боголюбовка» (Bogolubovka), остальные штаммы были изолированы сотрудниками института в разные периоды времени. В анализе также использовали 9 последовательностей вируса ОГЛ, имеющих свободный доступ в GenBank (в скобках – обозначение на рисунках): AB507800 (HS_B_Guriev_AB507800_O_1948), OP037815 (HS_B_Guriev_OP037815_O_1948), MW847419 (Oz_Nikitina_MW847419), MT350781 (Nikitina_MT350781), AY193805 (t_Bogolubovska_AY193805), NC_005062 (t_Bogolubovska_NC_005062), AY438626 (Hs_B_Kubrin_1947), AY323489 (Bogolubovka), OP292291 (OZ_MO-1007_O_2004).

Из 62 полноразмерных последовательностей вируса ОГЛ (табл. 1) 3 были взяты из мозга ондатр, погибших во время эпизоотии (декабрь 2007 г., Омская область, Тюкалинский – Крутинский районы, оз. Салтаим-Тенис). Остальные представляют собой РНК вируса из мозга или урины (один образец) белых мышей, полученную при изоляции штаммов вируса методом биопробы в разные периоды эпидемической и эпизоотической активности природных очагов ОГЛ. Источник, время и место изоляции штаммов отражены в табл. 1.

Изоляцию вируса проводили на сосунках (2–3 сут от рождения) беспородных белых мышей, путем интрацеребрального заражения 10% суспензией первичного материала (органов, крови и (или) урины павших ондатр) или (в дальнейшем, при проведении пассажей, мозга белых мышей с клиническими признаками заболевания). В качестве источника РНК вируса ОГЛ использовали 10% суспензию мозга ондатр (первичный материал) или (и) сосунков белых мышей с клиническими признаками заболевания от первичного заражения (0 пассаж) и последующих пассажей.

Образцы органов для выделения РНК гомогенизировались и представляли собой суспензию на среде 199, образцы урины не подвергали предварительной обработке. Выделение РНК проводили из 130 мкл су-

Таблица 1. Происхождение анализируемых последовательностей

Table 1. Origin of analyzed sequences

№	Код доступа Accession number (VGARus и GenBank)	Обозначение на схемах Designation in figures	Год извлечения Year of isolation	Лабораторный хозяин (пассаж, орган) Laboratory host (passage, organ)
1.	onii004151	Oz-41_Br_9724_O_2000	2000	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
2.	onii004143	Oz-2_Br_10371_O_2001	2001	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
3.	onii004170	t-Balangul_O_1955	1955	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
4.	onii004156	Mr-506_Br_11400_O_2003	2003	<i>Mus musculus</i> (4, мозг brain)
5.	onii004155	Oz_S20-10530_O_2000	2000	<i>Mus musculus</i> (5, мозг brain)
6.	onii004167	Hs_BI-4-4710_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
7.	onii004148	Oz-32_Kd_10797_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
8.	onii004146	Oz-31_Kd_10866_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (3, мозг brain)
9.	onii004171	Oz-40_Br_9725_O_1999	1999	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
10.	onii004152	Oz-58_Br_10469_O_2001	2001	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
11.	onii004150	Oz-39_Br_9723_O_2000	2000	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
12.	onii004169	t_Krutinka_O_1973	1973	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
13.	onii004168	Hs_B_Goloshubina_O_1948	1948	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
14.	onii004153	Oz-351-Ur-11707_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
15.	onii004144	Oz-3_Br_10360_O_2001	2001	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
16.	onii004149	Oz-37_Br_9721	2000	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
17.	onii004154	Oz_Br_8341_Kurgan_K_1972	1972	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
18.	onii004141	Mo-1003_Br_5857-58_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (3, мозг brain)
19.	onii004142	AS_G-26_5143_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
20.	onii004147	Oz_Br-32-2106_N_1989	1989	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
21.	onii004145	Oz-29_Br_2101_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
22.	OL689381	Oz_BI-351/11704_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, урина urine)
23.	OL689372	Oz_BI-352/13981_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
24.	OL689373	Oz_Br-352/11656_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
25.	OL689383	Oz_Br-352/352_O_2007	2007	Первичный материал Primary sample
26.	OL689379	Oz_Br-353-0/11661_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
27.	OL689380	Oz_Br-353-1/13973_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
28.	OL689378	Oz_Ur-353/13965_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (3, мозг brain)
29.	OL689387	Oz_Br-354/354_O_2007	2007	Первичный материал Primary sample
30.	OL689388	Oz_Br-354/11662_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
31.	OL689366	Oz_Br-356-1/13959_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
32.	OL689367	Oz_Br-356-2/13971_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
33.	OL689376	Oz_Br-356-1/13969_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
34.	OL689377	Oz_Br-356-2/13964_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
35.	OL689368	Oz_Br-356-0/13957_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
36.	OL689374	Oz_Ur-356-0/13977_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
37.	OL689375	Oz_Ur-356-1/13980_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
38.	OL689365	Oz_Liv-356-1/13955_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
39.	OL689364	Oz_Liv-356-0/13967_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
40.	OL689386	Oz_Ur-359/13965_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
41.	OL689384	Oz_Br-361/361_O_2007	2007	Первичный материал Primary sample
42.	OL689385	Oz_Br-361/13948_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)

Продолжение табл. 1 см. на стр. 513.

№	Код доступа Accession number (VGARus и GenBank)	Обозначение на схемах Designation in figures	Год извлечения Year of isolation	Лабораторный хозяин (пассаж, орган) Laboratory host (passage, organ)
43.	OL689370	Oz_Liv-362/13943_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
44.	OL689371	Oz_Liv-362/13952_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
45.	OL689369	Oz_Kid-362/13944_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
46.	OL689382	Oz_Ur-353/13977_O_2007	2007	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
47.	MT354615	Oz_P-15/2213_N_1990	1990	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
48.	MT354618	Oz_M-19/5099_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (5, мозг brain)
49.	MT354622	Oz_B-41/9687_O_2000	2000	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
50.	MT354623	Oz_B-37/9866_O_1999	1999	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
51.	MT354624	Oz_B-30/10146_N_1990	1990	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
52.	MT354626	Mo_pr.1007/10817_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (4, мозг brain)
53.	MT354627	Oz_362B1/362B1_O_2007	2007	Первичный материал Primary sample
54.	MT354628	Oz_42M/9722_O_1999	1999	<i>Mus musculus</i> (2, мозг brain)
55.	MT354629	Oz_17N/11153_O_2002	2002	<i>Mus musculus</i> (7, мозг brain)
56.	MT354620	m_G17/10783_N_1991	1991	<i>Mus musculus</i> (1, мозг brain)
57.	MT354621	Oz_Veselov- ka-753/T1084_N_1963	1963	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
58.	MT354625	Oz_Br-1/10186_K_1992	1992	<i>Mus musculus</i> (3, мозг brain)
59.	MT354616	OZ-97/11285_O_2004	2004	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
60.	MT354617	OZ-96/11293_O_2004	2004	<i>Mus musculus</i> (0, мозг brain)
61.	MT354619	t_Kabyrdak-39/10944_O_1962	1962	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)
62.	MT354614	t_Bogolubovka/1048_O_1948	1948	<i>Mus musculus</i> (–, мозг brain)

Примечание. В таблице представлены обозначения (3-й столбец), используемые при построении деревьев. В начале обозначения содержится указание на организм из которого получен вирус: OZ – *Ondatra zibethicus*, HS – *Homo sapiens*, AS – *Aedes subdiversus*, MO – *Microtus oeconomus*, t – клещи, m – комар; далее, если есть информация, указан орган из которого произошло извлечение биоматериала: B1 – кровь, Br – мозг, Liv – печень, Kid – почки, Ur – урина; следующим идет буквенно-цифровое обозначение изолята; обозначение области, где был получен вирус: N – Новосибирская, O – Омская, K – Курганская; год получения первичного материала, из которого получены штаммы вируса или вирусная РНК. Коды доступа последовательностей, размещенных на платформе VGARus (<https://www.crie.ru/about/aggregation/vgarus.php>), расположены в строках таблицы под номерами с 1 по 21; в строках таблицы под номерами с 22 по 62 расположены коды доступа последовательностей, размещенных в GenBank.

Note. The table presents the names (3rd column) used in constructing trees. The name begins with an indication of the organism from which the virus was isolated: OZ – *Ondatra zibethicus*, HS – *Homo sapiens*, AS – *Aedes subdiversus*, MO – *Microtus oeconomus*, t – ticks, m – mosquito; then, if information is available, the organ from which the biomaterial was extracted is indicated: B1 – blood, Br – brain, Liv – liver, Kid – kidneys, Ur – urine; next comes the alphanumeric name of the isolate; the name of the region where the virus was isolated: N – Novosibirsk, O – Omsk, K – Kurgan; the year of receipt of the primary material from which the virus strains or viral RNA were obtained. Access codes for sequences placed on the VGARus platform (<https://www.crie.ru/about/aggregation/vgarus.php>) are located in the table rows under numbers 1 through 21; access codes for sequences placed in GenBank are located in the table rows under numbers 22 through 62.

спензии и полного объема урины на колонках Qiagen QIAamp Viral RNA Mini (Qiagen, Нидерланды). Далее проводили полногеномную амплификацию с «Био-Мастер ОТ-ПЦР-Премиум (2Ч)» (Биолабмикс, Новосибирск) по протоколу 45° – 30 мин; 93° – 5 мин; 93° – 10 с, 56° – 30 с, 68° – 2 мин 30 сек (45 циклов); 68° – 7 мин. Последовательности использованных праймеров указаны в **таблице S1**, находящейся в дополнительном файле.

Для проведения амплификации праймеры были сгруппированы в два пула – пары 1, 3, 5, 7, 9, 11 и пары 2, 4, 6, 8, 10, 12. В реакцию брали 5 мкл выделенной РНК, 2,5 мкл пула праймеров в концентрации 10 пмоль/мкл и 17,5 мкл ОТ-ПЦР смеси. Результаты оценивали по кривой плавления с SYBR Green и, дополнительно, методом электрофореза в агарозном геле.

Для пробоподготовки к секвенированию Oxford Nanopore использовали наборы реагентов Ligation

Sequencing kit 1D (SQK-LSK109) и Native Barcoding Expansion 1-96 (EXP-NBD196) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Секвенирование проводили на приборе Oxford Nanopore MinION с проточной ячейкой R9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) согласно рекомендациям производителя.

Подготовку библиотек для секвенирования Illumina осуществляли с использованием набора реагентов Illumina DNA Prep и IDT for Illumina DNA UD Indexes (Illumina, США). Секвенирование проводили на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США) с использованием набора MiSeq Reagent Kit v3 600-cycle (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Для получения сборки консенсусных последовательностей из данных секвенирования Illumina использовали программы BWA-MEM [15], SAMtools [16] и iVar [17].

Для получения консенсусных последовательностей из данных секвенирования Oxford Nanopore применяли программы Minimap2 [18], SAMtools, iVar, Medaka [<https://github.com/nanoporetech/medaka>] и BCFtools [19]. Полученные консенсусные последовательности были депонированы в международной базе данных NCBI GenBank с кодами доступа, приведенными в табл. 1.

Полученные полноразмерные нуклеотидные последовательности ОГЛ выравнивали с использованием программы Clustal, с помощью которой было рассчитано филогенетическое дерево (метод BOOTSTRAP N-J TREE). Для построения дерева была добавлена нуклеотидная последовательность вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) сибирского подтипа с кодом доступа JN003209 (Irkutsk-12).

Далее в выравнивании определяли координаты столбцов, в которых регистрировалось наличие замен. Содержимое этих столбцов анализировали при помощи методов дискриминантного анализа как значения категориальных переменных, а каждую последовательность рассматривали как объект, который описывается этими категориальными переменными (тип нуклеотидов). Дискриминантный анализ позволяет изучать различия между несколькими группами объектов (в нашем случае между группами нуклеотидных последовательностей) по значениям числовых или нечисловых переменных, описывающих объекты (в нашем случае значения каждой нечисловой переменной соответствуют типам нуклеотидов в столбце выровненных последовательностей) [20], а также интерпретировать межгрупповые различия и определять вклад каждой переменной при классификации объектов. После проведения анализа строили диаграммы рассеяния значений дискриминантных функций, рассчитанных для каждой кодирующей последовательности ОГЛ. По оси абсцисс на диаграммах рассеяния отложены значения дискриминантной функции f_1 , по оси ординат – f_2 для каждой последовательности, представленной точкой на этих диаграммах. Анализ проводили с помощью модуля «Общие модели дискриминантного анализа» (general discriminant analysis) программы Statistica 6.0.

Столбцы, в которых регистрировалось наличие замен, т.е. наличие различающихся нуклеотидов в одном и том же столбце в массиве выровненных последовательностей, также сравнивали между собой для выявления наличия связанных замен при помощи подсчета взаимной информации для каждой пары столбцов [21].

Координаты, соответствующие выявленным связанным заменам, сравнивали с координатами замен, важных для межгрупповых различий, которые были выявлены при проведении дискриминантного анализа. Полученную схему сопоставляли с известными описаниями замен из доступных литературных источников, возникающих при адаптации ВКЭ к разным хозяевам и тканям.

При дальнейшем проведении филогенетического анализа применяли алгоритм нестрогих (ослабленных) часов (relaxed molecular clock/uncorrelated log-

normal) программы BEAST и программы MCMC Tree в пакете PAML [22], использующих байесовские методы для оценки времени дивергенции.

При оценке скорости возникновения мутаций создавали 30 выборок, в каждой из которых осуществляли 20 млн реализаций цепи Маркова, с шагом в 1000 эти деревья записывали в лог-файл, из рассмотрения исключали первые 10% генерируемых деревьев (параметр «burn in percentage»), а также шел отбор деревьев при помощи «marginal likelihood estimators». Отобранные эволюционные деревья максимальной достоверности клады суммировали с помощью подпрограммы TreeAnnotator v. 2.7.6. По полученному дереву вычисляли итоговые оценки скорости возникновения мутаций.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (Протокол № 5 от 10.11.2021).

Результаты

Филогенетический анализ

Сравнение полноразмерных нуклеотидных последовательностей ОГЛ показывает разделение их на 3 основных подтипа (рис. 1), различие которых друг от друга находится в пределах 10–11% и соответствует данным, полученным ранее по меньшим выборкам или гену *E* [4, 23, 24].

При этом не наблюдали явной связи между количеством различающихся нуклеотидов в последовательностях и годом или местом их извлечения, что затрудняет получение эволюционной временной шкалы для вируса ОГЛ. Кроме того, по дереву на рис. 1 нельзя однозначно утверждать, что наличие этих различий связано с адаптацией к организму того хозяина, из которого был извлечен биоматериал, возможно из-за недостаточного количества последовательностей, полученных не от *O. zibethicus*. Отличия всех подтипов от ближайшего вида ортофлавивирусов (ВКЭ) составляет 20%.

Анализ замен, наблюдаемых в последовательностях вирусной РНК, полученной из первичного материала от *Ondatra zibethicus*

Нуклеотидные последовательности OL689387, OL689384, OL689383 получены из первичного материала (мозг ондатры, погибших во время эпизоотии в декабре 2007 г.). Их нуклеотидные последовательности различались незначительно: OL689383 и OL689387 – 5 замен, OL689384 и OL689387 – 41 замена, OL689383 и OL689384 – 42 замены. Синонимичные и несинонимичные замены локализовались в разных частях генома и во всех генах, кодирующих вирусные белки. Число аминокислотных замен при сравнении: OL689383 и OL689387 – 1 замена, OL689384 и OL689387 – 13 замен, OL689383 и OL689384 – 14 замен.

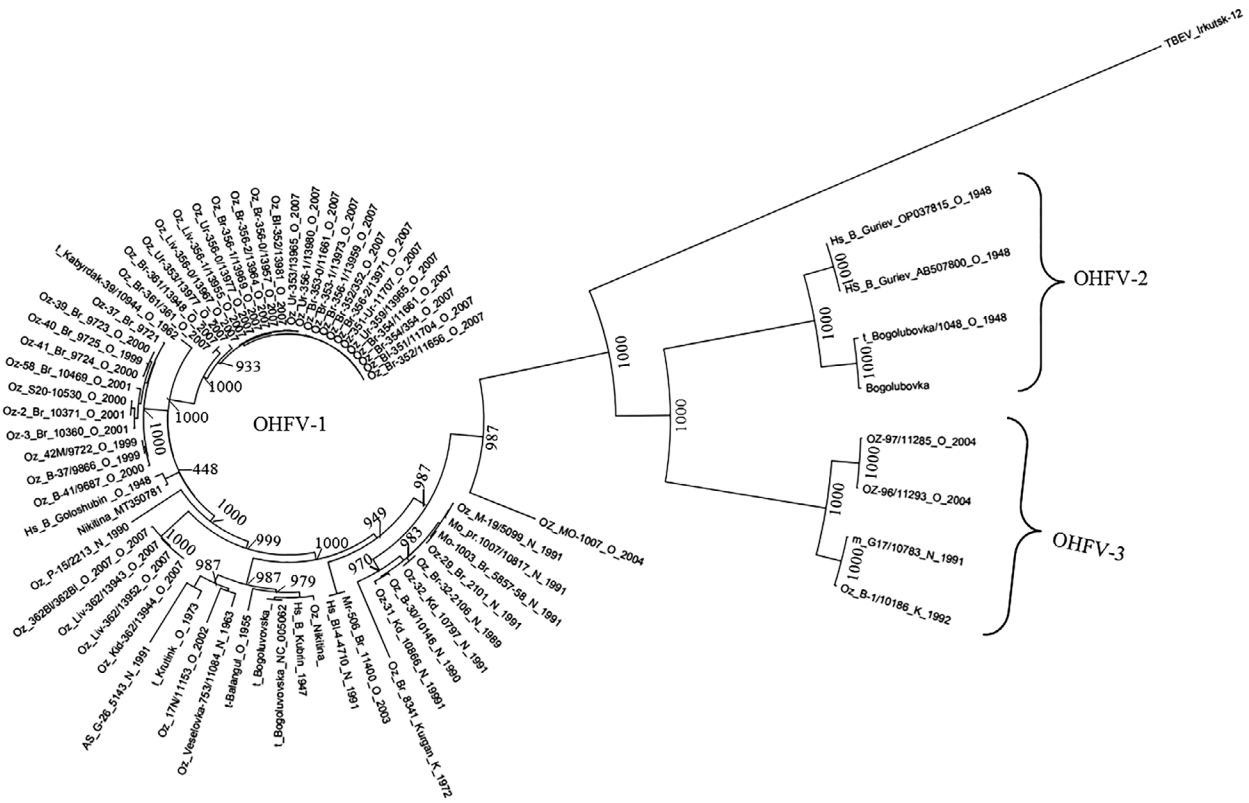


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное по кодирующей части нуклеотидной последовательности вирусов ОГЛ.

В узлах указаны значения бутстреп-поддержки. Указана принадлежность последовательностей к основным подтипам вируса ОГЛ: OHFV-1, OHFV-2, OHFV-3.

Fig. 1. Phylogenetic tree constructed based on the coding part of the nucleotide sequence of OHF viruses. Bootstrap values are indicated for tree nodes.

The sequences belong to the main subtypes of the OHF virus: OHFV-1, OHFV-2, OHFV-3.

К сожалению, не удалось отследить непрерывную цепочку изменений, которые могут возникать при пассировании вирусов от первичного материала к последующим пассажирам, т.к. отсутствовали либо последовательности из первичного материала, либо из первичного заражения, либо определенные пассажи.

В связи с этим было проведено сравнение количества различий в последовательностях, полученных из первичного материала, и имеющих последовательностей, полученных из организма мыши после их заражения, от этого первичного материала. При этом было обнаружено, что пассирование вируса в организме мыши может приводить к некоторому уменьшению числа различий между пассированными последовательностями по сравнению с последовательностями из первичного материала, от которых они были получены (рис. 2).

Замены, которые возникли при пассировании в организме мыши у вирусов Oz_Br-354/11661_O_2007 и Oz_Br-352/11656_O_2007, являются синонимичными и возникли в сайтах с номерами (5814, 6208, 9201) и (894, 7341, 9477) соответственно.

У вируса Oz_Br-361/13948_O_2007 замены оказались несинонимичными и расположены в сайтах с номерами 9478 и 9482.

Общий анализ замен, возникающих при пассировании в организме мыши

Оценку изменений в геноме вируса ОГЛ осуществляли, анализируя состав и локализацию появляющихся точечных замен в вирусной РНК последовательностей, полученных при адаптации вирусов к организму мыши (в табл. 1 номера 22–46). В результате было показано, что точечные замены возникают во всех частях генома: в генах, кодирующих как структурные, так и неструктурные белки. Всего было выявлено 253 сайта, в которых возникли мутации. Большинство этих мутаций являлись синонимичными, только 41 сайт из 253 содержал несинонимичные мутации (табл. 2).

Для проверки предположения о возможном влиянии процесса адаптации генома вируса ОГЛ к организму хозяина был проведен дискриминантный анализ для полученных 25 полноразмерных нуклеотидных последовательностей мРНК ОГЛ (в табл. 1 номера 22–46).

Дискриминантный анализ различий в точечных нуклеотидных заменах для групп, объединяющих последовательности по типу органов, из которых они были получены от ондатр (1-я группа – почки и урина, 2-я группа – мозг, 3-я группа – кровь), не показал значимых различий между ними.

Проведенный дискриминантный анализ точечных замен при разбиении всех последовательностей на 3 груп-

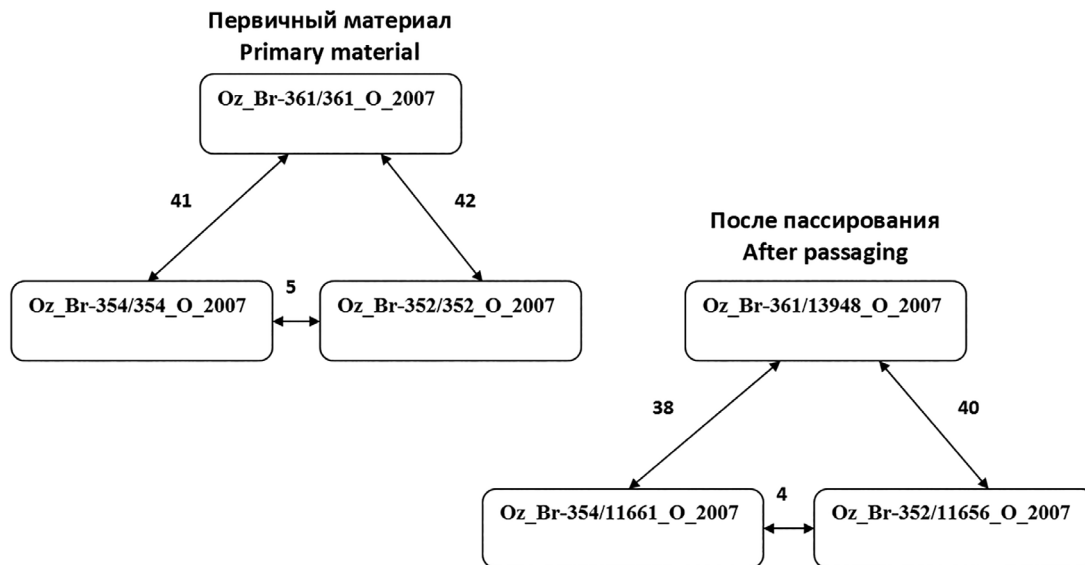


Рис. 2. Количество различающихся нуклеотидов при сравнении кодирующих последовательностей вирусов ОГЛ.

Количество различающихся нуклеотидов указано на стрелках схемы.

Fig. 2. The number of different nucleotides when comparing the coding sequences of OHF viruses.

The number of different nucleotides is indicated on the arrows in the diagram.

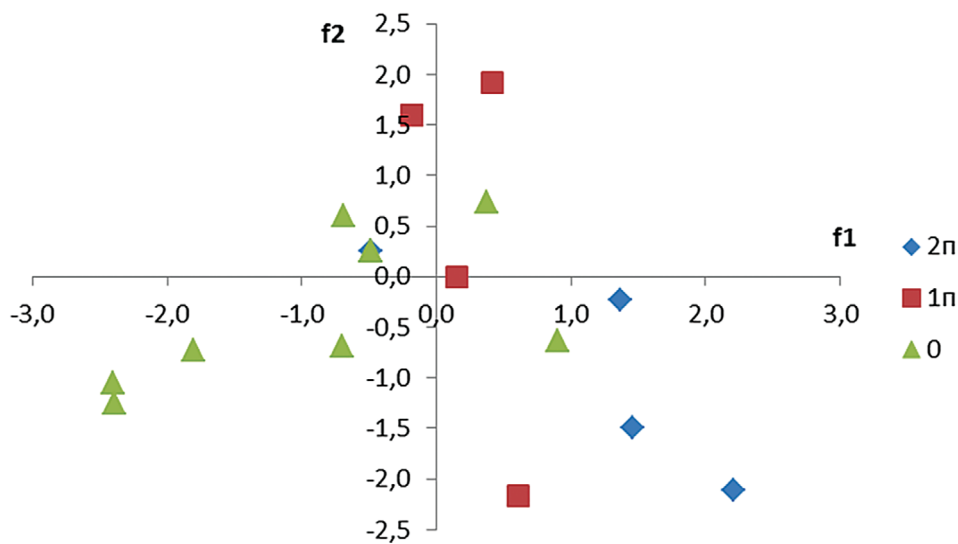


Рис. 3. Диаграмма рассеяния для нуклеотидных последовательностей мРНК вируса ОГЛ в пространстве первой (f1) и второй (f2) дискриминантных функций

0 – последовательности, полученные из первичного материала от ондатры и после первичного заражения мыши (0 пассаж); 1п – последовательности первого пассажа в организме белой мыши; 2п – последовательности второго пассажа в организме белой мыши.

Fig. 3. Scatterplot for mRNA nucleotide sequences of the OHF viruses in space, where the coordinates along the horizontal axis are the values of the discriminant function f1, and along the vertical axis the values of the discriminant function f2, calculated for each viral nucleotide sequence.

0 – sequences obtained from muskrat and sequences of the 0 passage in the body of a white mouse; 1п – sequences of the first passage in the body of a white mouse; 2п – sequences of the second passage in the body of a white mouse.

пы (0 – последовательности, полученные из первичного материала от ондатры и после первичного заражения мыши (0 пассаж); 1п – после первого пассажа в организме белой мыши; 2п – после второго пассажа в организме белой мыши) выявил значимые отличия (уровень значимости $p \leq 15\%$), между последовательностями,

полученными от ондатры, и последовательностями второго пассажа на белой мыши из этих же линий (рис. 3). При этом качество дискриминации довольно низкое и допускает случаи неправильной классификации последовательностей, т.к. отдельные последовательности далеко отстоят от центроидов своих групп и попада-

Таблица 2. Сайты, в которых возникли мутации (значения координат отложены от первого нуклеотида выровненных кодирующих последовательностей вирусов)

Table 2. Sites where mutations occurred (coordinate values are plotted from the first nucleotide of the aligned viral coding sequences)

Ген Gene	Координата Coordinate	Нуклеотидная замена Nucleotide substitution	Аминокислотная замена Amino acid substitution
M	<u>617</u>	<u>C↔T</u>	<u>S↔L</u>
	<u>761</u>	<u>C↔T</u>	<u>T↔I</u>
E	894	C↔T	–
	1657	T↔C	–
	2145	G↔A	–
NS1	<u>2298</u>	<u>A↔G</u>	–
	2457	C↔T	–
	2544	A↔C	–
	3046	T↔G	S↔A
NS2a	<u>3546</u>	<u>T↔G</u>	<u>H↔Q</u>
	3690	A↔G	–
NS2b	4257	T↔C	–
	4485	T↔C	–
NS3	5118	T↔C	–
	5814	T↔C	–
	5816	C↔G	T↔R
	<u>5946</u>	<u>T↔A</u>	–
	6208	T↔C	–
NS4b Полимераза Polymerase	7341	C↔T	–
	<u>8148</u>	<u>G↔A</u>	–
	<u>8379</u>	<u>T↔C</u>	–
	<u>8388</u>	<u>C↔G</u>	–
	<u>8695</u>	<u>T↔C</u>	<u>C↔R</u>
	<u>8823</u>	<u>A↔T</u>	–
	<u>8890</u>	<u>C↔T</u>	<u>H↔Y</u>
	<u>9106</u>	<u>T↔C</u>	–
	9201	C↔T	–
	9477	A↔G	–
	9486	A↔C	Q↔H
	9786	G↔A	–
	10027	A↔G	S↔G
	10110	A↔G	–
	<u>10125</u>	<u>T↔C</u>	–
10240	T↔C	–	

Примечание. Указаны сайты, в которых у 4 и более последовательностей возникли мутации при адаптации к организму мыши. В колонке «аминокислотная замена» ставится прочерк, если замена является синонимичной. Подчеркиванием выделены сайты, которые задействованы в схеме связанных нуклеотидных замен. Координаты сайтов задавались от первого нуклеотида кодирующей последовательности с кодом доступа OL689365 в GenBank. Тип замен в столбцах «нуклеотидная замена» и «аминокислотная замена» указан в виде: «A↔G», где первая буква соответствует последовательности OL689365, а вторая – имеющемуся варианту в других последовательностях.

Note. The sites are indicated where mutations occurred in four or more sequences during adaptation to the mouse organism. A dash is put in the “amino acid substitution” column if the substitution is synonymous. The sites that are involved in the pattern of linked nucleotide substitutions are highlighted with underlining. The coordinates of the sites are specified according to the coding region of the reference sequence (GenBank accession number OL689365). The type of substitutions in the “nucleotide substitution” and “amino acid substitution” columns is indicated as: “A↔G”, where the first letter corresponds to the OL689365 sequence, and the second – to the variant present in other sequences.

ют в область перекрытия всех трех групп, что соответствует случаю ошибочной классификации (рис. 3). Как видно на рис. 3, главный вклад в дискриминацию вносит функция f1, использование функции f2 не дало значимых результатов. В этой связи были рассмотрены также различия двух составных групп: в 1-й группе объединены последовательности, полученные из первичного материала (мозг павших от ОГЛ ондатр) и из мозга зараженных белых мышей при первичном заражении; во 2-й группе – последовательности из мозга заражен-

ных белых мышей на первом и втором пассажах в процессе изоляции штаммов вируса. В этом случае дискриминация заметно улучшается (уровень значимости $p \leq 5\%$) и число случаев неправильной классификации последовательностей становится меньше.

Для проверки предположения о влиянии количества пассажей на возникновение изменений в геноме ОГЛ был проведен дополнительный анализ всех нуклеотидных последовательностей ОГЛ, для которых имелись данные о количестве пассажей (табл. 1). Для последователь-

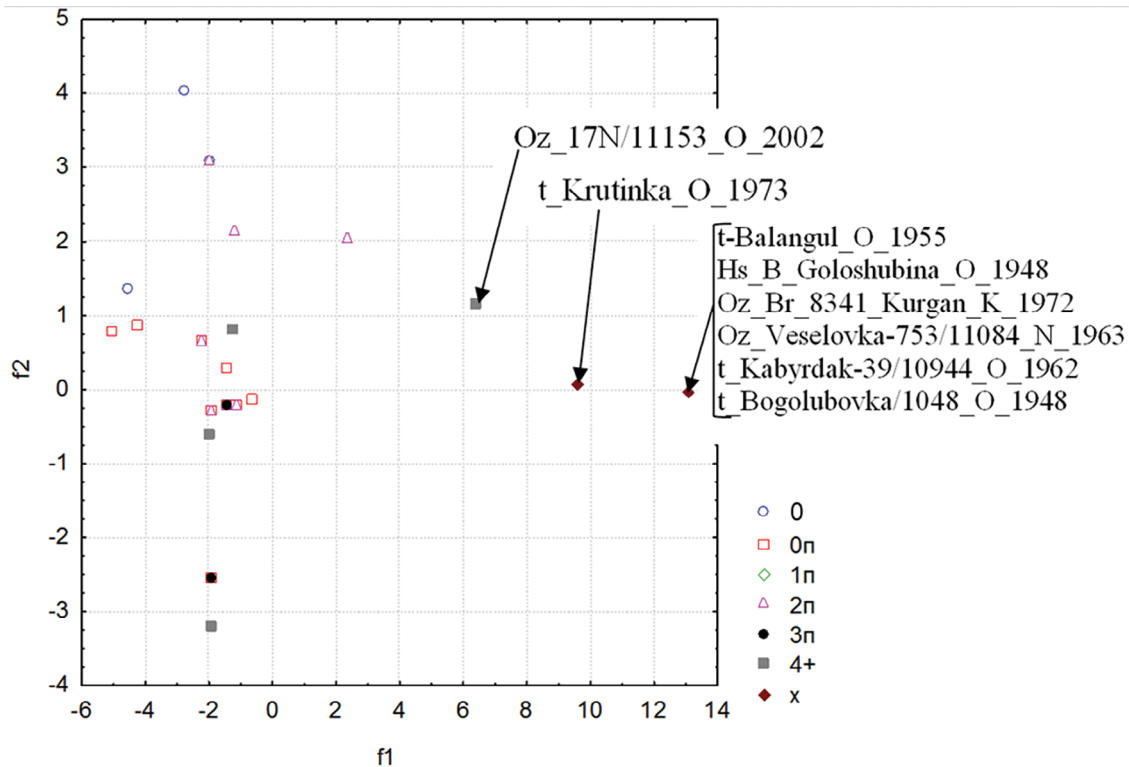


Рис. 4. Диаграмма рассеяния для нуклеотидных последовательностей мРНК вируса ОГЛ в пространстве первой (f1) и второй (f2) дискриминантных функций

0 – последовательности, полученные из первичного материала от ондатры; 0п – последовательности нулевого пассажа в организме белой мыши; 1п – последовательности первого пассажа в организме белой мыши; 2п – последовательности второго пассажа в организме белой мыши; 3п – последовательности третьего пассажа в организме белой мыши; 4+ – последовательности четвертого и большего количества пассажей в организме белой мыши; x – последовательности с неизвестным числом пассажей.

Fig. 4. Scatterplot for mRNA nucleotide sequences of the OHF viruses in space, where the coordinates along the horizontal axis are the values of the discriminant function f1, and along the vertical axis the values of the discriminant function f2, calculated for each viral nucleotide sequence

0 – sequences obtained from muskrat; 0п – sequences of the 0 passage in the body of a white mouse; 1п – sequences of the first passage in the body of a white mouse; 2п – sequences of the second passage in the body of a white mouse; 3п – sequences of the third passage in the body of a white mouse; 4+ – sequences of the fourth and higher number of passages in the body of a white mouse; x – sequences with an unknown number of passages.

ностей t-Balangul_O_1955, t_Krutinka_O_1973, Hs_B_Goloshubina_O_1948, Oz_Br_8341_Kurgan_K_1972, Oz_Veselovka-753/11084_N_1963, t_Kabyrdak-39/10944_O_1962, t_Bogolubovka/1048_O_1948 предполагалось количество пассажей, намного большее, чем указано в табл. 1, далее на схемах эта группа обозначается символом «x».

По результатам дискриминантного анализа видно (рис. 4), что начиная с 7-го пассажа (Oz_17N/11153_O_2002) изменения в нуклеотидных последовательностях ОГЛ становятся настолько значительными, что классифицируемые последовательности можно выделять в отдельные группы. Причем последовательности t-Balangul_O_1955, Hs_B_Goloshubina_O_1948, Oz_Br_8341_Kurgan_K_1972, Oz_Veselovka-753/11084_N_1963, t_Kabyrdak-39/10944_O_1962, t_Bogolubovka/1048_O_1948 занимают на схеме практически одно положение, хотя принадлежат к разным кластерам филогенетического дерева. Это предположительно может означать закрепление в их геноме схожих нуклеотидных замен в ходе длительного пассирования. Как видно

на рис. 4, главный вклад в дискриминацию вносит функция f1.

Функция f2 и остальные дискриминантные функции не позволяют провести надежную дискриминацию последовательностей (группы последовательностей сильно перекрываются).

Был проведен также дискриминантный анализ последовательностей отдельно по структурным и неструктурным генам. При этом менялись расстояния между отдельными последовательностями, но общая картина сохранялась аналогичной рис. 4.

Это позволяет предположить наличие положительного отбора, который проявляется при пассировании, ведущего к накоплению мутаций вдоль всей кодирующей последовательности в процессе адаптации к новому хозяину.

Возможно, что обнаруженные замены и их местоположение не являются типичными при адаптации к любому новому хозяину и отличаются для разных хозяев, что требует дальнейшего исследования. Ранее уже было показано на примере ВКЭ, что вновь возникающие мутации не являются единственно необхо-

димыми для адаптации к той или иной клеточной системе и могут встречаться в единичных случаях [25].

Кроме того, для ВКЭ и некоторых других ортофлавириусов было показано, что разные варианты последовательностей сосуществуют в одном организме-хозяине как квазивиды, разные по численности [9]. И нуклеотидные изменения, выявленные в полногеномных последовательностях новых вариантов, присутствуют наряду с нуклеотидной последовательностью, несущей особенности родительского штамма («дикий тип» вируса), т.е. ортофлавириус вероятно существует в организме любого хозяина в виде гетерогенной популяции, содержащей варианты вируса, предварительно адаптированные к размножению в различных средах, что способствует выживанию вируса в организмах клещей и млекопитающих. Возможно, то же справедливо и для вируса ОГЛ.

Выявление связанных замен

Обнаружено наличие связанных замен, возникающих в геноме ОГЛ, продемонстрированное ранее для других ортофлавириусов [26], но не выявленное прежде у вирусов ОГЛ из-за недостаточного количества полноразмерных нуклеотидных последовательностей. Для этого подсчитывали значение взаимной информации [21] для каждой пары столбцов в массиве всех выровненных полноразмерных кодирующих последовательностей ОГЛ (к 62 последовательностям из табл. 1 были добавлены 9 последовательностей из GenBank, упомянутых в разделе «Материалы и методы»), по которому определяли сходство при возникновении нуклеотидных замен в этих позициях.

Большинство связанных замен у ОГЛ выявляется в последовательностях, кодирующих неструктурные вирусные белки, так же как и у других ортофлавириусов [5]. Некоторые из мутаций, входящие в систему связанных замен у вируса ОГЛ, по своему местоположению в геноме соответствуют аналогичной схеме связанных замен, наблюдаемой у ВКЭ, но большая их часть (> 60%) в эту схему не укладывается. Нами обнаружены 93 сайта, в которых возникают значимые связанные замены. Из них 49 сайтов в кодирующей части нуклеотидной последовательности вируса ОГЛ со следующими координатами от начала кодирующей последовательности: 591, 601, 621, 634, 668, 780, 1020, 1242, 1489, 2466, 2604, 2751, 2847, 2904, 2988, 3065, 3072, 3123, 3189, 3847, 4113, 4251, 4548, 4851, 4884, 4911, 4998, 5034, 5145, 5229, 5364, 5712, 5838, 5880, 6048, 6174, 6384, 6546, 6618, 7383, 7500, 7554, 7638, 8133, 8154, 8238, 8427, 8997, 9850 н, – являются своеобразными «узловыми точками», каждой из которых соответствует более 10 случаев связанных замен в других сайтах. При этом значимые связи при возникновении замен наблюдали между удаленными друг от друга частями генома, и наибольшее количество таких точек соответствовало предполагаемым одонитевым участкам шпичечных структур вирусной РНК и местам возникновения синонимичных замен.

Выявленные случаи связанных замен предположительно могут быть объяснены наличием вторич-

ных и третичных взаимодействий в вирусной РНК. Такие взаимодействия между вторичными структурами РНК в некодирующих участках генома ортофлавириусов были описаны при циклизации вирусного генома, необходимой для репликации. Есть также свидетельства, что определенные вторичные и третичные структуры РНК, способные к «дальнедействующим взаимодействиям РНК-РНК», могут находиться в кодирующих областях ортофлавириусных геномов [5, 27, 28], образуя при этом сложные трехмерные структуры. Каким образом эти элементы влияют на приспособленность вируса, в настоящее время неизвестно. Однако имеются экспериментальные данные, которые показывают, что удаленные взаимодействия > 500 н между частями РНК более характерны для РНК ортофлавириусов, находящейся в вирионе, чем для вирусной РНК, находящейся в клетке [27], что предполагает или разрушение вирусных структур внутри клеток, или их необходимость для упаковки внутри нуклеокапсида. Последнее предположение подкрепляется полученными ранее сведениями о наличии связанных замен в кодирующей части сегментированного генома хантавириусов, локализующихся в разных сегментах [21].

Оценка скорости возникновения мутаций

При расчете скорости возникновения мутаций у ОГЛ по всем имеющимся полноразмерным кодирующим последовательностям вируса были получены значения, укладываемые в интервал от $1,3 \times 10^{-4}$ до $5,8 \times 10^{-4}$ замен на сайт в год. Была рассчитана также скорость возникновения мутаций для последовательностей ОГЛ, у которых из массива анализируемых замен исключены замены, возникающие в процессе пассирования (координаты этих замен указаны в табл. 2). Полученные значения скорости возникновения мутаций были ожидаемо ниже – от $1,5 \times 10^{-5}$ до $8,6 \times 10^{-5}$. Структура филогенетического дерева при этом осталась такой же, как на рис. 1, лишь незначительно увеличилась длина ветвей внутри кластера ОНФV-1 (деревья приведены на **рис. S1** и **S2** в дополнительном файле).

Обсуждение

Предположения о наличии селективных изменений при пассировании арбовириусов через организм теплокровных (лабораторных белых мышей) и членистоногих (иксодовых клещей) подтверждаются не только по данным анализа возникающих нуклеотидных замен, но и по изменениям характера гибридизации вирусной РНК со специфическими зондами в реакции молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот [29, 30]. Эти изменения касались вариабельных участков структурных геном, кодирующих капсидный белок (С), поверхностные белки (Pr-M и М), а также области неструктурного гена *NS1*, кодирующего белок, функционально связанный со сборкой нуклеокапсида. Изменение характера гибридизации регистрировалось на уровне 5–6-го и (или) 9-го и (или) после 11 последовательных пассажей через организм белых мышей (путем интрацеребрального зараже-

ния). При заражении иксодовых клещей материалом от последнего (15-го) пассажа изменение характера гибридизации наиболее регулярно затрагивало область, кодирующую поверхностные белки (ген *M*).

Учет факторов, влияющих на оценку скорости накопления замен в геноме ОГЛ, может вызвать затруднения из-за ограниченности информации об их влиянии. Репликация РНК-вирусов сопровождается случайным возникновением мутаций из-за низкой точности их РНК-зависимых РНК-полимераз (RdRP) и отсутствия механизмов исправления ошибок у отдельных вирусов. Причем повышение точности репликации может привести к потере приспособленности из-за предотвращения накопления адаптивных мутаций [31]. Отбор наиболее жизнеспособных РНК идет уже на уровне гетерогенной популяции вируса и направляется условиями взаимодействия вирусной РНК как с вирусными белками, так и с организмом хозяина. Эти процессы возникновения мутаций и отбора определяют скорость накопления изменений в геноме вируса и влияют на оценку длительности процессов эволюции в вирусной популяции. Процессы отбора также могут привести к ревертированию возникших замен, как синонимичных, так и несинонимичных, если это повышает приспособленность вируса. Пример подобного процесса показан для флавирова Зика [32], у которого выявлены 4 мутации, произошедшие незадолго до эпидемического появления вируса Зика в Америке и являющиеся реверсиями предыдущих мутаций, которые сопровождали более раннее распространение вируса из Африки в Азию и раннюю циркуляцию в этих регионах. Первоначальные мутации снижали приспособленность к передаче вируса, в то время как реверсии ее восстановили, увеличив риск эпидемии. При отсутствии у исследователя азиатских вариантов вируса, анализ скорости эволюции показал бы меньшие значения, чем при их наличии. Таким образом, наличие невыявленной реверсии может влиять на оценки скорости эволюции РНК вирусов.

Кроме того, приспособительный отбор у ортофлавивирусов, которые в большинстве являются арбовирусами, в организме разных хозяев может приводить к неодинаковым результатам отбора мутаций, как это было показано на примере вируса японского энцефалита [33]. Здесь единственная мутация в белке *M* приводила к тому, что вирус терял способность образовывать инфекционные частицы в клетках млекопитающих, но сохранял ее в клетках насекомых. Подобные адаптационные изменения (например, к лабораторным животным), которые могли бы быть элиминированы отбором в случае нахождения вируса в природных условиях, сохраняются и также могут повлиять на оценки скорости эволюции вирусов.

Влияние процессов адаптации к организму хозяина и процессов возникновения реверсивных мутаций на оценку скорости эволюции вирусной РНК может быть даже более значительным, чем это предполагается, если мы учтем наличие связанных с ними замен в геноме ортофлавивирусов, поскольку отбор должен затрагивать и их. Для некоторых ортофлавивирусов

были показаны возможности как ревертирования замен, возникающих при адаптации к хозяину, так и возникновения компенсаторных замен в удаленных частях генома [33, 34]. Таким образом, нарушениям, вызванным нуклеотидными заменами, можно противодействовать либо реверсиями, либо компенсаторными мутациями другого сайта [31].

В этой связи нами была сделана попытка оценить влияние адаптивных замен на расчетные значения скорости накопления замен в геноме вируса. Среднюю скорость возникновения замен в кодирующей части генома ОГЛ оценивали с использованием модели нестрогих часов (расслабленные часы, Relaxed clock). Первоначальная оценка количества замен в кодирующей части генома при анализе всего массива имеющихся последовательностей (71 последовательность) имела значение около 10^{-4} замен на сайт в год.

В этом и ранее проводимых анализах скорости накопления замен не учитывали как возможность наличия адаптивных замен в ходе изоляции штаммов вируса (все анализы ранее проводили исключительно с РНК штаммов вируса ОГЛ), так и возможность реверсии этих изменений при возвращении в исходную систему (к дикому типу). Тем более не учитывали наличие связанных замен в геноме.

Если считать замены, возникающие в процессе пассирования, случайными и ревертируемыми и исключить их из массива анализируемых замен у всех последовательностей (координаты исключаемых замен указаны в табл. 2), то полученная оценка количества замен кодирующей части генома имеет значение близкое к 10^{-5} замен на сайт в год.

Таким образом, при анализе средней скорости возникновения замен без учета адаптационных и связанных замен было получено значение, почти на порядок отличающееся от результата, учитывающего их наличие. Это согласуется с вариативностью оценок скоростей эволюции у различных вирусов, полученных на разных по длительности временных отрезках [35, 36]. Исключая сайты, в которых возникают адаптивные замены, которые с высокой вероятностью могут быть ревертируемыми, можно учесть эффекты насыщения, появляющиеся в процессе эволюции, при отсутствии информации об изменчивости вирусов в процессе длительного наблюдения.

Возможно, различные адаптивные изменения в нуклеотидных последовательностях ОГЛ, которые возникают при лабораторных практиках сохранения вируса, влияют на определяемые значения скорости эволюции при анализе этих последовательностей, чем и объясняется значительный разброс в ее оценках, полученный разными авторами по последовательности кодирующего белка *E*: 10^{-5} – 10^{-4} замен на сайт в год [4], $1,56 \pm 0,29 \times 10^{-4}$ [24], а также по полноразмерным кодирующим последовательностям: $9,1 \times 10^{-5}$ – $1,8 \times 10^{-4}$ [23]. Такой разброс данных способствует возникновению противоречий при воссоздании эволюционной истории вируса ОГЛ. Считают, что вирусы ОГЛ и ВКЭ имели общего предка, но при попытке определить возможную да-

ту их разделения, авторы сильно расходятся во мнениях. Так, S.Y. Kovalev и E.A. Mazurina [3] предполагают, что вирус ОГЛ произошел непосредственно от дальневосточного подтипа ВКЭ за счет быстрой смены хозяина при переходе от *Ixodes persulcatus* к *O. zibethicus* в XX в. при переселении ондатры на территорию Западной Сибири, в то время как другие авторы оценивают возраст этого события в 1000 лет и более [4].

Заключение

Для генома вируса ОГЛ, как и других представителей ортофлавириусов, характерно наличие связанных замен.

При изоляции штаммов вируса ОГЛ методом биопробы определяются изменения в структуре генома вируса, выражающиеся в возникновении нуклеотидных замен (как синонимичных, так и несинонимичных), которые затрагивают гены, кодирующие как структурные, так и неструктурные белки.

Дискриминантный анализ различий в точечных нуклеотидных заменах для групп, объединяющих последовательности по типу органов, из которых они были получены от ондатры (1-я группа – почки и урина, 2-я группа – мозг, 3-я группа – кровь), не показал значимых различий между ними.

Дискриминантный анализ различий в точечных нуклеотидных заменах для групп, объединяющих последовательности по числу пассажей, не позволяет надежно разделять последовательности из первичного материала и последовательности первых пассажей, но хорошо распознает последовательности, прошедшие 7 и более пассажей, что предполагает возможность адаптивного отбора нуклеотидных замен при взаимодействии с организмом лабораторного хозяина – белой мыши.

Анализ имеющейся 71 полноразмерной последовательности позволил оценить скорость возникновения замен как 10^{-4} замены на сайт в год. Если считать замены, возникающие в процессе пассирования случайными и ревертируемыми и исключить их из массива анализируемых замен у всех последовательностей, то полученная оценка скорости возникновения замен в кодирующей части генома ОГЛ имеет значение близкое к 10^{-5} замен на сайт в год.

С учетом вероятности реверсивных изменений в геноме вируса ОГЛ, происходящих при адаптации вируса к организму лабораторных животных, и наличия связанных замен в геноме вируса, оценка скорости возникновения мутаций имеет значение, близкое к 10^{-5} замен на сайт в год, что соответствует времени дивергенции с предковой формой более 1500 лет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рудаков Н.В., Ястребов В.К., Якименко В.В. Эпидемиология омской геморрагической лихорадки. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(1): 39–48. <https://elibrary.ru/tkcfxf>
2. Heinze D.M., Gould E.A., Forrester N.L. Revisiting the clinal concept of evolution and dispersal for the tick-borne flaviviruses by using phylogenetic and biogeographic analyses. *J. Virol.* 2012; 86(16): 8663–71. <https://doi.org/10.1128/jvi.01013-12>
3. Kovalev S.Y., Mazurina E.A. Omsk hemorrhagic fever virus is a tick-borne encephalitis virus adapted to muskrat through host-jumping. *J. Med. Virol.* 2022; 94(6): 2510–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.27581>
4. Karan L.S., Ciccozzi M., Yakimenko V.V., Lo Presti A., Cella E., Zehender G., et al. The deduced evolution history of Omsk hemorrhagic fever virus. *J. Med. Virol.* 2014; 86(7): 1181–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.23856>
5. Тюлько Ж.С., Якименко В.В. Возникновение связанных нуклеотидных замен в геноме ВКЭ, определяется структурой вирусного генома и является результатом действия адаптационных механизмов. *Национальные приоритеты России*. 2016; (4): 103–8. <https://elibrary.ru/yhxelz>
6. Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Аутэкологические аспекты ко-адаптации ВКЭ и позвоночных хозяев – экспериментальный подход. В кн.: Войников В.К., ред. *Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания: Тезисы Всероссийской научной конференции с международным участием*. Иркутск; 2019: 122–5. <https://elibrary.ru/rqxawq>
7. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57(1-2): 129–46. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00206-1](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00206-1)
8. Tonteri E., Kipar A., Voutilainen L., Vene S., Vaheri A., Vapalahti O., et al. The three subtypes of tick-borne encephalitis virus induce encephalitis in a natural host, the bank vole (*Myodes glareolus*). *PLoS One*. 2013; 8(12): e81214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081214>
9. Helmová R., Honig V., Tykalová H., Palus M., Bell-Sakyi L., Grubhoffer L. Tick-borne encephalitis virus adaptation in different host environments and existence of quasispecies. *Viruses*. 2020; 12(8): 902. <https://doi.org/10.3390/v12080902>
10. Li Y., Wang D., Du X. Adaptive genetic diversifications among tick-borne encephalitis virus subtypes: A genome-wide perspective. *Virology*. 2019; 530: 32–8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.006>
11. Simón D., Fajardo A., Sónora M., Delfraro A., Musto H. Host influence in the genomic composition of flaviviruses: A multivariate approach. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 492(4): 572–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.088>
12. Villordo S.M., Carballeda J.M., Filomatori C.V., Gamarnik A.V. RNA structure duplications and flavivirus host adaptation. *Trends Microbiol.* 2016; 24(4): 270–83. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.002>
13. Yang J., Jing X., Yi W., Li X.D., Yao C., Zhang B., et al. Crystal structure of a tick-borne flavivirus RNA-dependent RNA polymerase suggests a host adaptation hotspot in RNA viruses. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(3): 1567–80. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1250>
14. Чумаков М.П., Беляева А.П., Гагарина А.В., Славина Н.С. Выделение и изучение штаммов возбудителя омской геморрагической лихорадки. В кн.: *Эндемические вирусные инфекции (геморрагические лихорадки): Труды института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. Том 7*. М.; 1965: 327–44.
15. Li H. Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM. *arXiv*. 2013; arXiv:13033997[q-bio.GN]. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1303.3997>
16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., et al. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics*. 2009; 25(16): 2078–9. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
17. Grubaugh N.D., Gangavarapu K., Quick J., Matteson N.L., De Jesus J.G., Main B.J., et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol.* 2019; 20(1): 8. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1618-7>
18. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*. 2018; 34(18): 3094–100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
19. Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetic parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics*. 2011; 27(21): 2987–93. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509>
20. Халафян А.А. *Учебник СТАТИСТИКА 6. Статистический анализ данных*. М.: Бином; 2007.
21. Тюлько Ж.С., Якименко В.В. Связанные замены в малом сегменте генома хантавирусов старого света. *Вопросы вирусологии*. 2008; 53(3): 28–34. <https://elibrary.ru/jscbvx>
22. Yang Z. PAML4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol. Biol. Evol.* 2007; 24(8): 1586–91. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm088>

23. Bondaryuk A.N., Belykh O.I., Andaev E.I., Bukin Y.S. Inferring evolutionary timescale of Omsk hemorrhagic fever virus. *Viruses*. 2023; 15(7): 1576. <https://doi.org/10.3390/v15071576>
 24. Kovalev S.Y., Mazurina E.A., Yakimenko V.V. Molecular variability and genetic structure of Omsk hemorrhagic fever virus, based on analysis of the complete genome sequences. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021; 12(2): 101627. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101627>
 25. Ляпунова Н.А. Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в перевиваемых линиях клеток диких млекопитающих – резервуарных и случайных хозяев вируса: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Кольцово; 2021.
 26. Тюлько Ж.С., Якименко В.В. Вариабельность нуклеотидных последовательностей геномов вируса клещевого энцефалита, связанная с их структурой. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 111(4): 27–30. <https://elibrary.ru/ozhwf>
 27. Huber R.G., Lim X.N., Ng W.C., Sim A.Y.L., Poh H.X., Shen Y., et al. Structure mapping of dengue and Zika viruses reveals functional long-range interactions. *Nat. Commun*. 2019; 10(1): 1408. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09391-8>
 28. Dethoff E.A., Voermeke M.A., Gokhale N.S., Muhire B.M., Martin D.P., Sacco M.T., et al. Pervasive tertiary structure in the dengue virus RNA genome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2018; 115(45): 11513–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716689115>
 29. Якименко В.В., Дрокин Д.А., Калмин О.Б., Богданов И.И., Иванов Д.И. К вопросу о влиянии host-эффекта на штаммовую изменчивость вируса клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 1996; 41(3): 112–7.
 30. Якименко В.В., Малькова М.Г., Тюлько Ж.С., Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Василенко А.Г. *Трансмиссивные вирусные инфекции Западной Сибири (региональные аспекты эпидемиологии, экологии возбудителей и вопросы микроразволюции)*. Омск: КАИ; 2019. <https://elibrary.ru/qhcwds>
 31. Agol V.I., Gmyl A.P. Emergency services of viral RNAs: repair and remodeling. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 2018; 82(2): e00067-17. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00067-17>
 32. Liu J., Liu Y., Shan C., Nunes B.T.D., Yun R., Haller S.L., et al. Role of mutational reversions and fitness restoration in Zika virus spread to the Americas. *Nat. Commun*. 2021; 12(1): 595. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20747-3>
 33. de Wispelaere M., Khou C., Frenkiel M.P., Desprès P., Pardigon N. A single amino acid substitution in the M protein attenuates Japanese encephalitis virus in mammalian hosts. *J. Virol*. 2015; 90(5): 2676–89. <https://doi.org/10.1128/jvi.01176-15>
 34. Li X.D., Shan C., Deng C.L., Ye H.Q., Shi P.Y., Yuan Z.M., et al. The interface between methyltransferase and polymerase of NS5 is essential for flavivirus replication. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2014; 8(5): e2891. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002891>
 35. Ghafari M., Simmonds P., Pybus O.G., Katzourakis A. A mechanistic evolutionary model explains the time-dependent pattern of substitution rates in viruses. *Curr. Biol*. 2021; 31(21): 4689–96.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.020>
 36. Duchêne S., Holmes E.C., Ho S.Y.W. Analyses of evolutionary dynamics in viruses are hindered by a time-dependent bias in rate estimates. *Proc. Biol. Sci*. 2014; 281(1786): 20140732. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0732>
- REFERENCES**
1. Rudakov N.V., Yastrebov V.K., Yakimenko V.V. Epidemiology of Omsk haemorrhagic fever. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2015; 14(1): 39–48. <https://elibrary.ru/tkcfxf> (in Russian)
 2. Heinze D.M., Gould E.A., Forrester N.L. Revisiting the clinal concept of evolution and dispersal for the tick-borne flaviviruses by using phylogenetic and biogeographic analyses. *J. Virol*. 2012; 86(16): 8663–71. <https://doi.org/10.1128/jvi.01013-12>
 3. Kovalev S.Y., Mazurina E.A. Omsk hemorrhagic fever virus is a tick-borne encephalitis virus adapted to muskrat through host-jumping. *J. Med. Virol*. 2022; 94(6): 2510–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.27581>
 4. Karan L.S., Ciccozzi M., Yakimenko V.V., Lo Presti A., Cella E., Zehender G., et al. The deduced evolution history of Omsk hemorrhagic fever virus. *J. Med. Virol*. 2014; 86(7): 1181–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.23856>
 5. Tyul'ko Zh.S., Yakimenko V.V. The origin of related nucleotide substitutions in the TBEV genome, determined by the viral genome structure as the result of adaptation mechanisms' activity. *Natsional'nye priority Rossii*. 2016; (4): 103–8. <https://elibrary.ru/yhxelz> (in Russian)
 6. Lyapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A. Autecological aspects of co-adaptation of TBEV and vertebrate hosts – an experimental approach. In: Voynikov V.K., ed. *Mechanisms of Adaptation of Microorganisms to Various Environmental Conditions: Abstracts of the All-Russian Scientific Conference with International Participation [Mekhanizmy adaptatsii mikroorganizmov k razlichnym usloviyam sredi obitaniya: Tezisy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]*. Irkutsk; 2019: 122–5. (in Russian)
 7. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res*. 2003; 57(1-2): 129–46. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00206-1](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00206-1)
 8. Tonteri E., Kipar A., Voutilainen L., Vene S., Vaheri A., Vapalahti O., et al. The three subtypes of tick-borne encephalitis virus induce encephalitis in a natural host, the bank vole (*Myodes glareolus*). *PLoS One*. 2013; 8(12): e81214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081214>
 9. Helmová R., Honig V., Tykalová H., Palus M., Bell-Sakyi L., Grubhoffer L. Tick-borne encephalitis virus adaptation in different host environments and existence of quasispecies. *Viruses*. 2020; 12(8): 902. <https://doi.org/10.3390/v12080902>
 10. Li Y., Wang D., Du X. Adaptive genetic diversifications among tick-borne encephalitis virus subtypes: A genome-wide perspective. *Virology*. 2019; 530: 32–8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.006>
 11. Simón D., Fajardo A., Sónfiora M., Delfiraro A., Musto H. Host influence in the genomic composition of flaviviruses: A multivariate approach. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2017; 492(4): 572–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.088>
 12. Villordo S.M., Carballeda J.M., Filomatorri C.V., Gamarnik A.V. RNA structure duplications and flavivirus host adaptation. *Trends Microbiol*. 2016; 24(4): 270–83. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.002>
 13. Yang J., Jing X., Yi W., Li X.D., Yao C., Zhang B., et al. Crystal structure of a tick-borne flavivirus RNA-dependent RNA polymerase suggests a host adaptation hotspot in RNA viruses. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49(3): 1567–80. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1250>
 14. Chumakov M.P., Belyaeva A.P., Gagarina A.V., Slavina N.S. Isolation and study of strains of the causative agent of Omsk hemorrhagic fever. In: *Endemic Viral Infections (Hemorrhagic Fevers): Proceedings of the Institute of Polio and Viral Encephalitis of the USSR Academy of Medical Sciences. Volume 7 [Endemicheskie virusnye infektsii (gemorragicheskie likhoradki): Trudy instituta poliomieliita i virusnykh entsefalitov AMN SSSR. Tom 7]*. Moscow: 1965: 327–44. (in Russian)
 15. Li H. Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM. *arXiv*. 2013; arXiv:13033997[q-bio.GN]. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1303.3997>
 16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N. et al. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics*. 2009; 25(16): 2078–9. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
 17. Grubaugh N.D., Gangavarapu K., Quick J., Matteson N.L., De Jesus J.G., Main B.J., et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019; 20(1): 8. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1618-7>
 18. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*. 2018; 34(18): 3094–100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
 19. Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics*. 2011; 27(21): 2987–93. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509>
 20. Khalafyan A.A. *Textbook STATISTIKA 6. Statistical Data Analysis [Uchebnyk STATISTIKA 6. Statisticheskii analiz dannyykh]*. Moscow: Binom; 2007. (in Russian)
 21. Tyul'ko Zh.S., Yakimenko V.V. Related substitutions in the small segment of old world hantavirus genome. *Voprosy virusologii*. 2008; 53(3): 28–34. <https://elibrary.ru/jscbvx> (in Russian)
 22. Yang Z. PAML4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol. Biol. Evol*. 2007; 24(8): 1586–91. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm088>
 23. Bondaryuk A.N., Belykh O.I., Andaev E.I., Bukin Y.S. Inferring evolutionary timescale of Omsk hemorrhagic fever virus. *Viruses*. 2023; 15(7): 1576. <https://doi.org/10.3390/v15071576>

24. Kovalev S.Y., Mazurina E.A., Yakimenko V.V. Molecular variability and genetic structure of Omsk hemorrhagic fever virus, based on analysis of the complete genome sequences. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12(2): 101627. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101627>
25. Lyapunova N.A. *Peculiarities of tick-borne encephalitis virus reproduction in continuous cell lines of wild mammals - reservoir and accidental hosts of the virus*: Diss. Kol'tsovo; 2021. (in Russian)
26. Tyul'ko Zh.S., Yakimenko V.V. The nucleotide sequences variability of genomes of tick-borne encephalitis virus associated with their structure. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 111(4): 27–30. <https://elibrary.ru/ozhwfv> (in Russian)
27. Huber R.G., Lim X.N., Ng W.C., Sim A.Y.L., Poh H.X., Shen Y., et al. Structure mapping of dengue and Zika viruses reveals functional long-range interactions. *Nat. Commun.* 2019; 10(1): 1408. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09391-8>
28. Dethoff E.A., Boerneke M.A., Gokhale N.S., Muhire B.M., Martin D.P., Sacco M.T., et al. Pervasive tertiary structure in the dengue virus RNA genome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2018; 115(45): 11513–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716689115>
29. Yakimenko V.V., Drokin D.A., Kalmin O.B., Bogdanov I.I., Ivanov D.I. On the issue of host power-the effect on the strain variability of the tick-borne encephalitis virus. *Voprosy virusologii.* 1996; 41(3): 112–7. (in Russian)
30. Yakimenko V.V., Mal'kova M.G., Tyul'ko Zh.S., Tkachev S.E., Makenov M.T., Vasilenko A.G. *Transmissible Viral Infections of Western Siberia (Regional Aspects of Epidemiology, Environmental Pathogens and Issues of Microevolution) [Transmissivnye virusnye infektsii Zapadnoi Sibiri (regional'nye aspekty epidemiologii, ekologii vozбудitelei i voprosy mikroevolyutsii)]*. Omsk: KAN; 2019. <https://elibrary.ru/qhewds> (in Russian)
31. Agol V.I., Gmyl A.P. Emergency services of viral RNAs: repair and remodeling. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2018; 82(2): e00067-17. <https://doi.org/10.1128/mmr.00067-17>
32. Liu J., Liu Y., Shan C., Nunes B.T.D., Yun R., Haller S.L., et al. Role of mutational reversions and fitness restoration in Zika virus spread to the Americas. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 595. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20747-3>
33. de Wispelaere M., Khou C., Frenkiel M.P., Desprès P., Pardigon N. A single amino acid substitution in the M protein attenuates Japanese encephalitis virus in mammalian hosts. *J. Virol.* 2015; 90(5): 2676–89. <https://doi.org/10.1128/jvi.01176-15>
34. Li X.D., Shan C., Deng C.L., Ye H.Q., Shi P.Y., Yuan Z.M., et al. The interface between methyltransferase and polymerase of NS5 is essential for flavivirus replication. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(5): e2891. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002891>
35. Ghafari M., Simmonds P., Pybus O.G., Katzourakis A. A mechanistic evolutionary model explains the time-dependent pattern of substitution rates in viruses. *Curr. Biol.* 2021; 31(21): 4689–96.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.020>
36. Duchêne S., Holmes E.C., Ho S.Y.W. Analyses of evolutionary dynamics in viruses are hindered by a time-dependent bias in rate estimates. *Proc. Biol. Sci.* 2014; 281(1786): 20140732. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0732>

Информация об авторах:

Тюлько Жанна Сергеевна — старший научный сотрудник ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Россия; доцент кафедры физики, математики, медицинской информатики ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. E-mail: tjs@omsk-osma.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8536-0520>

Фадеев Артем Викторович — старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: afadeew@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3558-3261>

Василенко Алексей Геннадьевич — научный сотрудник, врач-эпидемиолог ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Россия. E-mail: Vasilenko_AG@oniipi.org; <https://orcid.org/0000-0002-2754-6359>

Градобоева Екатерина Алексеевна — младший научный сотрудник ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Россия. E-mail: Gradoboeva_EA@oniipi.org; <https://orcid.org/0000-0002-2046-9872>

Якименко Валерий Викторович — заведующий лабораторией ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Россия. E-mail: vyakimenko78@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Комиссаров Андрей Борисович — заведующий лабораторией ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: a.b.komissarov@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1733-1255>

Участие авторов: Тюлько Ж.С. — концепция и дизайн исследования, статистическая обработка данных, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Фадеев А.В. — проведение экспериментов, сбор данных; Василенко А.Г. — проведение экспериментов, сбор данных, подготовка текста; Градобоева Е.А. — проведение экспериментов, сбор данных, подготовка текста; Якименко В.В. — планирование исследования, концепция и дизайн исследования, сбор данных, подготовка текста, научное редактирование статьи.

Поступила 25.09.2024
Принята в печать 20.11.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Zhanna S. Tyulko — senior researcher, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare), Omsk, Russia; assistant professor, State budget educational institution Omsk State Medical University of the Russian Ministry of Health, Omsk, Russia. E-mail: tjs@omsk-osma.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8536-0520>

Artem V. Fadeev — senior researcher, Smorodintsev Research Influenza Institute of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: afadeew@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3558-3261>

Aleksei G. Vasilenko — researcher, epidemiologist, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare), Omsk, Russia. E-mail: Vasilenko_AG@oniipi.org; <https://orcid.org/0000-0002-2754-6359>

Ekaterina A. Gradoboeva — junior researcher, FBIS Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare), Omsk, Russia. E-mail: Gradoboeva_EA@oniipi.org; <https://orcid.org/0000-0002-2046-9872>

Valerii V. Yakimenko — head of laboratory, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare), Omsk, Russia. E-mail: vyakimenko78@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Andrey B. Komissarov — head of laboratory, Smorodintsev Research Influenza Institute of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 197022, Saint Petersburg, Russia. E-mail: a.b.komissarov@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1733-1255>

Contribution: Tyulko Zh.S. — the study concept and design, statistical data processing, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Fadeev A.V. — conducting of the experiments, collection of the data; Vasilenko A.G. — conducting of the experiments, collection of the data, preparing of the text; Gradoboeva E.A. — conducting of the experiments, collection of the data, preparing of the text; Yakimenko V.V. — the study concept and design, collection of the data, preparing of the text, editing and reviewing the manuscript; Komissarov A.B. — conducting of the experiments, collection of the data.

Received 25 September 2024
Accepted 20 November 2024
Published 26 December 2024



Особенности белка Tat не-А6-вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*), характерных для Российской Федерации

Кузнецова А.И.¹✉, Антонова А.А.¹, Лебедев А.В.¹, Ожмегова Е.Н.¹, Шлыкова А.В.², Лаповок И.А.², Галзитская О.В.^{1,3,4}

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, Россия;

³ФБУН «Институт белка» Российской академии наук, 142290, Московская область, г. Пущино, Россия;

⁴ФБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, 142290, Московская область, г. Пущино, Россия

Резюме

Введение. Белок Tat вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) является транс-активатором транскрипции вирусного генома, дополнительные функции которого включают способность запускать хронический воспалительный процесс. Естественные аминокислотные замены в белке Tat могут влиять на функциональные свойства белка и на течение ВИЧ-инфекции.

Целью работы является анализ особенностей консенсусных последовательностей белка Tat не-А6-вариантов ВИЧ-1, характерных для Российской Федерации, исследование естественных полиморфизмов белка Tat варианта CRF63_02A6 и вариантов вируса субтипа В, циркулирующих на территории России.

Материалы и методы. Материалом для работы послужили полногеномные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 вариантов CRF63_02A6, CRF03_A6B, а также субтипа В и CRF02_AG, циркулирующих на территории России. Референсная группа была сформирована на основе последовательностей вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в разных странах мира. Анализируемые последовательности преимущественно были загруженные из международной базы данных Los Alamos.

Результаты. Консенсусная последовательность CRF63_02A6 содержала наибольшее количество аминокислотных замен (31) и во вторичной структуре не содержала спирали в позициях 30–33, однако это не привело к изменению предсказанной третичной структуры. Консенсусная последовательность CRF03_A6B содержала стоп-кодон в 87-м положении. Определены полиморфизмы вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в нашей стране, и вариантов CRF63_02A6.

Заключение. Получены консенсусные последовательности белка Tat не-А6-вариантов ВИЧ-1, характерных для Российской Федерации, и определены их особенности. Замена R78G, расположенная в функционально значимом мотиве, и функционально значимая замена C31S достоверно чаще встречались у вариантов вируса субтипа В, циркулирующих на территории России, и у вариантов CRF63_02A6 соответственно, чем в референсной группе. Ограничением проведенного исследования являлась небольшая выборка последовательностей.

Ключевые слова: ВИЧ-1; Tat, субтип В; CRF63_02A6; CRF03_A6B; CRF02_AG

Для цитирования: Кузнецова А.И., Антонова А.А., Лебедев А.В., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Ожмегова Е.Н., Галзитская О.В. Особенности белка Tat не-А6-вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*), характерных для Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 524–534. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-272> EDN: <https://elibrary.ru/xdvfhq>

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-15-00027, <https://rscf.ru/project/23-15-00027/>, дата заключения соглашения 15 мая 2023.

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 при ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 1 от 30.03.2010).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-272>

The features of Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*) non-A6 variants, characteristic for the Russian Federation

Anna I. Kuznetsova¹✉, Anastasiia A. Antonova¹, Aleksey V. Lebedev¹, Ekaterina N. Ozhmegova¹, Anastasia V. Shlykova², Ilya A. Lapovok², Oxana V. Galzitskaya^{1,3,4}

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia;

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, 111123, Russia;

³Institute of Protein Research RAS, 142290, Moscow Region, Pushchino, Russia;

⁴Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, 142290, Moscow Region, Pushchino, Russia

Abstract

Introduction. Tat protein is a trans-activator of HIV-1 genome transcription, with additional functions including the ability to induce the chronic inflammatory process. Natural amino acid polymorphisms in Tat may affect its functional properties and the course of HIV infection.

The aim of this work is to analyze the marks of Tat consensus sequences in non-A6 HIV-1 variants characteristic of the Russian Federation, as well as study natural polymorphisms in Tat CRF63_02A6 and subtype B variants circulating in Russia.

Materials and methods. The whole-genome nucleotide sequences of HIV-1 CRF63_02A6, CRF03_A6B, as well as subtype B and CRF02_AG circulating in Russia were used. The reference group was formed based on the sequences of subtype B variants circulating in different countries. Preferentially, the sequences were downloaded from the international database Los Alamos.

Results. CRF63_02A6 consensus sequence contained the highest number of amino acid substitutions, 31, and had no helix at positions 30–33 in the secondary structure; however, this did not change its predicted tertiary structure. CRF03_A6B consensus sequence contained a stop codon at position 87. The polymorphisms in subtype B variants circulating in our country and in CRF63_02A6 variants were identified.

Conclusion. Consensus sequences of Tat protein in non-A6 variants typical for the Russian Federation were obtained and their features were determined. R78G, located in the functionally significant motif, and C31S, the functionally significant substitution, were significantly more frequent in subtype B variants circulating in Russia and in CRF63_02A6 variants than in the reference group, respectively. A limitation of this study is the small sample of sequences.

Keywords: HIV; Tat; subtype B; CRF63_02A6; CRF03_A6B; CRF02_AG

For citation: Kuznetsova A.I., Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Galzitskaya O.V. The features of Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*) non-A6 variants, characteristic for the Russian Federation. Problems of Virology (Voprosy Virusologii). 2024; 69(6): 524–534. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-272> EDN: <https://elibrary.ru/xdvfhq>

Funding. The research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 23–15-00027, <https://rscf.ru/project/23-15-00027/>, date of agreement 15 May 2023.

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 the Ethics Committee at the Federal Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» (Protocol No. 1 dated March 30, 2010).

Введение

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) относится к роду *Lentivirus* семейства Retroviridae. На основании генетических особенностей и различий вирусных антигенов ВИЧ классифицируют на 1-й и 2-й типы [1]. Распространение ВИЧ-2 ограничивается западной частью Африки, хотя и были зарегистрированы случаи завоза вируса этого типа в другие части мира. ВИЧ-1 возник примерно в 1920-х гг. на территории современной Демократической Республики Конго и со временем распространился по всему миру [2]. ВИЧ-1 на основе генетических характеристик подразделяют на

группы: М, N, O и P. На вирусы группы М приходится большинство случаев заражения ВИЧ-инфекцией в мире. Варианты ВИЧ-1 группы М подразделяются на подтипы: А (суб-субтипы А1–А8), В, С, D, F (суб-субтипы F1–F2), G, H, J, K, L. Между подтипами образуются многочисленные рекомбинантные формы [3]. Варианты ВИЧ-1 распространяются по миру крайне неравномерно [2]. На современном этапе распространения ВИЧ-инфекции в России доминирующим генетическим вариантом остается суб-субтип А6 (82,9%), на 2-м месте по частоте встречаемости находится субтип В (7,14%), рекомбинантная форма CRF63_02A6 составляет около 3,59%, частота встре-

чаемости каждой из рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF03_AB – около 1% [4]. При этом в целом в Российской Федерации отмечается увеличение частоты встречаемости рекомбинантных форм ВИЧ-1 и их вовлеченности в эпидемический процесс с течением времени [4].

Белок Tat ВИЧ-1 является транс-активатором транскрипции вирусного генома: изменяет активность вирусного промотора и клеточной РНК-полимеразы. Репликация вируса начинается с короткой и прерванной транскрипции, в результате которой образуются короткие вирусные РНК, кодирующие белок Tat и некоторые другие белки вируса. Образовавшиеся транскрипты транспортируются в цитоплазму, где на рибосомах происходит синтез соответствующих белков [5]. Вновь образовавшийся Tat, обладая сигналом ядерной локализации, возвращается обратно в ядро, где вызывает высвобождение позитивного фактора элонгации транскрипции (the positive transcription elongation factor b, P-TEFb) из неактивного комплекса, образованного этим белком с HEXIM1, LARP и 7SK RNA. Затем P-TEFb в комплексе с Tat связывается со специальным TAR-элементом (trans-activation response element) на синтезирующейся вирусной РНК, что приводит к увеличению процессивности РНК-полимеразы и, как следствие, формированию полно-размерных вирусных молекул РНК [5, 6]. Tat также обладает дополнительными как внутриклеточными, так и внеклеточными функциями. Инфицированные клетки высвобождают Tat в межклеточное пространство, откуда он поступает в кровоток. Далее белок Tat может поглощаться как ВИЧ-инфицированными, так и неинфицированными клетками. Латентно ВИЧ-инфицированные клетки могут быть реактивированы белком Tat. Неинфицированные клетки, поглотившие Tat, переходят в состояние активации, что в конечном итоге приводит их к апоптозу. Кроме того, клетки, поглотившие Tat, сами начинают вырабатывать цитокины воспаления. В результате запускается хронический воспалительный процесс, способствующий развитию коморбидных, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов [5, 7, 8].

Tat является небольшим основным белком, который кодируется двумя экзонами и содержит от 86 до 106 аминокислотных остатков (АО), преимущественно 101 АО. Первые 5 доменов кодируются первым экзоном, 6-й домен – вторым экзоном. Первые 3 домена (1-й: 1–21 АО; 2-й: 22–37 АО; 3-й: 38–48 АО) образуют минимальную область, необходимую для транс-активации [6, 8]. Четвертый домен (49–57 АО) отвечает за связывание с TAR-элементом, за захват белка клетками и вместе с 5-м доменом (58–72 АО) определяет ядерную локализацию Tat [5, 6]. Шестой домен (73–101 АО), кодируемый вторым экзоном, предположительно, способствует вирусной инфекционности и связыванию с интегринными на клеточной мембране [6]. Активно изучается вопрос влияния аминокислотных замен в белке Tat на его функции [9, 10] и на патогенез ВИЧ-инфекции [6, 11, 12]. Ак-

туальность изучения варибельности белка Tat также определяется тем, что Tat является перспективной мишенью для разработки антиретровирусных препаратов и создания терапевтических вакцин [13, 14].

Проведенные ранее исследования особенностей белка Tat наиболее широко распространенного в России суб-субтипа А6 определили замены, которые позволяют отличить этот вариант ВИЧ от других генетических вариантов. Так, исследования показали наличие в 4-м функционально значимом домене мутаций, частота встречаемости которых достоверно отличалась у суб-субтипа А6 и наиболее изученного субтипа В, а также определили у суб-субтипа А6 в 6-м домене белка Tat мотив QRD вместо функционально значимого мотива RGD [5, 7].

Целью этого исследования является изучение особенностей белка Tat у не-А6-вариантов ВИЧ-1, характерных для Российской Федерации: анализ особенностей консенсусных последовательностей белка Tat, включая исследование вторичных и третичных структур, сравнение профиля естественных полиморфизмов Tat у вариантов CRF63_02A6 и вариантов вируса субтипа В, циркулирующих на территории России, с вариантами вируса субтипа В, циркулирующими в мире. Полученные данные могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов и вакцин, а также внесут вклад в изучение влияния мутаций полиморфизма на функциональные свойства вируса.

Материалы и методы

Из международной базы данных Los Alamos (www.hiv.lanl.gov/content/index, от 19.04.2024) были выбраны все полногеномные последовательности вариантов CRF63_02A6, CRF03_A6B, а также циркулирующих на территории Российской Федерации вариантов субтипа В и CRF02_AG. При этом в исследование включали одну последовательность от одного пациента. Из выбранных последовательностей были выгружены нуклеотидные последовательности гена *tat*. В результате были загружены 26 последовательностей CRF63_02A6, 4 последовательности CRF03_A6B, 35 последовательностей, циркулирующих на территории России, вариантов субтипа В, одна последовательность варианта CRF02_AG, полученная от ВИЧ-инфицированного пациента в России.

Дополнительно в исследование были включены две последовательности гена *tat* варианта CRF02_AG, выгруженные из полногеномных последовательностей вируса, полученных лабораторией ранее от 2 пациентов в рамках выполнения проекта CHAIN 7-й Рамочной программы Европейского сообщества «Единая сеть по изучению лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам». На забор крови от пациентов было получено разрешение Этического комитета при ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 1 от 30 марта 2010 г.). Пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Образцы анализировали путем массового параллельного секвенирования с помощью набора «АмплиСенс

HIV-Resist-NGS» в соответствии с инструкцией производителя (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Полногеномное секвенирование образцов было выполнено с применением технологии MiSeq и соответствующих наборов MiSeq reagent kits V2 (Illumina, США) путем анализа 4 перекрывающихся специфических фрагментов (общая протяженность анализируемого фрагмента 704–9563 по HXB2).

Субтип вируса определяли на основе анализа полногеномной последовательности в программах Comet (<https://comet.luh.lu>) и RIP (RIP 3.0 submission form (lanl.gov)). Последовательности были сгруппированы в соответствии с субтипом вируса.

Для формирования референсной группы последовательностей из международной базы данных Los Alamos (www.hiv.lanl.gov/content/index) были выбраны 50 полногеномных последовательностей субтипа В, циркулирующих в разных странах мира: США, странах ЕС, Канаде, Японии, Китае, Южной Корее и Австралии. В исследование также включали одну последовательность от одного пациента. Из всех выбранных последовательностей были выгружены нуклеотидные последовательности гена *tat*.

После этого был проведен контроль качества нуклеотидных последовательностей, в ходе которого из анализа исключали последовательности, содержащие: а) замены в стартовом кодоне; б) пропуски нуклеотидов, не кратные 3; в) следующие 2 раза подряд N-вырождения. Последовательности, не прошедшие контроль качества, были удалены из исследования.

Затем нуклеотидные последовательности были переведены в аминокислотные последовательности при помощи программы Sequence Manipulation Suite: Translate (www.bioinformatics.org) и выравнены между собой в каждой группе в программе MEGA v. 10.2.2 (www.megasoftware.net). Далее для каждой группы последовательностей с помощью программного обеспечения Advanced Consensus Maker tool на сайте базы данных Los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/AdvCon.html>) формировали аминокислотную консенсусную последовательность. Вставки аминокислот при формировании референсной последовательности не учитывали. Референсную консенсусную последовательность (референс) формировали на основе референсной группы последовательностей.

Сравнение консенсусных последовательностей CRF63_02A6, CRF03_A6B и циркулирующих в России вариантов CRF02_AG и субтипа В с референсной консенсусной последовательностью субтипа В и между собой проводилось в программе MEGA v. 10.2.2 (www.megasoftware.net).

Далее на основе анализа консенсусных последовательностей в программе PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) предсказывали вторичную структуру консенсусных последовательностей не-А6-вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России. При этом анализировали специфичные изменения вторичной структуры соответствующих вариантов вируса относительно референсной консенсусной

последовательности. Вторичную структуру исследовали только для консенсусных последовательностей, которые были сформированы на основе более чем 10 последовательностей.

При помощи программы IsUnstruct предсказывали расположение неструктурированных участков в консенсусных последовательностях [15].

При помощи программы AlphaFold 2 (AlphaFold Protein Structure Database) предсказывали пространственную структуру консенсусных последовательностей [16].

Затем проводили сравнение естественных полиморфизмов вариантов субтипа В, циркулирующих на территории России, и вариантов CRF63_02A6 с вариантами субтипа В, циркулирующими в мире. Для этого первоначально посредством программы MEGA v. 10.2.2 выявляли естественные полиморфизмы всех анализируемых групп относительно референсной консенсусной последовательности – консенсусной последовательности вирусов субтипа В, циркулирующих в мире. При этом под полиморфизмами понимали мутации – единичные замены, встречающиеся в 1% наблюдений и чаще [17]. Далее с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) попарно сравнивали группу вариантов субтипа В, циркулирующих на территории России, и группу вариантов CRF63_02A6 с группой вариантов субтипа В, циркулирующих в мире: выявляли сайты со статистически достоверными различиями ($p < 0,05$ при использовании критерия χ^2).

Результаты

Анализируемые последовательности

Две полногеномные последовательности ВИЧ-1 CRF02_AG, полученные ранее в ходе выполнения проекта CHAIN, были депонированы в Gene bank с номерами PP816227 и PP816231.

После проведения контроля качества загруженных нуклеотидных последовательностей одна последовательность CRF63_02A6, одна последовательность CRF03_A6B и две последовательности субтипа В из референсной группы, т.е. группы последовательностей вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в разных странах мира, были исключены из анализа. Таким образом, в исследование вошли 25 последовательностей CRF63_02A6, 3 последовательности CRF03_A6B, 35 последовательностей, циркулирующих на территории России, вариантов субтипа В, 3 последовательности вируса варианта CRF02_AG, циркулирующих на территории РФ. Референсная группа была сформирована на основе 48 последовательностей. Полученные консенсусные последовательности представлены на **рис. 1**.

Структурный анализ

Первичная структура

Консенсус циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 субтипа В отличался от референсной консенсусной последовательности в 8 позициях, при

этом 8 из 8 замен были связаны с изменениями химических свойств. Под изменением химических свойств понимали изменение полярности или заряда аминокислоты в заданной позиции (рис. 1).

Консенсус циркулирующих в России вариантов вируса CRF02_AG отличался от референсной последовательности в 30 позициях, при этом лишь в 8 из 30 позиций замена аминокислоты не была связана с изменением химических свойств.

Консенсус вариантов ВИЧ-1 CRF03_A6B содержал преждевременный стоп-кодон в 87-й позиции, в 6 из 86 аминокислотных позиций отличался от референсной последовательности, при этом в 3 из 6 позиций замена аминокислоты не была связана с изменением химических свойств.

Консенсус CRF63_02A6 отличался от референсной последовательности в 31 позиции, при этом лишь в 8 из 31 позиции замена аминокислоты не была связана с изменением химических свойств (рис. 1).

Вторичная структура

Вторичную структуру исследовали для консенсусных последовательностей, вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории России, и вариантов CRF63_02A6. При этом осуществляли их сравнение с референсной последовательностью.

Поскольку консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории Российской Федерации, в 70-й позиции в равной степени вероятности содержала серин (S) и пролин (P), то при прогнозировании вторичной структуры белка Tat проводили анализ двух вариантов последовательностей: В (Россия)_v1/B(Russia)_v1 и В(Россия)_v2/B(Russia)_v2 соответственно.

Результаты анализа структуры исследуемых последовательностей представлены на рис. 2.

Большая часть вторичной структуры белка Tat представляет собой клубок. Наибольшие отличия от референсной последовательности продемонстрировала консенсусная последовательность CRF63_02A6: отсутствие спирали в позициях 30–33.

Третичная структура

Затем проводили сравнение третичной структуры консенсусной последовательности белка Tat CRF63_02A6 с референсной последовательностью (рис. 3).

Профили вероятности для неструктурированных областей белка Tat как референсной последовательности, так и консенсусной последовательности вариантов CRF63_02A6 содержали только одну структурированную область, соответствующую участку, обогащенному цистеинами, в районе 22–48 АО, что соотносится с 2-м и 3-м доменом белка Tat (рис. 3). Эта область выделена синим цветом на профиле и на пространственной структуре, предсказанной с помощью AlphaFold 2 (рис. 3).

Сравнение профилей естественных полиморфизмов белка Tat

При сравнении профиля естественных полиморфизмов белка Tat ВИЧ-1 вариантов субтипа В, циркулирующих на территории России, и вариантов вируса CRF63_02A6 с вариантами вируса субтипа В, циркулирующих в мире обнаружено что:

– 1 последовательность из группы вариантов субтипа В, циркулирующих в мире, содержала вставку глутамина между 76 и 77 АО – 76-77insQ;



Рис. 1. Множественное выравнивание консенсусных последовательностей полноразмерного белка Tat вариантов субтипа В и вариантов CRF02_AG, циркулирующих в России, и вариантов Crf03_A6B, CRF63_02A6 относительно консенсусной последовательности вариантов субтипа В, циркулирующих в мире (В референс).

Точками обозначены позиции АО, в которых АО в консенсусах соответствовали референсу. Аминокислоты классифицированы на основе полярности радикалов. Неполарные аминокислоты: G (глицин), A (аланин), V (валин), L (лейцин), I (изолейцин), P (пролин) отмечены синим цветом; полярные незаряженные аминокислоты: S (серин), T (треонин), C (цистеин), M (метионин), N (аспарагин), Q (глутамин) – зеленым; ароматические аминокислоты: F (фенилаланин), Y (тирозин), W (триптофан), H (гистидин) – желтым; отрицательно заряженные аминокислоты: D (аспарагиновая кислота) и E (глутаминовая кислота) – оранжевым; положительно заряженные аминокислоты: K (лизин), R (аргинин) – красным [18, 19]. X – АО не определен (серым).

Fig. 1. Multiple alignment of the full-length Tat protein's consensus sequences of subtype B and CRF02_AG variants circulating in Russia, and variants Crf03_A6B, CRF63_02A6 relative to the consensus sequence of subtype B variants circulating in the world (B reference).

The dots indicate amino acid residues (a.a.r.) positions in which the a.a.r. in the consensus corresponded to the reference. Non-polar amino acids: G (glycine), A (alanine), V (valine), L (leucine), I (isoleucine), P (proline) – are marked in blue; polar uncharged amino acids: S (serine), T (threonine), C (cysteine), M (methionine), N (asparagine), Q (glutamine) – green; aromatic amino acids: F (phenylalanine), Y (Tyrosine), W (tryptophan), H (Histidine) – yellow; polar acidic negatively charged amino acids: D (aspartic acid) and E (glutamic acid) – orange; polar basic positively charged amino acids: K (lysine), R (arginine) – in red [18, 19]. X – a.a.r. is undefined (gray).

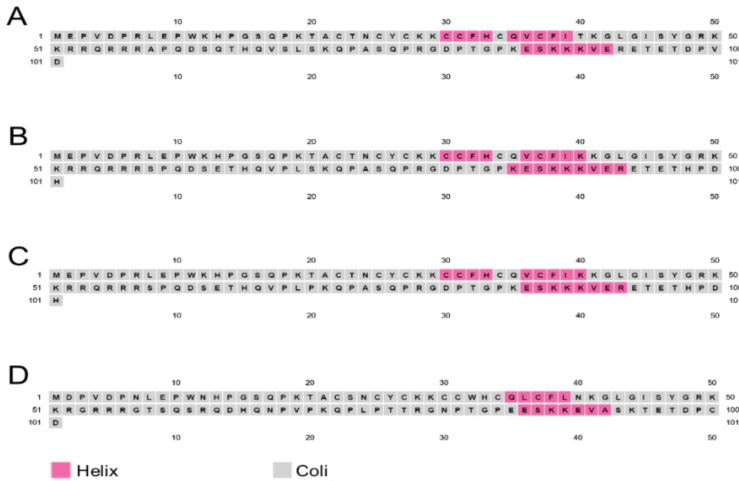


Рис. 2. Предсказанные вторичные структуры консенсусных последовательностей: А – В(референс)/B(reference); В – В(Россия)_v1/B(Russia)_v1; С – В(Россия)_v2/B(Russia)_v2; D – CRF63_02A6.

Fig. 2. Predicted secondary structures of consensus sequences: A – V(референс)/B(reference); B – V(Россия)_v1/B(Russia)_v1; C – V(Россия)_v2/B(Russia)_v2; D – CRF63_02A6.

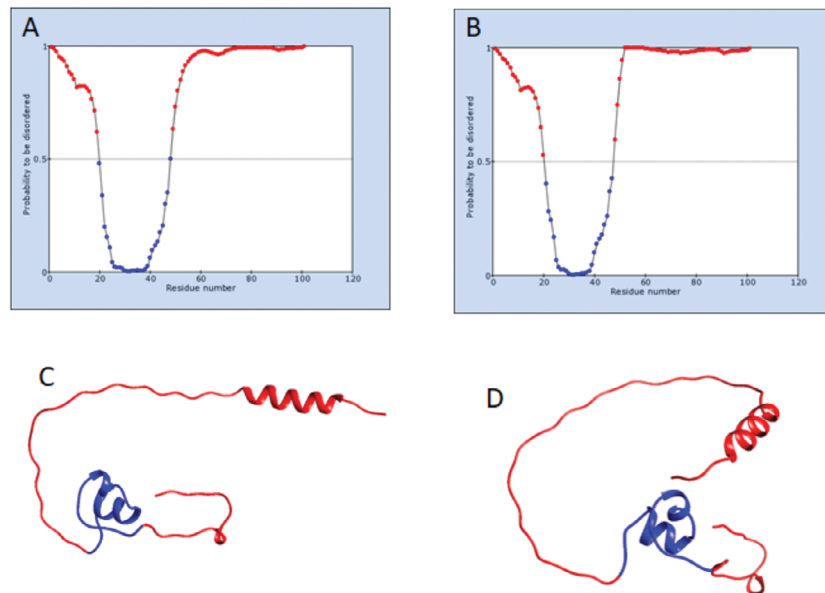


Рис. 3. Результаты сравнения третичной структуры консенсусной последовательности белка Tat CRF63_02A6 с референсной последовательностью.

Профиль вероятности для неструктурированных участков консенсусных последовательностей белка Tat, предсказанных программой IsUnstruct: А – консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире; В – консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 CRF63_02A6. Пространственная структура, предсказанная с помощью программы AlphaFold 2, для консенсусных последовательностей белка Tat: С – консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире; D – консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 CRF63_02A6. Красным цветом выделен профиль последовательности и участки цепи, соответствующие неструктурированным участкам; синим цветом – структурированная область. Пояснение в тексте.

Fig. 3. Results of comparison of the tertiary structure of the Tat protein CRF63_02A6 with the reference sequence. Probability profile for unstructured regions of Tat consensus sequences predicted by IsUnstruct: А – consensus sequence of HIV-1 subtype B variants circulating worldwide; В – consensus sequence of HIV-1 CRF63_02A6 variants. Spatial structure predicted by AlphaFold 2 for Tat consensus sequences: С – consensus sequence of HIV-1 subtype B variants circulating worldwide; D – consensus sequence of HIV-1 CRF63_02A6 variants. The sequence profile corresponding to unstructured regions is marked in red.

- 1 последовательность CRF63_02A6 содержала вставку гистидина между 80 и 81 АО – 80-81insH;
- 2 последовательности из группы вариантов субтипа В, циркулирующих в мире, содержали преждевременный стоп-кодон в 87-й позиции и одна последовательность – в 100-й позиции;
- 1 последовательность из группы вариантов субтипа В, циркулирующих на территории России, содержала преждевременный стоп-кодон в 87-й позиции;

- 3 последовательности CRF63_02A6 содержали преждевременный стоп-кодон в 100-й позиции.
- Однако обнаруженные вставки и преждевременные стоп-кодоны не имели достоверной разницы в частоте встречаемости между анализируемыми группами.
- При сравнении профиля естественных полиморфизмов вариантов вируса субтипа В, циркулирующих на территории России, и вариантов вируса субтипа В, циркулирующих в мире, была определена 21 замена

со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости, однако после введения поправки по Бонферрони лишь две замены – S68P и R78G – имели достоверную разницу в частоте встречаемости (табл. 1).

При сравнении профиля естественных полиморфизмов вариантов CRF63_02A6 и вариантов вируса субтипа В, циркулирующих в мире, были определены 54 замены со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости. После введения поправки по Бонферрони 31 замена имела достоверную разницу в частоте встречаемости (табл. 2).

Обсуждение

Одной из основных характеристик ВИЧ-1 является высокая генетическая изменчивость, которая определяет необычайное глобальное генетическое разнообразие вируса [2, 20]. Полиморфизмы отражают естественные различия между генетическими вариантами ВИЧ-1, при этом некоторые из них могут иметь функциональную значимость [11, 12, 21]. Как известно, высокая генетическая изменчивость ВИЧ-1 является результатом действия нескольких факторов, которые включают в себя работу специфического вирусного фермента, обратной

транскриптазы, и возникновения эскейп-мутаций в ответ на действие иммунной системы хозяина [9, 22]. Проведенные исследования показали, что белок Tat является мишенью для действия цитотоксического иммунного ответа и был определен ряд CTL-эпитопов в белке Tat (<https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/ctl/Tat.html>) [9]. Таким образом, мутации в белке Tat могут быть ассоциированы как с субтипом вируса, так и с генетическими особенностями популяции хозяина, в которой циркулирует вирус. Настоящее исследование направлено на изучение особенностей белка Tat у не-А6-вариантов вируса, характерных для Российской Федерации.

Сравнение консенсусных последовательностей показало, что все анализируемые варианты белка Tat отличались от референсной последовательности, при этом каждый из вариантов содержал уникальный профиль замен.

Консенсусная последовательность вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории России, в 63-м положении содержала замену Q63E, которая, как отмечалось ранее, у вариантов вируса субтипа С способствовала более высокой транскрипционной активности в человеческих CD4 Т-клетках [23].

Таблица 1. Замены в белке Tat со статистически значимой разницей в частоте встречаемости у вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире, и у вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории России ($p < 0,05$)

Table 1. Substitutions in the Tat protein with a statistically significant difference in the frequency of occurrence between HIV-1 subtype B variants circulating in the world and HIV-1 subtype B variants circulating in Russia ($p < 0.05$)

Участок Domain	Замена Substitution	В Мир World	В Россия Russia	p	Участок Domain	Замена Substitution	В Мир World	В Россия Russia	p
		$n = 48$	$n = 35$				$n = 48$	$n = 35$	
I	K19Q	1	5	0,034	VI	R78G*	4	13	0,0013*
II	N24A	0	3	0,0388		D80N	0	6	0,0029
	K29Q	5	0	0,0489		P81Q	1	6	0,0148
III	T40K	16	20	0,0307			$n = 46$	$n = 34$	
IV	Q54R	0	3	0,0388		K89E	8	1	0,0432
V	Q60K	1	5	0,034		R93K	7	0	0,0173
	T64D	0	5	0,0069		R93S	7	13	0,0188
	S68P*	8	20	0,0001*		D98H	13	17	0,0471
	S70P	11	17	0,0146		D98N	0	6	0,0031
VI	P77A	5	0	0,0489		V100D	2	9	0,0045
							$n = 45$	$n = 34$	
	P77T	0	3	0,0388		D101H	7	14	0,0107

Примечание. * – позиции, достоверные по критерию χ^2 с поправкой Бонферрони $p < 0,0024$. В связи с наличием преждевременных стоп-кодонов в некоторых последовательностях менялось число (n) анализируемых последовательностей в группах, т.к. аминокислоты, находящиеся после стоп-кодона, в анализе не учитывали: с 1 по 87 АО группа вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире, состояла из 48 последовательностей, группа вариантов субтипа В, циркулирующих на территории России, – из 35 последовательностей; с 88 АО по 100 АО группа вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире, – из 46 последовательностей, группа вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории России, – из 34 последовательностей; в 101 АО группа вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире, – из 45 последовательностей, группа вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории России, – из 34 последовательностей.

Note. * – significant in the χ^2 test with Bonferroni correction $p < 0.024$. Due to the presence of premature stop codons in some sequences, the number of analyzed sequences in groups changed, since amino acids (a.a.r) located after the stop codon were not taken into account in the analysis: from 1 to 87 a.a.r, the group of HIV-1 subtype B variants circulating in the world contained 48 sequences, the group of HIV-1 subtype B variants circulating in Russia – 35 sequences; from 88 to 100 a.a.r, the group of HIV-1 subtype B variants circulating in the world contained 46 sequences, the group of HIV-1 subtype B variants circulating in Russia – 34 sequences; in 101 a.a.r the group of HIV-1 subtype B variants circulating in the world contained 45 sequences, the group of HIV-1 subtype B variants circulating in Russia – 34 sequences.

Консенсусные последовательности CRF02_AG и CRF63_02A6 содержали наибольшее количество замен, при этом в 32, 34, 37, 40, 54, 57, 58, 61, 62, 64, 67–70, 74–77, 80, 90, 92–94-й позициях содержали одни и те же замены аминокислот относительно референсной последовательности. Такой результат объясняется

тем, что CRF63_02A6 является рекомбинантной формой CRF02_AG и суб-субтипа A6, которая в области гена *tat* соответствует CRF02_AG (<https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/crfdb/crfs.comp>).

В свою очередь, CRF03AB является рекомбинантной формой суб-субтипа A6 и субтипа B, которая

Таблица 2. Замены в белке Tat со статистически значимой разницей в частоте встречаемости у вариантов ВИЧ-1 субтипа B, циркулирующих в мире, и у вариантов CRF63_02A6 ($p < 0,05$)

Table 2. Substitutions in the Tat protein with a statistically significant difference in the frequency of occurrence between HIV-1 subtype B variants circulating in the world and HIV-1 CRF63_02A6 variants ($p < 0.05$)

Участок Domain	Замена Substitution	В Мир World	CRF63_02A6	<i>p</i>	Участок Domain	Замена Substitution	В Мир World	CRF63_02A6	<i>p</i>
		<i>n</i> = 48	<i>n</i> = 25				<i>n</i> = 48	<i>n</i> = 25	
I	E2D	5	24	0,0000*	V	D61S	3	18	0,0000*
	R7N	7	21	0,0000*		S62R	0	21	0,0000*
	K12N	4	20	0,0000*		Q63E	10	0	0,014
	K19R	11	0	0,0094		T64N	12	1	0,0062
	A21P	12	0	0,0062		T64D	0	22	0,0000*
II	T23S	0	17	0,0000*		V67A	16	0	0,0011
	N24K	11	1	0,0385		V67D	1	5	0,0082
	K28I	0	2	0,0469		V67N	0	19	0,0000*
	C31S	1	9	0,0001*		S68P	8	24	0,0000*
	C31V	0	2	0,0469		L69V	0	24	0,0000*
	F32L	10	0	0,014	S70P	11	21	0,0000*	
	F32W	1	25	0,0000*	A74L	0	24	0,0000*	
	F32Y	7	0	0,0446	S75P	4	25	0,0000*	
III	V36L	2	22	0,0000*	Q76T	0	22	0,0000*	
	I39L	6	25	0,0000*	P77T	0	24	0,0000*	
	I39T	12	0	0,0062	D80N	0	22	0,0000*	
	T40N	0	21	0,0000*	P84Q	8	0	0,0305	
IV	G42A	10	0	0,014	K85E	11	25	0,0000*	
	R53G	1	20	0,0000*		<i>n</i> = 46	<i>n</i> = 25		
	Q54R	0	22	0,0000*	K89E	8	0	0,0269	
	Q54H	0	3	0,0143	K90E	1	23	0,0000*	
V	R57G	1	24	0,0000*	E92A	0	22	0,0000*	
	A58S	7	0	0,0446	R93S	7	25	0,0000*	
	A58T	9	23	0,0000*	E94K	6	25	0,0000*	
	P59S	2	21	0,0000*	D98H	13	1	0,0141	
	P59T	0	2	0,0469	P99R	0	3	0,0164	
	Q60R	0	2	0,0469	V100C	1	14	0,0000*	
D61G	7	0	0,0446	V100Y	1	4	0,0297		

Примечание. * – позиции достоверные по критерию χ^2 с поправкой Бонферрони $p < 0,0009$. В связи с наличием преждевременных стоп-кодонов в некоторых последовательностях менялось число (*n*) анализируемых последовательностей в группах, т.к. аминокислоты, находящиеся после стоп-кодона, в анализе не учитывали: с 1 по 87 АО группа вариантов ВИЧ-1 субтипа B, циркулирующих в мире, состояла из 48 последовательностей, группа вариантов CRF63_02A6 – из 25 последовательностей; с 88 АК по 100 АО группа вариантов ВИЧ-1 субтипа B, циркулирующих в мире, – из 46 последовательностей, группа вариантов CRF63_02A6 – из 25 последовательностей.

Note. * – significant in the χ^2 test with Bonferroni correction $p < 0.0009$. Due to the presence of premature stop codons in some sequences, the number of analyzed sequences in groups changed, since amino acid residues (a.a.r.) located after the stop codon were not taken into account in the analysis: from 1 to 87 a.a.r. the group of HIV-1 subtype B variants circulating in the world contained 48 sequences, the group of CRF63_02A6 variants – 25 sequences; from 88 to 100 a.a.r., the group of HIV-1 subtype B variants circulating in the world contained 46 sequences, the group of CRF63_02A6 variants – 25 sequences.

в области гена *tat* соответствует субтипу В (<https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/crfd/crfs.comp>). Консенсусная последовательность CRF03AB в 87-й позиции содержит стоп-кодон, что характерно для некоторых вариантов ВИЧ-1 субтипа В, например для референс-штамма HXB2 (K03455). Укороченная версия белка Tat, содержащая 86 АО, является функциональной, однако некоторые функции, такие как модуляция модификации цитоскелета клетки-хозяина и, возможно, функция обеспечения оптимальной репликации в клетках линии моноцитов-макрофагов, ассоциируют со вторым экзоном [6].

Меньшее число замен относительно референса приходится на фрагмент белка Tat с 1 по 51 АО: консенсус вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории Российской Федерации, содержал 1 замену, CRF02_AG – 10, CRF03_A6B – 3, CRF63_02A6 – 8. Тогда как во фрагменте белка Tat с 52–101 АО: консенсус вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих на территории Российской Федерации, содержал 7 замен, CRF02_AG – 20, CRF03_A6B – 3 и стоп-кодон в 87-м положении, CRF63_02A6 – 23 (рис. 1). Это частично объясняется тем, что первые три домена белка Tat (1–48 АО) формируют минимальную область, необходимую для транс-активации транскрипции вирусного генома [6, 8]. Также ранее исследователями уже отмечалось, что в целом область, кодируемая вторым экзоном гена *tat*, является менее консервативной, чем область, кодируемая первым экзоном [10].

В результате сравнения консенсусных последовательностей было показано, что существующие отличия первичной структуры CRF63_02A6 от референсной последовательности, отсутствие элемента спирали в позициях 30–33 вторичной структуры CRF63_02A6, по предсказаниям, не влияло на пространственную структуру белка: наиболее структурированная область располагалась в районе 2-го и 3-го домена как у CRF63_02A6, так и у референсной последовательности (рис. 3).

При анализе профиля естественных полиморфизмов было показано, что замены S68P и R78G достоверно чаще встречались у вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в России, чем в референсной группе (табл. 1). При этом мотив ⁷⁸RGD⁸⁰ является лигандом для некоторых интегринов и, в связи с этим, предположительно, замена R78G может влиять на функциональные свойства белка Tat [6].

Список замен со статистически значимой разницей в частоте встречаемости в белке Tat у вариантов ВИЧ-1 субтипа В, циркулирующих в мире, и у вариантов CRF63_02A6 соответствовал списку замен, обозначенному при сравнении консенсусных последовательностей. Дополнительно было показано, что замена C31S достоверно чаще встречалась у вариантов CRF63_02A6. При этом известно, что замена C31S является функционально значимой, ассоциирована со сниженной нейротоксичностью белка Tat [12, 24].

Ограничение исследования. Ограничением проведенного исследования является небольшая выборка

последовательностей. Изучение особенностей белка Tat не-А6-вариантов ВИЧ-1, характерных для Российской Федерации, на больших выборках последовательностей является интересным направлением для исследований, которое актуализируется постепенным расширением распространения не-А6-вариантов ВИЧ-1 на территории страны [4]. Также перспективным направлением для возможных исследований в будущем является изучение влияния особенностей белка Tat разных вариантов вируса, характерных для Российской Федерации, на Tat-TAR-взаимодействие.

Заключение

Впервые получены консенсусные последовательности белка Tat не-А6-вариантов ВИЧ-1, характерных для Российской Федерации. Показано, что разные варианты вируса обладают характерными особенностями в первичной структуре белка. Наибольшее количество аминокислотных замен содержала консенсусная последовательность CRF63_02A6, при этом существующие особенности не оказали влияние на профиль вероятности расположения неструктурированных областей белка. Показано, что замена R78G, расположенная в функционально значимом мотиве, достоверно чаще встречалась у вариантов вируса субтипа В, циркулирующих на территории России, чем у вариантов вируса субтипа В, циркулирующих в мире. Определено, что функционально значимая замена C31S, достоверно чаще встречалась у вариантов CRF63_02A6, чем у вариантов вируса субтипа В, циркулирующих в мире. Отмечены перспективные направления для будущих исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut), Subgroup «Assessment of Pathogens Transmissible by Blood». Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfus. Med. Hemother.* 2016; 43(3): 203–22. <https://doi.org/10.1159/000445852>
2. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/S0H.0000000000000534>
3. Кузнецова А.И. Роль полиморфизма ВИЧ-1 в патогенезе. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2023; 15(3): 26–37. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-26-37> <https://elibrary.ru/cwjjai>
4. Антонова А.А., Кузнецова А.И., Ожмегова Е.Н., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В. и др. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации: увеличение распространенности рекомбинантных форм. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2023; 15(3): 61–72. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72> <https://elibrary.ru/tpwttt>
5. Кузнецова А.И., Громов К.Б., Киреев Д.Е., Шлыкова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В. и др. Анализ особенностей белка Tat вируса иммунодефицита человека 1 типа суб-субтипа А6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(6): 452–63. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-83> <https://elibrary.ru/cmzgyz>
6. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol.* 2012; 2012: 123605. <https://doi.org/10.1155/2012/123605>
7. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses.* 2023; 15(11): 2212. <https://doi.org/10.3390/v15112212>

8. Ajasin D., Eugenin E.A. HIV-1 Tat: Role in bystander toxicity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10: 61. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00061>
9. Kamori D., Ueno T. HIV-1 Tat and viral latency: what we can learn from naturally occurring sequence variations. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 80. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00080>
10. Spector C., Mele A.R., Wigdahl B., Nonnemacher M.R. Genetic variation and function of the HIV-1 Tat protein. *Med. Microbiol. Immunol.* 2019; 208(2): 131–69. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00583-z>
11. Ranga U., Shankarappa R., Siddappa N.B., Ramakrishna L., Nagen-dran R., Mahalingam M., et al. Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 subtype C strains is a defective chemokine. *J. Virol.* 2004; 78(5): 2586–90. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.5.2586-2590.2004>
12. Ruiz A.P., Ajasin D.O., Ramasamy S., DesMarais V., Eugenin E.A., Prasad V.R. A naturally occurring polymorphism in the HIV-1 Tat basic domain inhibits uptake by bystander cells and leads to reduced neuroinflammation. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 3308. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39531-5>
13. Jin H., Li D., Lin M.H., Li L., Harrich D. Tat-based therapies as an adjuvant for an HIV-1 functional cure. *Viruses.* 2020; 12(4): 415. <https://doi.org/10.3390/v12040415>
14. Asamitsu K., Fujinaga K., Okamoto T. HIV Tat/P-TEFb interaction: a potential target for novel anti-HIV therapies. *Molecules.* 2018; 23(4): 933. <https://doi.org/10.3390/molecules23040933>
15. Lobanov M.Y., Sokolovskiy I.V., Galzitskaya O.V. IsUnstruct: prediction of the residue status to be ordered or disordered in the protein chain by a method based on the Ising model. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2013; 31(10): 1034–43. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.718529>
16. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature.* 2021; 596(7873): 583–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
17. Shafer R.W., Rhee S.Y., Pillay D., Miller V., Sandstrom P., Schapiro J.M., et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS.* 2007; 21(2): 215–23. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328011e691>
18. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. *Биологическая химия.* М.: Медицина; 1998.
19. Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkarimov B.T., Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021; 19: 5960–8. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036>
20. Tee K.K., Thomson M.M., Hemelaar J. Editorial: HIV-1 genetic diversity, volume II. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 1007037. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1007037>
21. Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека и антиретровирусная терапия. *Терапевтический архив.* 2016; 88(11): 103–11. <https://doi.org/10.17116/terarkh2016881103-11> <https://elibrary.ru/xeaxsb>
22. Cilento M.E., Kirby K.A., Sarafianos S.G. Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase. *Chem. Rev.* 2021; 121(6): 3271–96. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00967>
23. Gatora P.T., Brown K., Martin D.R., van der Sluis R., Cloete R., Williams M.E. Impact of subtype C-specific amino acid variants on HIV-1 Tat-TAR interaction: insights from molecular modelling and dynamics. *Virol. J.* 2024; 21(1): 144. <https://doi.org/10.1186/s12985-024-02419-6>
24. Mishra M., Vetrivel S., Siddappa N.B., Ranga U., Seth P. Clade-specific differences in neurotoxicity of human immunodeficiency virus-1 B and C Tat of human neurons: Significance of dicysteine C30C31 motif. *Ann. Neurol.* 2008; 63(3): 366–76. <https://doi.org/10.1002/ana.21292>
- 2023; 15(3): 26–37. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-26-37> <https://elibrary.ru/cwjjai> (in Russian)
4. Antonova A.A., Kuznetsova A.I., Ozhmegova E.N., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., et al. Genetic diversity of HIV-1 at the current stage of the epidemic in the Russian federation: an increase in the prevalence of recombinant forms. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2023; 15(3): 61–72. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72> <https://elibrary.ru/tpwttt> (in Russian)
5. Kuznetsova A.I., Gromov K.B., Kireev D.E., Shlykova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., et al. Analysis of tat protein characteristics in human immunodeficiency virus type 1 sub-subtype A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: lentivirus: human immunodeficiency Virus-1). *Voprosy virusologii.* 2021; 66(6): 452–63. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-83> <https://elibrary.ru/cmzgye> (in Russian)
6. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol.* 2012; 2012: 123605. <https://doi.org/10.1155/2012/123605>
7. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses.* 2023; 15(11): 2212. <https://doi.org/10.3390/v15112212>
8. Ajasin D., Eugenin E.A. HIV-1 Tat: Role in bystander toxicity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10: 61. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00061>
9. Kamori D., Ueno T. HIV-1 Tat and viral latency: what we can learn from naturally occurring sequence variations. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 80. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00080>
10. Spector C., Mele A.R., Wigdahl B., Nonnemacher M.R. Genetic variation and function of the HIV-1 Tat protein. *Med. Microbiol. Immunol.* 2019; 208(2): 131–69. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00583-z>
11. Ranga U., Shankarappa R., Siddappa N.B., Ramakrishna L., Nagen-dran R., Mahalingam M., et al. Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 subtype C strains is a defective chemokine. *J. Virol.* 2004; 78(5): 2586–90. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.5.2586-2590.2004>
12. Ruiz A.P., Ajasin D.O., Ramasamy S., DesMarais V., Eugenin E.A., Prasad V.R. A naturally occurring polymorphism in the HIV-1 Tat basic domain inhibits uptake by bystander cells and leads to reduced neuroinflammation. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 3308. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39531-5>
13. Jin H., Li D., Lin M.H., Li L., Harrich D. Tat-based therapies as an adjuvant for an HIV-1 functional cure. *Viruses.* 2020; 12(4): 415. <https://doi.org/10.3390/v12040415>
14. Asamitsu K., Fujinaga K., Okamoto T. HIV Tat/P-TEFb interaction: a potential target for novel anti-HIV therapies. *Molecules.* 2018; 23(4): 933. <https://doi.org/10.3390/molecules23040933>
15. Lobanov M.Y., Sokolovskiy I.V., Galzitskaya O.V. IsUnstruct: prediction of the residue status to be ordered or disordered in the protein chain by a method based on the Ising model. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2013; 31(10): 1034–43. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.718529>
16. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature.* 2021; 596(7873): 583–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
17. Shafer R.W., Rhee S.Y., Pillay D., Miller V., Sandstrom P., Schapiro J.M., et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS.* 2007; 21(2): 215–23. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328011e691>
18. Berezov T.T., Kоровкин B.F. *Biological Chemistry [Biologicheskaya khimiya].* Moscow: Meditsina; 1998. (in Russian)
19. Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkarimov B.T., Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021; 19: 5960–8. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036>
20. Tee K.K., Thomson M.M., Hemelaar J. Editorial: HIV-1 genetic diversity, volume II. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 1007037. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1007037>
21. Бобкова М.Р. Genetic diversity of human immunodeficiency viruses and antiretroviral therapy. *Терапевтический архив.* 2016; 88(11): 103–11. <https://doi.org/10.17116/terarkh2016881103-11> <https://elibrary.ru/xeaxsb> (in Russian)

REFERENCES

1. German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut), Subgroup «Assessment of Pathogens Transmissible by Blood». Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfus. Med. Hemother.* 2016; 43(3): 203–22. <https://doi.org/10.1159/000445852>
2. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
3. Kuznetsova A.I. The role of HIV-1 polymorphism in the pathogenesis of the disease. *VICH-infektsiya i immunosupressii.*

22. Cilento M.E., Kirby K.A., Sarafianos S.G. Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase. *Chem. Rev.* 2021; 121(6): 3271–96. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00967>
23. Gotor P.T., Brown K., Martin D.R., van der Sluis R., Cloete R., Williams M.E. Impact of subtype C-specific amino acid variants on HIV-1 Tat-TAR interaction: insights from molecular modelling and dynamics. *Viol. J.* 2024; 21(1): 144. <https://doi.org/10.1186/s12985-024-02419-6>
24. Mishra M., Vetrivel S., Siddappa N.B., Ranga U., Seth P. Clade-specific differences in neurotoxicity of human immunodeficiency virus-1 B and C Tat of human neurons: Significance of dicysteine C30C31 motif. *Ann. Neurol.* 2008; 63(3): 366–76. <https://doi.org/10.1002/ana.21292>

Информация об авторах:

Кузнецова Анна Игоревна ✉ – канд. биол. наук, заведующая лабораторией вирусов лейкозов, ведущий научный сотрудник института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: a-myznikova@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5299-3081>

Антонова Анастасия Александровна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: aantonova1792@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9180-9846>

Лебедев Алексей Владимирович – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: lebedevalesha236@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6787-9345>

Ожмегова Екатерина Никитична – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3110-0843>

Шлыкова Анастасия Вениаминовна – научный сотрудник лаборатории диагностики и молекулярной эпидемиологии ВИЧ-инфекции ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: murzakova_a.v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1390-8021>

Лаповок Илья Андреевич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: i_lapovok@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6328-1415>

Галзитская Оксана Валериевна – д-р физ.-мат. наук, заведующая лабораторией биоинформатики, главный научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: ogalzit@vega.protres.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3962-1520>

Участие авторов: Кузнецова А.И. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Антонова А.А. – анализ и интерпретация данных, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Лебедев А.В. – подготовка текста; Ожмегова Е.Н. – анализ и интерпретация данных; Шлыкова А.В. – проведение экспериментов и подготовка текста; Лаповок И.А. – проведение экспериментов и подготовка текста; Галзитская О.В. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста, научное редактирование статьи.

Поступила 03.10.2024
Принята в печать 09.12.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Anna I. Kuznetsova ✉ – head of laboratory of T-lymphotropic viruses, PhD, leading researcher, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: a-myznikova@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5299-3081>

Anastasiia A. Antonova – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: aantonova1792@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9180-9846>

Aleksey V. Lebedev – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: lebedevalesha236@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6787-9345>

Ekaterina N. Ozhmegova – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3110-0843>

Anastasia V. Shlykova – Researcher, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia. E-mail: murzakova_a.v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1390-8021>

Ilya A. Lapovok – PhD, Senior researcher, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia. E-mail: i_lapovok@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6328-1415>

Oxana V. Galzitskaya – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Head of the Bioinformatics Laboratory, Chief Researcher, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 18, Gamaleya street, 123098, Moscow, Russia <https://orcid.org/0000-0002-3962-1520>, e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Contribution: Kuznetsova A.I. – the study concept and design, analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Antonova A.A. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Lebedev A.V. – preparing of the text; Ozhmegova E.N. – analysis and interpretation of the data; Shlykova A.V. – conducting of the experiments and preparing of the text; Lapovok I.A. – conducting of the experiments and preparing of the text; Galzitskaya O.V. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, editing and reviewing the manuscript.

Received 03 October 2024
Accepted 09 December 2024
Published 26 December 2024

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-277>

© ВАНЬКОВА О.Е., БРУСНИГИНА Н.Ф., НОВИКОВА Н.А., 2024



Распространение и филогенетический анализ геновариантов цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) у детей и иммунокомпромированных пациентов в центральной части России

Ванькова О.Е.✉, Бруснигина Н.Ф., Новикова Н.А.

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме

Введение. Цитомегаловирус (ЦМВ) – ДНК-содержащий вирус, широко распространенный по всему миру и имеющий важное значение в инфекционной патологии детей и взрослых.

Цель – определить встречаемость ЦМВ у детей и иммунокомпроментированного населения Нижегородского региона (центральная часть России) и провести филогенетический анализ выявленных штаммов на основе генов *UL55* и *UL73*.

Материалы и методы. Исследовали образцы ДНК ЦМВ, обнаруженного у часто болеющих детей и взрослых – реципиентов солидных органов. Оценку генетического разнообразия ЦМВ проводили по двум варибельным генам: *UL55(gB)* и *UL73(gN)*, с применением технологии NGS на платформе Illumina. Филогенетические деревья были построены в программе MEGA X, достоверность топологии кластеров на деревьях подтверждена с помощью метода rapid bootstrap на основе генерации 500 псевдореплик.

Результаты. Установлена циркуляция на территории нижегородского региона ЦМВ 5 генотипов по гену *UL55(gB)* и 5 генотипов по гену *UL73(gN)*. При этом как у детей, так и у взрослых доминировали генотипы gB1 и gB2, генотип gB5 был выявлен только у детей. Спектр gN-генотипов был более разнообразным: у детей преобладали генотипы gN4a и gN3b, а у взрослых – генотипы gN1 и gN4b. Полученные результаты позволили установить сходство пейзажа генотипов ЦМВ, циркулирующих в России (Нижегородский регион), Бразилии, Китае и США.

Заключение. Установлено сходство пейзажа генотипов ЦМВ, циркулирующих в России (Нижегородский регион), Бразилии, Китае и США: у детей доминируют генотипы gB1 (40,0%), gB2 (33,3%), gN4a (42,8%) и gN3b (28,6%), а у взрослых (реципиентов солидных органов) – gB1 (37,5%), gB2 (37,5%), gN1 (26,3%) и gN4b (26,3%).

Ключевые слова: цитомегаловирус; генотип; филогенетический анализ; генетическое разнообразие

Для цитирования: Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф., Новикова Н.А. Распространение и филогенетический анализ геновариантов цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) у детей и иммунокомпромированных пациентов в центральной части России. *Вопросы вирусологии.* 2024; 69(6): 535–545. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-277> EDN: <https://elibrary.ru/epnrvav>

Финансирование. Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).

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

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов и законных представителей несовершеннолетних пациентов. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) (Протокол № 2 от 19.09.2024).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-277>

Prevalence and phylogenetic analysis of cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) genetic variants from children and immunocompromised patients in central Russia

Ol'ga E. Van'kova[✉], Nina F. Brusnigina, Nadezhda A. Novikova

Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Academician I.N. Blokhina, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

Introduction. Cytomegalovirus (CMV) is a DNA-containing virus that is widespread worldwide and is of great importance in infectious pathology of children and adults.

The aim of this study is to evaluate the prevalence of CMV among children and immunocompromised patients in the Nizhny Novgorod region (central Russia) and to perform a phylogenetic analysis of the identified strains.

Materials and methods. DNA samples of CMV detected in frequently ill children and adult recipients of solid organs were studied. The genetic diversity of CMV was assessed for two variable genes: *UL55*(gB) and *UL73*(gN), using NGS technology on the Illumina platform. Phylogenetic trees were constructed in the MEGA X program, the reliability of the cluster topology on the trees was confirmed using the rapid bootstrap method based on the generation of 500 pseudo-replicas.

Results. Circulation of 5 CMV genotypes by gene *UL55*(gB) and 5 genotypes by gene *UL73*(gN) was established in the territory of the Nizhny Novgorod region. While genotypes gB1 and gB2 dominated both in children and in adults, genotype gB5 was detected only in children. The spectrum of gN genotypes was more diverse: genotypes gN4a and gN3b prevailed in children, and gN1 and gN4b genotypes were predominant in adults. The obtained results allowed us to establish the similarity of the landscape of CMV genotypes circulating in Russia (Nizhny Novgorod region), Brazil, China and the USA.

Conclusion. The obtained data indicate the similarity of the landscape of CMV genotypes circulating in Russia (Nizhny Novgorod region), Brazil, China and the USA: in children, the predominant genotypes are gB1 (40.0%), gB2 (33.3%), gN4a (42.8%), and gN3b (28.6%), while in adults (recipients of solid organs) genotypes gB1 (37.5%), gB2 (37.5%), gN1 (26.3%), and gN4b (26.3%) are prevailed.

Keywords: *Cytomegalovirus; genotype; phylogenetic analysis; genetic diversity*

For citation: Van'kova O.E., Brusnigina N.F., Novikova N.A. Prevalence and phylogenetic analysis of cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) genetic variants from children and immunocompromised patients in central Russia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 535–545 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-277> EDN: <https://elibrary.ru/epnrv>

Funding. The study was conducted as part of the State assignment of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор).

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 patients and legal representatives of minor patients. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Right Protection and Human Welfare (Rosпотребнадзор) (Protocol No. 2 dated 19.09.2024).

Введение

Цитомегаловирус (ЦМВ) (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) относится к крупным цитоплазматическим ДНК-вирусам и имеет сферический/плейоморфный вирион диаметром 150–200 нм. Вирион имеет сложную структуру – икосаэдрический капсид (Т = 16, 162 капсомера), содержащий линейную двунитевую ДНК, который окружен липидной оболочкой, включающей множество гликопротеиновых комплексов и элементы аморфного белкового матрикса (тегумента) [1].

ЦМВ широко распространен по всему миру. Инфекция, вызываемая ЦМВ, принадлежит к категории

социально значимых и представляет серьезную проблему для современного здравоохранения. Это связано с высокой долей инфицированности населения (50–90% в большинстве стран мира), полиморфизмом клинических проявлений, многообразием путей и факторов передачи инфекции [2]. У здоровых людей первичная цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) протекает бессимптомно, но у иммунокомпрометированных пациентов (реципиентов солидных органов, ВИЧ-инфицированных, онкобольных) ЦМВИ имеет зачастую тяжелое течение, приводящее к различного рода осложнениям, включая пневмонию, гепатит, энцефалит, колит, увеит, ретинит, слепоту, и даже

к летальному исходу. Серьезной проблемой является заражение ЦМВ реципиентов крови и солидных органов, поскольку фактором передачи инфекции может быть не только перелитая кровь, но и орган [3, 4].

ЦМВИ является основной причиной врожденных пороков развития у детей раннего возраста. В разных странах мира частота внутриутробного заражения плода ЦМВ колеблется от 0,3 до 3%, в России – от 0,1 до 2,8% [5, 6]. В Центральной части России (Нижегородская область) частота выявления ДНК ЦМВ у детей (580 человек) варьирует от 3,8 до 18,9%, в зависимости от клинической формы заболевания, при этом установлены высокие показатели инфицированности детей в возрасте от 1 года до 3 лет (56,1–58,5%) [7]. Частота обнаружения ДНК ЦМВ у 160 пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов (печени и почек), составила 37,7% [8].

Значимость ЦМВИ в инфекционной патологии детей и взрослых определяет необходимость молекулярно-генетического изучения возбудителя. Геном ЦМВ значительно больше, чем геномы других герпесвирусов, и представлен линейной двухцепочечной ДНК длиной 220–240 кб, кодирующей около 165 генов (открытых рамок считывания, ОРС) [1]. Геном ЦМВ имеет два уникальных участка ДНК – длинный регион (UL) и короткий регион (US), фланкированные инвертированными повторами b (TRL/IRL) и c (IRS/TRS) [9]. Следует отметить, что большая часть генома разных штаммов ЦМВ достаточно консервативна, но отдельные гены могут демонстрировать высокую вариабельность [10].

Несмотря на отсутствие в настоящее время общепринятой системы генотипирования ЦМВ, для дифференциации штаммов часто используются вариабельные гены: *UL55(gB)*, *UL73(gN)*, *UL74(gO)*, *UL144-TNRF*.

Ген *UL55* кодирует гликопротеин gB (906 а.о.), который относится к гликопротеиновому комплексу gC-I, играет значительную роль в присоединении и проникновении вируса в клетку хозяина и является основной мишенью для нейтрализующих антител. Кроме того, он участвует в процессе вирусной репликации, отвечает за слияние клеток и распространение вируса от клетки к клетке. В настоящее время известно 7 основных gB-генотипов ЦМВ: gB-1, gB-2, gB-3, gB-4, gB-5, gB-6, gB-7. Область основной вариабельности расположена в позиции 448–481 а.о. [11].

Ген *UL73* кодирует гликопротеин gN (138 а.о.), который индуцирует образование нейтрализующих антител и участвует в присоединении вируса к клетке хозяина. Гликопротеин gN является самым полиморфным белком среди белков ЦМВ человека [12]. Показано, что аминокислотные замены присутствуют в N-концевой области белка и захватывают участок первых 87 а.о. Данный участок расположен на поверхности вирусной оболочки. Различают 7 gN-генотипов ЦМВ: gN-1, gN-2, gN3a, gN3b и gN4a, gN4b, gN4c [12, 13].

В России исследования ЦМВ в основном направлены на изучение эпидемиологических и клинических

аспектов инфекции среди разных групп населения. Знания о пейзаже генотипов ЦМВ и региональных особенностях их циркуляции необходимы для эффективного эпидемиологического надзора за ЦМВИ и разработки отечественных вакцин.

Цель работы – оценить филогенетические взаимоотношения штаммов ЦМВ, обнаруженных у детей и иммунокомпрометированного населения Нижегородского региона, на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73*.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили 52 образца ДНК, которая была выделена из биологических субстратов, полученных от пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов и находящихся на стационарном лечении во ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, а также часто болеющих детей, обратившихся в медицинские организации Нижнего Новгорода и Нижегородской области. Оценку генетического разнообразия ЦМВ проводили по двум вариабельным генам: *UL55(gB)* и *UL73(gN)*.

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов и законных представителей несовершеннолетних пациентов. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) (Протокол № 2 от 19.09.2024).

Выделение и очистку ДНК осуществляли сорбционным методом с применением наборов «ДНК-сорб В» (ФСР 2012/14019) и «ДНК-сорб АМ» (ФСР 2007/00183) согласно инструкции производителя (ЦНИИЭ, Россия). Выделенную и очищенную ДНК хранили при -70°C до момента анализа.

Аmplификацию выделенной ДНК проводили в термоциклере «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Россия) и Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Австралия).

Продукты амплификации детектировали путем горизонтального электрофореза в 1,8% агарозном геле с использованием трис-боратной-ЭДТА (ТВЕ) буферной системы (pH 8,2). Визуализацию и учет результатов реакции осуществляли с помощью геле-документирующей видеосистемы Geldoc EZ и программы Image Lab 5.0 (Bio-Rad).

Секвенирование фрагментов выполняли с применением технологии секвенирования нового поколения (NGS) на платформе MiSeq и iSeq (Illumina, США). Концентрацию ДНК в образцах определяли на флуориметре Qubit (Invitrogen, Австрия) с использованием набора Qubit DNA HS Assay Kit (Invitrogen, США). Библиотеки ДНК для секвенирования готовили с помощью набора Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (Illumina, США), ShotGun SG GM (ООО «Сесана», Россия) и комплекта индексированных праймеров для двойного баркодирования для секвенаторов Illumina (Raissol, Россия), в соответствии с инструкцией про-

изготовителя. Качество подготовленной библиотеки ДНК для секвенирования оценивали на флуориметре Qubit (ThermoFisher, США) и автоматизированной системе капиллярного гель-электрофореза QIAxcel Advanced System (QIAGEN, Германия) с применением набора реагентов для быстрого разделения фрагментов ДНК QIAxcel DNA Fast Analysis Kit (3000) (QIAGEN, Германия) и программного обеспечения QIAxcel ScreenGel (QIAGEN, Германия). Для секвенирования использовали набор MiSeq reagent kit v2 на 500 циклов и iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) (Illumina, США).

Выравнивание и сборку полученных коротких чтений относительно референс-генома осуществляли с использованием встроенного в секвенатор программного обеспечения и программы CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio, США). Анализ последовательности генов (*UL55*(gB) и *UL73*(gN)) ЦМВ проводили с использованием алгоритма BLAST и пакета программ, представленных на сервере NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли с помощью программы CLUSTALX 2.0 (<http://bips.ustrasbg.fr/fr/Documentation/ClustalX/>).

Генетическое разнообразие исследуемых изолятов ЦМВ оценивали с использованием анализа нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* ЦМВ, основанного на биоинформатических методах. Для этого были амплифицированы и секвенированы фрагменты генов ЦМВ *UL55*(gB) и *UL73*(gN) длиной 356 и 406 п.н. соответственно. Для проведения филогенетического анализа из международной базы данных GenBank были отобраны нуклеотидные последовательности гена *UL55*(gB) 12 референс-штаммов и 37 клинических изолятов ЦМВ, полученных в разных странах Европы (Италии, Испании, Бельгии, Великобритании), США, Китае, Мексике, Индии, Египте, а также гена *UL73*(gN) – 7 референс-штаммов и 39 клинических изолятов ЦМВ из стран Европы (Италии, Испании, Великобритании), США, Китая, Индии. Дифференциацию кластеров проводили на основе сравнения уровня сходства нуклеотидных последовательностей, рассчитанного методом попарных дистанций (*p*-distans), как внутри, так и между отдельными кластерами. На основе выбранных после-

довательностей в программе MEGA-X (версия 10.2.6) были построены филогенетические деревья с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum likelihood). Достоверность топологии кластеров на деревьях подтверждали с помощью rapid bootstrap-анализа на основе генерации 500 псевдо-реплик [12]. Принадлежность изучаемых штаммов к филогенетическим линиям и сублиниям определяли на основе кластеризации изолятов на филогенетических деревьях с индексом поддержки узлов более 75 и высокого уровня сходства нуклеотидных последовательностей (98,5–100%).

Статистический анализ проводили с помощью общепринятых алгоритмов в программах Microsoft office (Excel), пакета статистических программ Statz, Statistica 6.0, Biostat. Достоверным считали различие между сравниваемыми величинами с уровнем доверительной вероятности 95 и 99% при $p < 0,05$ и $p < 0,001$.

Результаты

С использованием ранее предложенного нами алгоритма генотипирования были определены спектры и долевое распределение gB- и gN-генотипов ЦМВ, циркулирующего среди детей и взрослых Нижегородского региона. Результаты генотипирования, проведенного по двум генам (*UL55* и *UL73*), показали, что штаммы ЦМВ характеризовались высоким генетическим разнообразием. Спектр идентифицированных gB-генотипов ЦМВ у детей состоял из 5 кластеров (gB1, gB2, gB3, gB4 и gB5), а у взрослых – из 4 (gB1, gB2, gB3, gB4) (рис. 1).

Пейзаж gN-генотипов включал 4 кластера (gN4c, gN4a, gN3b, gN1) у детей и 5 кластеров у реципиентов органов (gN1, gN3a, gN3b, gN4a, gN4b, gN4c) (рис. 2).

Сравнительный анализ распространенности gB- и gN-генотипов показал, что у детей доминировали генотипы gB1 (40,0%), gB2 (33,3%), gN4a (42,8%) и gN3b (28,6%), а у взрослых (реципиентов солидных органов) преобладали генотипы gB1 (37,5%), gB2 (37,5%), gN1 (26,3%) и gN4b (26,3%). Смешанная инфекция, обусловленная сочетанием двух и трех генотипов ЦМВ, была выявлена в 6 случаях у детей и 5 случаях у взрослых. Установлены следующие сочетания генотипов: gB4 и gB2; gB1 и gB2; gN3b и gN4a; gN1 и gN4a; gN4a, gN1 и gN3b у детей, и gB4,

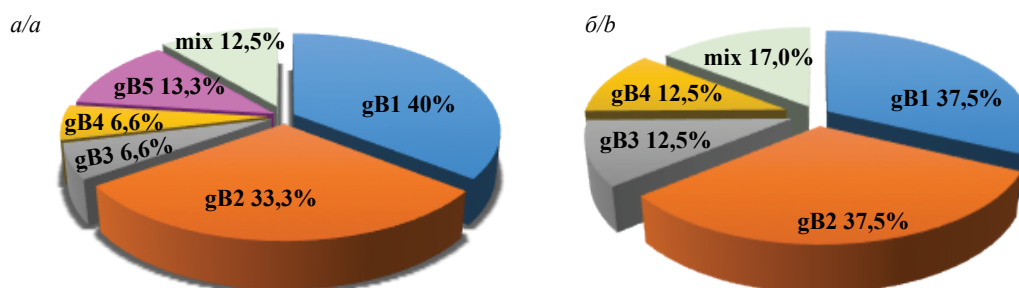
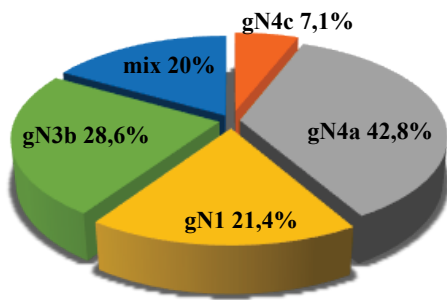


Рис. 1. Частота встречаемости gB-генотипов ЦМВ у детей (а) и взрослых реципиентов органов (б).

Fig. 1. Frequency of occurrence of CMV gB genotypes in children (a) and adult organ recipients (b).

a/a



b/b

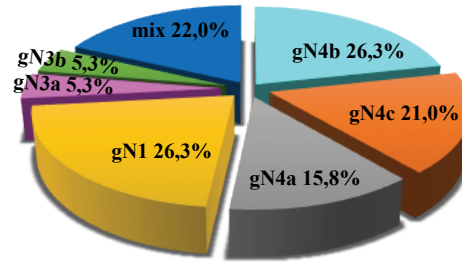


Рис. 2. Частота встречаемости gN-генотипов ЦМВ у детей (a) и взрослых реципиентов органов (б).

Fig. 2. Frequency of occurrence of CMV gN genotypes in children (a) and adult organ recipients (b).

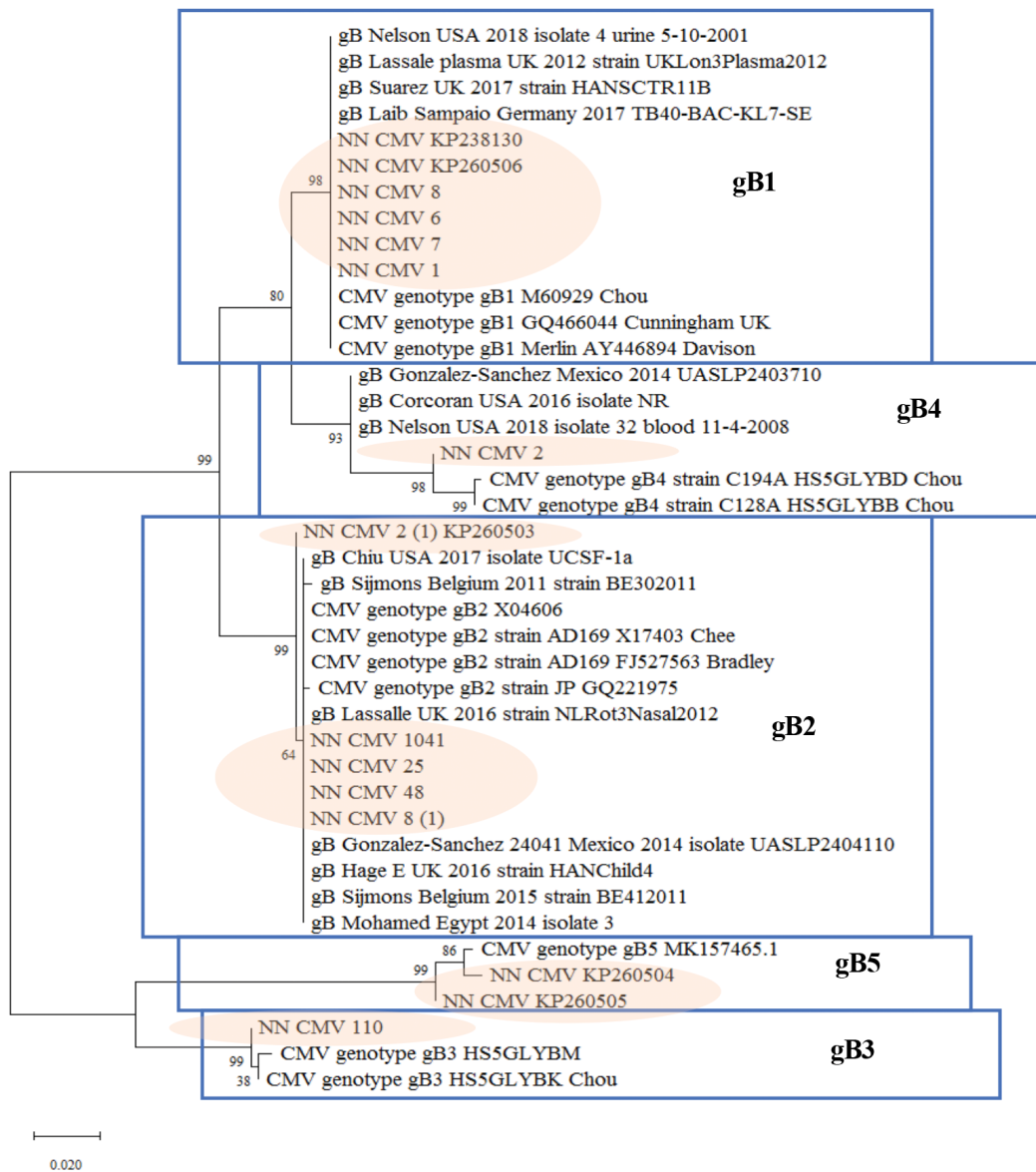


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента (366 н.о.) гена *UL55(gB)* ЦМВ, обнаруженного у детей.

Fig. 3. Phylogenetic tree based on partial nucleotide sequences of CMV *UL55(gB)* gene (366 nt) isolated from children, built using the Maximum Likelihood algorithm.

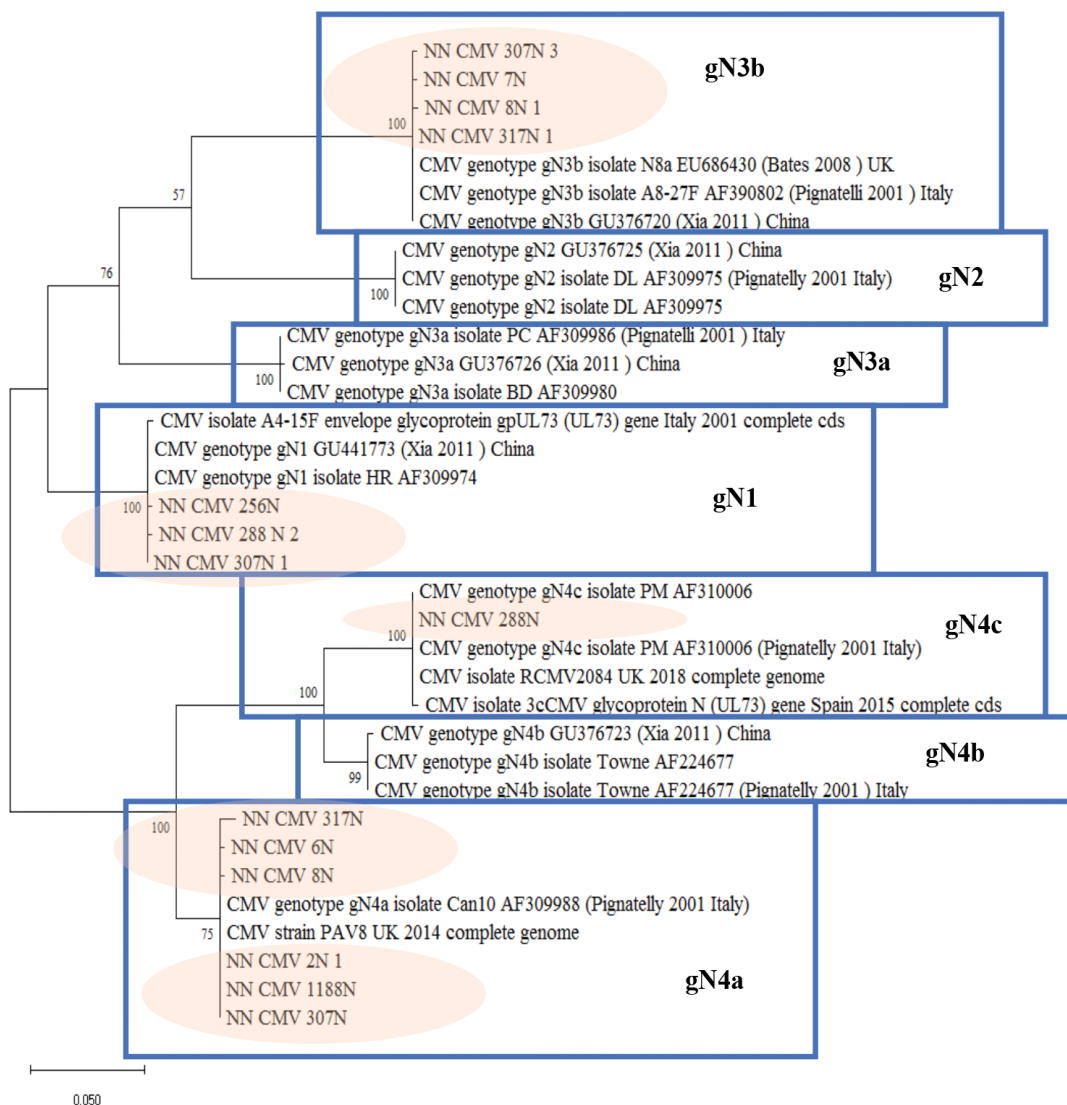


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL73(gN)* (420 н.о.) ЦМВ, обнаруженного у детей.

Fig. 4. Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of CMV *UL73(gN)* gene (420 nt) isolated from children, built using the Maximum Likelihood algorithm.

и gB3; gN4c, gN4b и gN3b; gN4a и gN1; gN4c и gN1; gN4c и gN4a у взрослых.

Филогенетический анализ цитомегаловируса

Для изучения филогенетических взаимоотношений штаммов выявленных ЦМВ были использованы нуклеотидные последовательности двух генов (*UL55* и *UL73*). Филогенетический анализ позволил изучить внутригенотиповое разнообразие исследуемых штаммов на уровне линий и сублиний. Филогенетические деревья, построенные на основе нуклеотидных последовательностей генов *UL55(gB)* и *UL73(gN)* анализируемых и депонированных в базе данных GenBank/NCBI изолятов ЦМВ, выделенных у детей и взрослых реципиентов органов, с использованием метода Maximum Likelihood, представлены на **рис. 3–6**.

Уровень сходства между отдельными кластерами gB-генотипов, рассчитанного на основании P-distans, варьировал от 76,5 до 87,2% н.о.

Кластер, объединивший российские изоляты ЦМВ генотипа gB1, выявленного у детей и взрослых, составил общую группу с изолятами ЦМВ, циркулирующего на территории Великобритании, США и Германии. Идентичность внутри группы варьировала от 97,8 до 100% н.о., а с другими кластерами – от 81,9 до 96,5% н.о.

Исследуемые штаммы ЦМВ генотипа gB2, обнаруженные у детей и взрослых реципиентов органов, вошли в общую группу с изолятами, выделенными на территории США, Мексики, Великобритании, Египта и стран Европы, уровень гомологии внутри группы составил 98,8–100% н.о. Следует отметить, что изоляты ЦМВ, выявленные у реципиентов солидных ор-

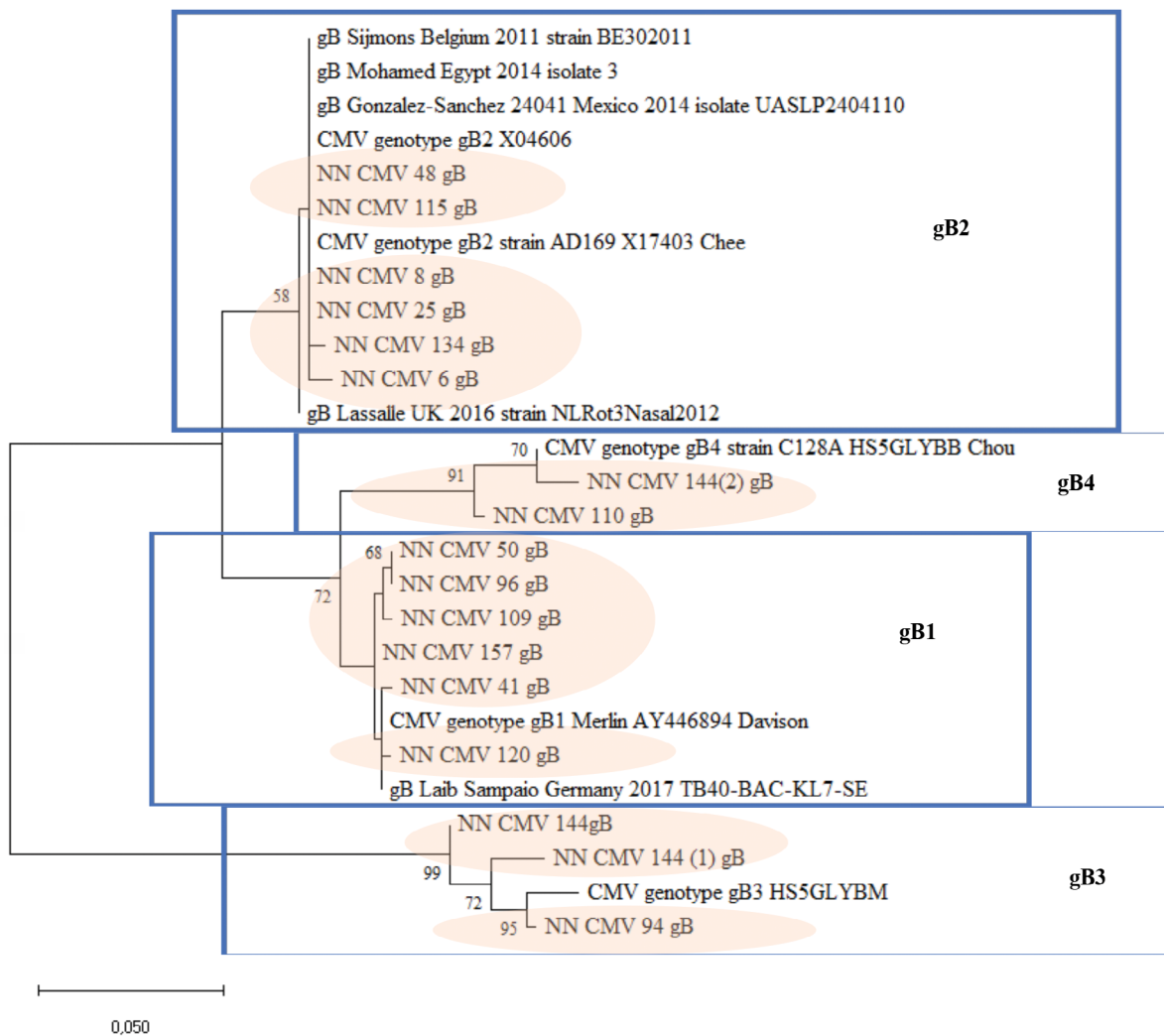


Рис. 5. Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL55(gB)* (366 н.о.) ЦМВ, выявленного у взрослых реципиентов солидных органов.

Fig. 5. Phylogenetic tree based on partial nucleotide sequences CMV *UL55(gB)* gene (366 nt) isolated from adults solid organ recipients, built using the Maximum Likelihood algorithm.

ганов, заняли отдельную ветвь и отличались от изолятов ЦМВ, взятых из GenBank, при их сравнении с другими кластерами, сходство варьировало в пределах от 83,0 до 96,5% н.о.

Штаммы ЦМВ, имеющие генотип gB4, вошли в одну группу с изолятами, выделенными в США и Мексике, уровень идентичности нуклеотидных последовательностей внутри группы варьировал от 98,0 до 100,0% н.о, при этом процент схожести с другими кластерами составил 81,9–96,0% н.о.

Установлен высокий (96,0–99,4% н.о) уровень гомологии внутри группы, соответствующей генотипу gB3, сходство с другими кластерами варьировало от 82,0 до 88,7% н.о.

Особый интерес представляли обнаруженные у детей штаммы ЦМВ, принадлежащие генотипу gB5. Показан высокий уровень (98,5–99,1% н.о) их идентичности внутри группы. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL55* российских

и представленных в международной базе GenBank изолятов ЦМВ показал, что наиболее близкими оказались кластеры gB4 и gB1, которые образовали две отдельные группы с самым высоким процентом сходства между собой (от 93,9 до 97,5% н.о.).

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL73(gN)* показал, что уровень идентичности между отдельными кластерами варьировал от 74,8 до 87,7% н.о. Нижегородские штаммы ЦМВ генотипа gN4c образовали общую группу с изолятами, выявленными на территории Великобритании и Италии, уровень гомологии внутри группы составил 99,8–100% н.о. Штаммы ЦМВ генотипов gN3b и gN1 вошли в общую группу со штаммами ЦМВ, циркулирующего на территории Китая, Италии и Великобритании, уровень идентичности нуклеотидных последовательностей внутри каждой группы составил 99,8–100% н.о. Установлен высокий уровень гомологии (99,5–100%

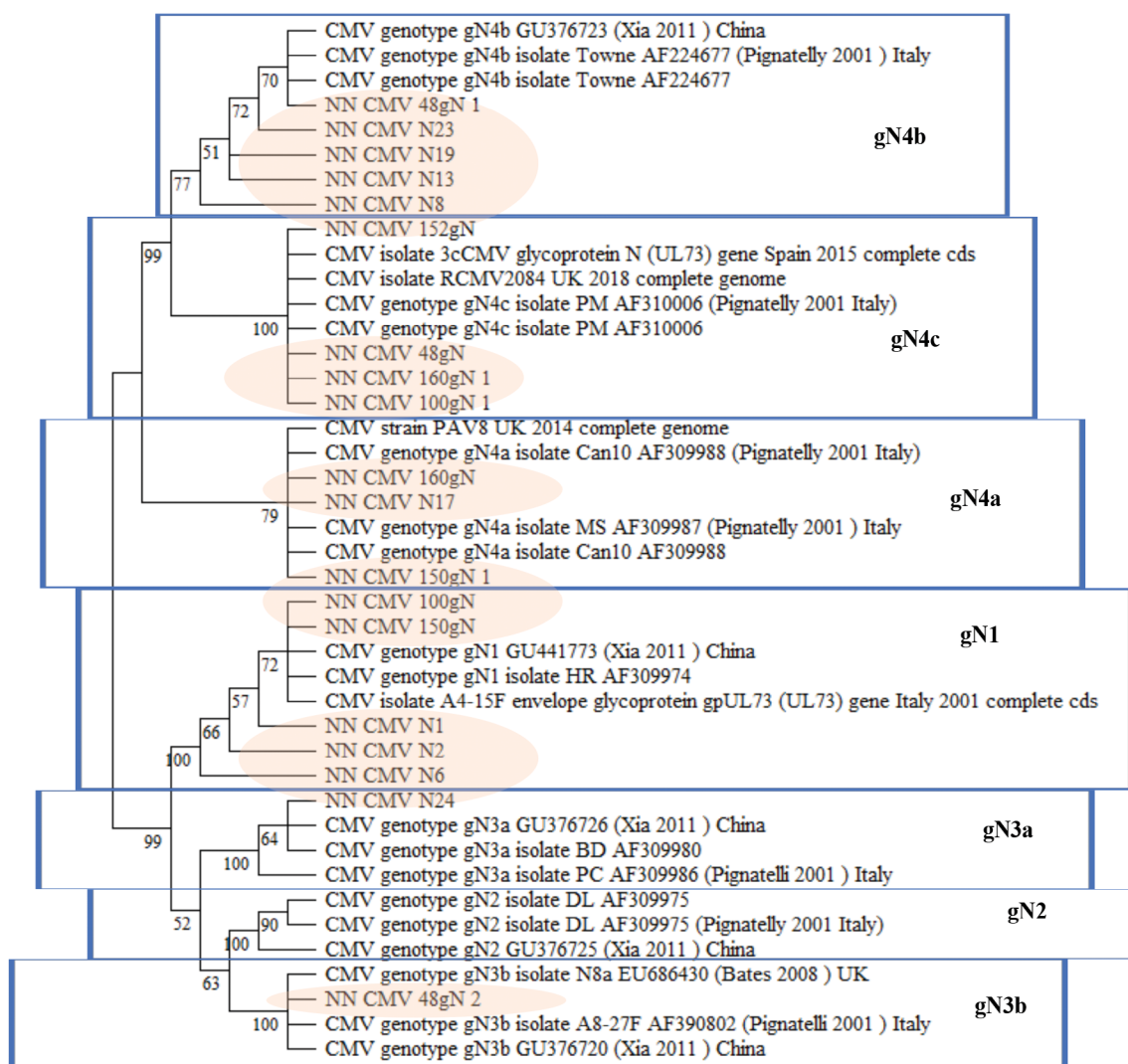


Рис. 6. Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL73(gN)* (420 н.о.) ЦМВ, выявленного у взрослых реципиентов солидных органов.

Fig. 6. Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of CMV *UL73(gN)* gene (420 nt) isolated from adults solid organ recipients, built using the Maximum Likelihood algorithm.

н.о.) штаммов вируса генотипа gN4a с ЦМВ, выделенным в Италии.

Определено близкое родство нуклеотидных последовательностей гена *UL73* штаммов ЦМВ генотипа gN4c с нуклеотидными последовательностями вируса, выявленного на территории Италии и Великобритании. Уровень идентичности последовательностей внутри группы варьировал от 99,75 до 100% н.о. Штаммы ЦМВ генотипа gN4a, обнаруженные у реципиентов органов, так же, как и у детей, образовали общую группу с ЦМВ, циркулирующим на территории Италии. Степень их сходства внутри группы варьировал от 99,5 до 100% н.о.

Для штаммов ЦМВ генотипа gN4b, по сравнению с другими группами вируса, установлен более низкий уровень сходства, который варьировал в пределах 93,4–100% н.о. В эту группу анализируемые штаммы вошли вместе с вариантами, выделенными

в Италии и Китае. Штаммы ЦМВ генотипа gN1 характеризовались высоким уровнем идентичности (99,7–100%) нуклеотидных последовательностей гена *UL73* и образовали общую группу со штаммами, выявленными на территории Китая. Представители кластера gN3b объединились с вариантами ЦМВ, выявленными в Италии, Великобритании и Китае. Уровень идентичности между отдельными кластерами варьировал от 73,8 до 81,6% н.о.

Обсуждение

В настоящее время уделяется большое внимание изучению генотипового разнообразия ЦМВ в группах риска среди детей и взрослых. Сравнительный анализ распространенности различных генотипов ЦМВ у детей и взрослых пациентов, перенесших пересадку органов, в разных странах мира и России по результатам собственных исследований выявил сходство

пейзажа генотипов ЦМВ, циркулирующего в России, Бразилии, Китае и США. Установленные нуклеотидные последовательности распределились по кластерам, соответствующим определенным генотипам ЦМВ, новые генотипы не были обнаружены. Уровень идентичности для каждого генотипа внутри группы был порядка 96,0–100% н.о., а между разными кластерами варьировал от 73,8 до 87,6% н.о.

Следует отметить сходство спектров gB-генотипов в исследуемых нами группах пациентов, исключение составил генотип gB5, который был выявлен у детей и отсутствовал у взрослых реципиентов органов. Генотипы gB1 и gB2 доминировали как у детей, так и у взрослых, частота встречаемости других вариантов gB-генотипов не имела существенных отличий. По данным литературы, генотип gB1 превалирует у детей с врожденной ЦМВИ в большинстве стран мира, а среди пациентов, перенесших пересадку органов, – в Канаде, Польше и Бразилии [8, 12, 15, 16]. Кроме того, генотип gB5 у детей с врожденной ЦМВИ был обнаружен у взрослых реципиентов органов в США, в минорных количествах он был выявлен в Китае [17, 18].

Работы, посвященные типированию ЦМВ по гену *UL73*(gN), встречаются значительно реже, чем по гену *UL55*(gB), поскольку ген *UL73* является наиболее полиморфным среди генов, кодирующих поверхностные гликопротеины ЦМВ. Спектр gN-генотипов в исследуемых нами группах был более разнообразным. Показано, что у детей доминировали генотипы gN4a и gN3b, а у взрослых реципиентов органов – генотипы gN1 и gN4b. Следует отметить, что в публикациях зарубежных исследователей имеются противоречивые данные о распространенности разных gN-генотипов у детей и взрослых из групп риска. Отмечены также различия в пейзаже генотипов. Так, по данным S. Pignatelli и соавт., в Италии у детей доминировали генотипы gN4c, gN1 и gN4a, а, по данным китайских исследователей, – генотипы gN1 и gN3a; генотип gN3b были обнаружены у детей в США [12, 17, 19]. Таким образом, спектр gN-генотипов российских изолятов ЦМВ идентичен спектру генотипов ЦМВ, циркулирующего в Италии и США. У пациентов – реципиентов органов, согласно данным литературы, в Китае и Сербии доминируют генотипы gN1 и gN3a [8, 20]. Генотип gN4b циркулировал только в Сербии. Следует отметить, что пейзаж gN-генотипов ЦМВ, выявленного у реципиентов солидных органов в России, близок к спектру gN-генотипов, циркулирующих в Сербии. Штаммы генотипа gN3a встречались только у реципиентов солидных органов и не доминировали в популяции ЦМВ.

Известно, что у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного генеза часто регистрируется ЦМВИ, обусловленная двумя и более генотипами [21]. Аналогичные результаты получены в настоящем исследовании. Так, у детей смешанная ЦМВИ выявлена в 12,5% случаев, у реципиентов органов – в 22,0%. Следует отметить, что современные молекулярные технологии, такие как NGS, являются перспективными и высокоточными методами для

оценки эволюционно-генетического разнообразия широкого спектра возбудителей инфекционных болезней, включая ЦМВ. Кроме того, использование высокопроизводительного секвенирования позволяет в одной реакции определить у пациента наличие нескольких штаммов вируса, в том числе и тех, которые присутствуют в минорных количествах. Проведение таких исследований необходимо при обследовании лиц из групп риска по ЦМВ, т.к. ЦМВИ, обусловленная ассоциацией нескольких генотипов ЦМВ, может протекать более тяжело, и для элиминации вируса требуется больше времени.

Проведенный анализ пейзажа gB- и gN-генотипов ЦМВ показал, что предпочтительным является способ генотипирования ЦМВ по гену *UL55*. Кроме того, поверхностный гликопротеин gB является основным компонентом при разработке вакцин, т.к. он является мишенью для нейтрализующих антител и цитотоксических Т-клеток. Как эпидемиологический маркер он интересен еще и тем, что участвует не только в процессе проникновения вируса в клетку, но и в распространении вируса от клетки к клетке [9].

Заключение

Результаты проведенного исследования позволили охарактеризовать генотиповую структуру территориальной (нижегородский регион) популяции ЦМВ, различающуюся в разных группах иммунокомпрометированных пациентов. Установлены филогенетические связи со штаммами вируса, циркулирующего на территории Бразилии, Китая и США. Полученная информация необходима для понимания эволюционных процессов в популяции ЦМВ.

ЛИТЕРАТУРА

- Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021; 19(2): 110–21. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00448-w>
- Ssentongo P., Hehnly C., Birungi P., Roach M.A., Spady J., Fronte C., et al. Congenital cytomegalovirus infection burden and epidemiologic risk factors in countries with universal screening. *JAMA Netw. Open.* 2021; 4(8): e2120736. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.20736>
- Горбачёв В.В., Дмитраченко Т.И., Семёнов В.М., Егоров С.К. Аспекты реактивации цитомегаловируса у пациентов, находящихся в критическом состоянии. *Журнал инфектологии.* 2022; 14(4): 61–8. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2022-14-4-61-68> <https://elibrary.ru/davphd>
- Hayden R.T., Caliendo A.M. Persistent challenges of interassay variability in transplant viral load testing. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(10): e00782–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00782-20>
- Mu H., Qiao W., Zou J., Zhang H. Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypic distributions and viral load in symptomatic infants. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2023; 17(12): 1806–1813. <https://doi.org/10.3855/jidc.18291>
- Шахгильдян В.И. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: актуальные вопросы, возможные ответы. *Неонатология: новости, мнения, обучение.* 2020; 8(4): 61–72. <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2020-8-4-61-72> <https://elibrary.ru/xsnbrk>
- Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф. Молекулярная и филогенетическая характеристика изолятов цитомегаловируса, выделенных у детей Нижнего Новгорода. *Здоровье населения и среда обитания – 3HuCO.* 2021; (4): 25–30. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-25-30> <https://elibrary.ru/rfedkt>
- Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф. Генотипирование клинических изолятов цитомегаловируса, выделенных у реципиентов


- солидных органов. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(1): 59–68. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GCC-1653> <https://elibrary.ru/thvdbq>
- Ye L., Qian Y., Yu W., Guo G., Wang H., Xue X. Functional profile of human cytomegalovirus genes and their associated diseases: a review. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 2104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02104>
 - Marti-Carreras J., Maes P. Human cytomegalovirus genomics and transcriptomics through the lens of next-generation sequencing: revision and future challenges. *Virus Genes*. 2019; 55(2): 138–64. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1627-3>
 - Sijmons S., Thys K., Ngwese M.M., Damme V.E., Dvorak J., Look M.V., et al. High-throughput analysis of human cytomegalovirus genome diversity highlights the widespread occurrence of gene-disrupting mutations and pervasive recombination. *J. Virol.* 2015; 89(15): 7673–95. <https://doi.org/10.1128/jvi.00578-15>
 - Dong N., Cao L., Zheng D., Su L., Lu L., Dong Z., et al. Distribution of CMV envelop glycoprotein B, H and N genotypes in infants with congenital cytomegalovirus symptomatic infection. *Front. Pediatr.* 2023; 11: 1112645. <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1112645>
 - Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф., Новикова Н.А. NGS-технология в мониторинге генетического разнообразия штаммов цитомегаловируса. *Современные технологии в медицине*. 2023; 15(2): 41–7. <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.2.04> <https://elibrary.ru/gwepec>
 - Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
 - Sarkar A., Das D., Ansari S., Chatterjee R. P., Mishra L., Basu B., et al. Genotypes of glycoprotein B gene among the Indian symptomatic neonates with congenital CMV infection. *BMC Pediatr.* 2019; 19(1): 291. <https://doi.org/10.1186/s12887-019-1666-5>
 - Puhakka L., Pati S., Lappalainen M., Lonnqvist T., Niemensivu R., Lindahl P., et al. Viral shedding and distribution of cytomegalovirus glycoprotein H(UL75), glycoprotein B (UL55), and glycoprotein N(UL73) genotypes in congenital cytomegalovirus infection. *J. Clin. Virol.* 2020; 125: 104287. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104287>
 - Pati S., Pinninti S., Novak Z., Chowdhury N., Patro R., Fowler K., et al. Genotypic diversity and mixed infection in newborn disease and hearing loss in congenital cytomegalovirus infection. *J. Pediatr. Infect. Dis.* 2014; 32(10): 1050–4. <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e31829bb0b9>
 - Wu X.J., Wang Y., Zhu Z.L., Xu Y., He G.S., Han Y., et al. The correlation of cytomegalovirus gB genotype with viral DNA load and treatment time in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2013; 34(2): 109–12. (in Chinese)
 - Pignatelli S., Lazzarotto T., Gatto M.R. Cytomegalovirus gN genotypes distribution among congenitally infected newborns and their relationship with symptoms at birth and sequelae. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(1): 33–41. <https://doi.org/10.1086/653423>
 - Jankovića M., Čupića M., Kneževića A., Vujičić D., Soldatović I., Zečević Ž., et al. Cytomegalovirus glycoprotein B and N genotypes in pediatric recipients of the hematopoietic stem cell transplant. *J. Virology.* 2020; 548: 168–73. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.07.010>
 - Wang H., Valencia S.M., Preifer S.P., Jensen J.D., Kowalik T.F., Permar S.R. Common polymorphisms in the glycoproteins of human cytomegalovirus and associated strain-specific immunity. *Viruses.* 2021; 13(6): 1106. <https://doi.org/10.3390/v13061106>
 - Suárez N.M., Wilkie G.S., Hage E., Camiolo S., Holton M., Hughes J., et al. Human cytomegalovirus genomes sequenced directly from clinical material: variation, multiple-strain infection, recombination, and gene loss. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(5): 781–91. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz208>
 - epidemiologic risk factors in countries with universal screening. *JAMA Netw. Open.* 2021; 4(8): e2120736. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.20736>
 - Gorbachev V.V., Dmitrachenko T.I., Semenov V.M., Egorov S.K. Aspects of cytomegalovirus reactivation in critically ill patients. *Zhurnal infektologii.* 2022; 14(4): 61–8. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2022-14-4-61-68> <https://elibrary.ru/davphd> (in Russian)
 - Hayden R.T., Caliendo A.M. Persistent challenges of interassay variability in transplant viral load testing. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(10): e00782-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00782-20>
 - Mu H., Qiao W., Zou J., Zhang H. Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypic distributions and viral load in symptomatic infants. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2023; 17(12): 1806-1813. <https://doi.org/10.3855/jidc.18291>
 - Shakhgildyan V.I. Congenital cytomegalovirus infection: current challenges and possible solutions. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie.* 2020; 8(4): 61–72. <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2020-8-4-61-72> <https://elibrary.ru/xsnbrk> (in Russian)
 - Vankova O.E., Brusnigina N.F. Molecular and phylogenetic characteristics of cytomegaloviruses isolated from children in Nizhny Novgorod. *Zdorov'e naseleeniya i sreda obitaniya – ZNiSO.* 2021; (4): 25–30. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-25-30> <https://elibrary.ru/rfedkt> (in Russian)
 - Vankova O.E., Brusnigina N.F. Genotyping clinical cytomegalovirus isolates in solid-organs-transplant recipients. *Infektsiya i immunitet.* 2022; 12(1): 59–68. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GCC-1653> <https://elibrary.ru/thvdbq> (in Russian)
 - Ye L., Qian Y., Yu W., Guo G., Wang H., Xue X. Functional profile of human cytomegalovirus genes and their associated diseases: a review. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 2104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02104>
 - Marti-Carreras J., Maes P. Human cytomegalovirus genomics and transcriptomics through the lens of next-generation sequencing: revision and future challenges. *Virus Genes.* 2019; 55(2): 138–64. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1627-3>
 - Sijmons S., Thys K., Ngwese M.M., Damme V.E., Dvorak J., Look M.V., et al. High-throughput analysis of human cytomegalovirus genome diversity highlights the widespread occurrence of gene-disrupting mutations and pervasive recombination. *J. Virol.* 2015; 89(15): 7673–95. <https://doi.org/10.1128/jvi.00578-15>
 - Dong N., Cao L., Zheng D., Su L., Lu L., Dong Z., et al. Distribution of CMV envelop glycoprotein B, H and N genotypes in infants with congenital cytomegalovirus symptomatic infection. *Front. Pediatr.* 2023; 11: 1112645. <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1112645>
 - Vankova O.E., Brusnigina N.F., Novikova N.A. NGS technology in monitoring the genetic diversity of cytomegalovirus strains. *Sovremennye tekhnologii v meditsine.* 2023; 15(2): 41–7. <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.2.04> <https://elibrary.ru/gwepec> (in Russian)
 - Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
 - Sarkar A., Das D., Ansari S., Chatterjee R. P., Mishra L., Basu B., et al. Genotypes of glycoprotein B gene among the Indian symptomatic neonates with congenital CMV infection. *BMC Pediatr.* 2019; 19(1): 291. <https://doi.org/10.1186/s12887-019-1666-5>
 - Puhakka L., Pati S., Lappalainen M., Lonnqvist T., Niemensivu R., Lindahl P., et al. Viral shedding and distribution of cytomegalovirus glycoprotein H(UL75), glycoprotein B (UL55), and glycoprotein N(UL73) genotypes in congenital cytomegalovirus infection. *J. Clin. Virol.* 2020; 125: 104287. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104287>
 - Pati S., Pinninti S., Novak Z., Chowdhury N., Patro R., Fowler K., et al. Genotypic diversity and mixed infection in newborn disease and hearing loss in congenital cytomegalovirus infection. *J. Pediatr. Infect. Dis.* 2014; 32(10): 1050–4. <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e31829bb0b9>
 - Wu X.J., Wang Y., Zhu Z.L., Xu Y., He G.S., Han Y., et al. The correlation of cytomegalovirus gB genotype with viral DNA load and treatment time in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2013; 34(2): 109–12. (in Chinese)
 - Pignatelli S., Lazzarotto T., Gatto M.R. Cytomegalovirus gN genotypes distribution among congenitally infected newborns and their

REFERENCES

- Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021; 19(2): 110–21. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00448-w>
- Ssentongo P., Hehnly C., Birungi P., Roach M.A., Spady J., Fronterre C., et al. Congenital cytomegalovirus infection burden and

- relationship with symptoms at birth and sequelae. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(1): 33–41. <https://doi.org/10.1086/653423>
20. Jankovića M., Ćupića M., Kneževića A., Vujićb D., Soldatovićc I., Zečevićb Ž., et al. Cytomegalovirus glycoprotein B and N genotypes in pediatric recipients of the hematopoietic stem cell transplant. *J. Virology.* 2020; 548: 168–73. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.07.010>
 21. Wang H., Valencia S.M., Preifer S.P., Jensen J.D., Kowalik T.F., Permar S.R. Common polymorphisms in the glycoproteins of human cytomegalovirus and associated strain-specific immunity. *Viruses.* 2021; 13(6): 1106. <https://doi.org/10.3390/v13061106>
 22. Suárez N.M., Wilkie G.S., Hage E., Camiolo S., Holton M., Hughes J., et al. Human cytomegalovirus genomes sequenced directly from clinical material: variation, multiple-strain infection, recombination, and gene loss. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(5): 781–91. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz208>

Информация об авторах:

Ванькова Ольга Евгеньевна  – старший научный сотрудник лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: voe0@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9838-1133>


Бруснигина Нина Федоровна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник – заведующая лабораторией метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: nfbrusnigina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4582-5623>

Новикова Надежда Алексеевна – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник – заведующая лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikova_na@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3710-6648>

Участие авторов: Ванькова О.Е. – разработка концепции и проведение экспериментальных исследований, обработка результатов, анализ и обобщение данных литературы, написание и научное редактирование текста статьи; Бруснигина Н.Ф. – разработка концепции и проведение экспериментальных исследований, анализ и интерпретация данных, написание и научное редактирование текста статьи; Новикова Н.А. – критический пересмотр текста рукописи, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Поступила 31.10.2024
Принята в печать 12.12.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Ol'ga E. Van'kova  – art. researcher, laboratory of metagenomics and molecular indication of pathogens I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: voe0@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9838-1133>

Nina F. Brusnigina – PhD, leading researcher, head of the laboratory of metagenomics and molecular Indication of pathogens Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Academician I.N. Blokhina, Russia. E-mail: nfbrusnigina@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4582-5623>

Nadezhda A. Novikova – DrSci (Biology), professor, leading researcher, head of the laboratory of molecular epidemiology of viral infections Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Academician I.N. Blokhina, Russia. E-mail: novikova_na@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3710-6648>

Contribution: Van'kova O.E. – concept development and conducting experimental studies, results processing, analysis and generalization of literature data, writing and editing text; Brusnigina N.F. – concept development and conducting experimental studies, analysis and interpretation of the data, writing and editing text; Novikova N.A. – critical revision of the text of the manuscript, approval of the final version of the article for publication

Received 31 October 2024
Accepted 12 December 2024
Published 26 December 2024

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279>

© ЛЕНШИН С.В., ВИШНЕВСКАЯ Т.В., РОМАШИН А.В., БУЛЫЧЕВА Ю.И., ВЫШЕМИРСКИЙ О.И., СОЛОВЬЕВА С.А., ГИТЕЛЬМАН А.К., ПАЗИЛИН А.С., ЛЬВОВ Д.К., ХУ Б., ШИ Ч., АЛЬХОВСКИЙ С.В., 2024

Идентификация нового альфакоронавируса (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России

Леншин С.В.¹, Вишневская Т.В.², Ромашин А.В.³, Булычева Ю.И.², Вышемирский О.И.⁴, Соловьева С.А.², Гительман А.К.², Пазилин А.С.², Львов Д.К.², Ху Б.⁵, Ши Ч.^{5,6}, Альховский С.В.^{2✉}

¹Сочинское отделение ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, 354000, г. Сочи, Россия;

²Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

³ФГБУ «Сочинский национальный парк» Минприроды России, 354002, г. Сочи, Россия;

⁴Курчатовский комплекс медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт», 354376, г. Сочи, с. Веселое, Россия;

⁵Ключевая лаборатория вирусологии и биобезопасности, Уханьский институт вирусологии Китайской академии наук, 430071, г. Ухань, Китайская Народная Республика;

⁶Национальная лаборатория Гуанчжоу, Международный Био-остров Гуанчжоу, Гуанчжоу 51005, Китайская Народная Республика

Резюме

Введение. Летучие мыши рассматриваются как основной природный резервуар для альфа- и бетакоронавирусов. В результате преодоления межвидового барьера коронавирусы летучих мышей передаются другим видам млекопитающих, включая сельскохозяйственных животных и человека, что часто приводит к возникновению эпидемических или эпизоотических вспышек и пандемий.

Цель работы. Идентифицировать зоонозные коронавирусы, циркулирующие в популяции подковоносовых летучих мышей (*Rhinolophus* spp.) в южных регионах европейской части России. Определить их генетические и экологические характеристики.

Материалы и методы. Материал для исследования (фекалии летучих мышей) был собран в пещерах на Южном макросклоне большого Кавказа (район Сочи-Адлер) в 2020, 2021 и 2024 гг. Использованы методы метагеномного анализа на основе NGS и ОТ-ПЦР.

Результаты. Идентифицирован новый альфакоронавирус (вирус Кудеп, GenBank № PQ649435), ассоциированный с большим подковоносом (*R. ferrumequinum*). Вирус Кудеп предположительно представляет новый вид подрода *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus*. Максимальное генетическое сходство вирус Кудеп имеет с коронавирусом летучих мышей (от ложного вампира *Cardioderma cor*) из Кении (72% идентичных н.о.) и с группой вирусов YN2012, найденных у подковоносовых летучих мышей в Китае (до 67% н.о.). Результаты ОТ-ПЦР-скрининга показывают, что вирус Кудеп и ранее описанный нами SARS-подобный бетакоронавирус Хоста-1 активно циркулируют на обследованной территории. Зараженность этими вирусами в одной из колоний большого подковоноса осенью 2021 г. достигала 59,2 и 70,5% соответственно. Выявлены частые случаи коинфекции отдельных особей одновременно двумя коронавирусами.

Заключение. Полученные данные расширяют представления о распространении альфакоронавирусов летучих мышей и их генетическом разнообразии. Показано наличие стойкого природного очага потенциально зоонозных коронавирусов (Хоста-1 и Кудеп), связанных с *R. ferrumequinum*, на юге европейской части России.

Ключевые слова: летучие мыши; коронавирусы летучих мышей; вирус Кудеп; вирус Хоста-1; новые и возвращающиеся инфекции; альфакоронавирусы; SARS-CoV-2; подковоносы

Для цитирования: Леншин С.В., Вишневская Т.В., Ромашин А.В., Булычева Ю.И., Вышемирский О.И., Соловьева С.А., Гительман А.К., Пазилин А.С., Львов Д.К., Ху Б., Ши Ч., Альховский С.В. Идентификация нового альфакоронавируса (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 546–556. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279> EDN: <https://elibrary.ru/yiclrv>

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ), проект № 24-44-00079, и Государственного фонда естественных наук Китая, проект № 32361133556.

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 комитетом по этике Сочинского национального парка (Протокол № 5 от 27 декабря 2023 г.).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279>

Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia

Sergey V. Lenshin¹, Tatyana V. Vishnevskaya², Alexey V. Romashin³, Yulia I. Bulycheva², Oleg I. Vyshemirsky⁴, Sophya A. Solovyeva², Asya K. Gitelman², Alexey S. Pazilin², Dmitry K. Lvov², Ben Hu⁵, Zheng-Li Shi^{5,6}, Sergey V. Alkhovsky^{2✉}

¹Stavropol Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor (Sochi department), 354000, Sochi, Russia;

²D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

³Sochi National Park, 354002, Sochi, Russia;

⁴Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center «Kurchatov Institute», 354376, Veseloe village, Sochi, Russia;

⁵Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430207, China;

⁶Guangzhou National Laboratory, Guangzhou International Bio-Island, Guangzhou 51005, Guangdong, China

Abstract

Introduction. Bats are recognized as primary natural reservoirs for alpha- and betacoronaviruses. The interspecies transmission of bat coronaviruses to other mammalian hosts, including livestock and humans, can lead to epidemics, epizootics, and global pandemics.

Objective. This study aims to describe coronaviruses associated with horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) in the southern regions of the European part of Russia.

Materials and methods. Fecal samples were collected from bats inhabiting caves on the southern macroslope of the Greater Caucasus (Sochi-Adler region) during 2020, 2021, and 2024. Viral genomes were detected and analyzed using high-throughput sequencing (NGS) and RT-PCR.

Results. A novel alphacoronavirus, designated Kudep virus (GenBank acc. # PQ649435), was identified in *R. ferrumequinum*. Presumably the Kudep virus represents a novel species within the subgenus *Decacovirus* of the genus *Alphacoronavirus*. The virus showed 72% nucleotide identity to a *Cardioderma* bat coronavirus from Kenya and up to 67% nucleotide identity to the YN2012 virus group found in horseshoe bats in China. RT-PCR screening revealed active circulation of both Kudep virus and the previously described SARS-like betacoronavirus Khosta-1 in the study area. Infection rates in a single *R. ferrumequinum* colony during autumn 2021 reached 59.2% and 70.5% for Kudep and Khosta-1, respectively. Frequent co-infections with both viruses were observed in individual bats.

Conclusion. Our findings expand the understanding of the distribution of bat alphacoronaviruses and their genetic diversity. We demonstrate the presence of a persistent natural foci of two potentially zoonotic bat coronaviruses, ecologically associated with *R. ferrumequinum* in the southern European part of Russia.

Keywords: bats; bat coronaviruses; Kudep virus; Khosta-1 virus; emerging and re-emerging infections; alphacoronaviruses; SARS-CoV-2; horseshoe bats

For citation: Lenshin S.V., Vishnevskaya T.V., Romashin A.V., Bulycheva Yu.I., Vyshemirsky O.I., Solovyeva S.A., Gitelman A.K., Pazilin A.S., Lvov D.K., Hu B., Shi Z.L., Alkhovsky S.V. Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 546–556. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279> EDN: <https://elibrary.ru/yiclr>

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-44-00079) and by the National Natural Science Foundation of China (project No. 3231101837).

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

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 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Sochi National Park (Protocol No. 5 dated 27 December 2023).

Введение

Коронавирусы летучих мышей, принадлежащие родам *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus* (Coronaviridae: *Orthocoronavirinae*), обладают значительным

зоонозным потенциалом [1–4]. Результаты многочисленных исследований показывают, что большинство известных коронавирусов человека, включая

сезонные альфакоронавирусы (α -CoV) HCoV-229E, HCoV-NL63 и бетакоронавирусы (β -CoV) SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV происходят от коронавирусов, ассоциированных с разными видами летучих мышей [5–7]. Коронавирусы, эволюционно связанные с вирусами летучих мышей, найдены в последнее время у разных видов диких и домашних животных [8, 9]. Это позволяет рассматривать летучих мышей как один из основных природных резервуаров и источников зоонозных коронавирусов, который играет ключевую роль в распространении коронавирусов или их отдельных генов между разными видами млекопитающих.

Летучие мыши относятся к отряду рукокрылых (*Chiroptera*), который включает более 1400 видов, объединенных в 21 семейство и 234 рода. По числу видов рукокрылые занимают второе место после грызунов среди всех млекопитающих. На территории России зарегистрированы не менее 45 видов летучих мышей, включая 3 вида подковоносов (*Rhinolophidae*: *Rhinolophus*): большой (*R. ferrumequinum* (Schreber, 1774), малый (*R. hipposideros* (Bechstein, 1800) и южный (*R. euryale* (Blasius, 1853) [10]. Подковоносы рассматриваются как природный резервуар SARS-подобных коронавирусов, два из которых (SARS-CoV и SARS-CoV-2) вызвали эпидемическую вспышку тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС) в 2002–2004 гг. и пандемию COVID-19 в 2019 г. соответственно. В Китае и странах Юго-Восточной Азии у различных видов подковоносов были обнаружены несколько групп дивергентных альфакоронавирусов, такие как *Rhinolophus bat coronavirus* HKU32 или группа HKU2 (подрод *Rhinacovirus*), к которой принадлежит возбудитель синдрома острой диареи свиной (SADS-CoV), вызвавший крупную эпизоотию в Китае в 2016–2019 гг. [9, 11–13]. Особый интерес представляет *R. ferrumequinum*, чей ареал практически непрерывно тянется от Северной Африки, Южной и Западной Европы через Среднюю Азию до Гималаев, Кореи и Японии, обеспечивая возможность распространения ассоциированных с ним вирусов в отдаленные регионы. В России ареал подковоносов ограничен территориями, лежащими южнее 44° северной широты, включая Северный Кавказ и северное побережье Черного моря. Исследования коронавирусов в российских популяциях летучих мышей носят фрагментарный характер [14–17]. Ранее при обследовании подковоносов в районе Большого Сочи (Краснодарский край) мы описали два новых SARS-подобных бетакоронавируса летучих мышей (вирусы Хоста-1 и Хоста-2), эволюционно связанных с вирусами SARS-CoV и SARS-CoV-2, а также с сарбековирусами летучих мышей из Европы, Африки и Азиатского региона [14]. Распространение близкородственных Хоста-1 вирусов отмечено и в других районах Большого Кавказа – в колониях большого подковоноса в Дагестане [17] и у южного подковоноса в Грузии [18]. В этих работах также был обнаружен альфакоронавирус летучих мышей, предварительно отнесенный авторами к подроду *Decacovirus* на осно-

ве консервативного домена RdRp (397 нуклеотидных остатков (н.о.)) [17]. В настоящей работе мы идентифицировали и полногеномно описали новый альфакоронавирус летучих мышей (названный вирусом «Кудеп», от названия реки Кудепста), ассоциированный с *R. ferrumequinum*. Результаты ПЦР-скрининга показали, что альфа- и бетакоронавирусы совместно коциркулируют в популяции большого подковоноса в данном регионе.

Материалы и методы

Материал для исследования. Сбор материала проводили в пещерах южного макросклона Большого Кавказа на северном побережье Черного моря (район Сочи-Адлер, Краснодарский край) в 2020–2024 гг. (таблица). Сбор осуществляли или поздней осенью, когда колония летучих мышей слетается на зимовку (2020, 2021 гг.), или ранней весной во время первых вылетов после спячки (2024 г.). Животных отлавливали руками со сводов пещер. Вид определяли на основе морфологических признаков опытный зоолог. Дополнительно видовая принадлежность *R. hipposideros* и *R. ferrumequinum* была подтверждена путем секвенирования митохондриального гена цитохрома b для нескольких выбранных проб. Для сбора фекалий летучих мышей каждую отдельную особь помещали в чистый хлопковый мешочек на 10–15 мин, после чего животное выпускали, а фекалии со стенки мешочка помещали в криобирку. Материал доставляли в лабораторию на льду и хранили при температуре –70 °С. Ни одно животное при сборе не было забито или повреждено. Сбор материала был одобрен Научным советом и комитетом по этике Сочинского национального парка (Протокол № 5 от 27 декабря 2023 г.).

Выделение РНК и полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Образцы суспендировали в 0,2 мл фосфатно-солевого буфера (PBS). Суммарная РНК была выделена из 0,1 мл полученной суспензии с использованием набора РНК-Экстран (НПК «Синтол», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Тестирование проб на наличие РНК вирусов Хоста-1 и Хоста-2 проводили, как было указано ранее [14], с использованием специфических праймеров и зондов (Kh1_pr FAM-ACCTGTGCCTGTGAGTCCATT-BQ1, Kh1_F CACTGTTGGTGTAGGT-TAC, и Kh1_R CTGGAATGACTGAAATCTCTTA для Хоста-1; Kh2_pr HEX-AAGCACCAACGACAC-CAGCATCTC-BQ2, Kh2_F CGCCAAGCACTATTA-AAGACAG, и Kh2_R CGAAGTCGTACCAGTTTCCA для вируса Хоста-2) и реагента TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (ThermoFisher Scientific, США). Кратко: 5 мкл РНК добавляли к 15 мкл реакционной смеси, содержащей 1× TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix, по 400 нМ прямого и обратного праймера и 200 нМ соответствующего зонда. Температурный режим реакции: инкубация 30 мин при 50 °С для реакции обратной транскрипции, инкубация 30 с при температуре 95 °С для активации Taq-полимеразы. Далее 45 циклов ПЦР: 10 с при 95 °С для денатурации и 30 с при 55 °С для элонгации и регистрации сигнала. Выявле-

Таблица. Результаты ОТ-ПЦР-скрининга подковоносых летучих мышей (*Rhinolophus* spp.) на наличие коронавирусов Хоста-1, Хоста-2 (*Betacoronavirus*) и Кудеп (*Alphacoronavirus*) в 2020, 2021 (осень) и 2024 (весна) гг., северное побережье Черного моря

Table. Results of RT-PCR screening of horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) on coronaviruses Khosta-1, Khosta-2 (*Betacoronavirus*), and Kudep (*Alphacoronavirus*), collected in 2020, 2021 (autumn), and 2024 (spring), Northern coast of the Black Sea

Локация Location	Вид Bat species	2020 (осень) 2020 (autumn)			2021 (осень) 2021 (autumn)			2024 (весна) 2024 (spring)		
		Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)	Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)	Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)
Подвал НИИ мед. приматологии Institute of Medical Primates (43°26'06.3" N 39°59'26.4" E)	<i>R. hipposideros</i>	0/24	2/24 (8,3%)	0/24	0/13	1/13 (7,7%)	0/13	–	–	–
	<i>R. euryale</i>	0/1	0/1	0/1	–	–	–	–	–	–
Пещера Музейная (Хостинская 2) Museinaya cave (Khosta 2 cave) (43°33'34.3" N 39°53'46.2" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
Пещера Хостинская 1 Khosta 1 cave (43°33'49.5" N 39°53'57.2" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	1/13 (7,7%)	0/13	2/13 (15,3%)	1/2	0/2	1/2	–	–	–
Пещера Колокольная Kolokolnaya cave (43°33'08.3" N, 39°56'02.4" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	15/24 (62,5%) 1*	0/24	2/24 (8,3%) 1*	36/51 (70,5%) 21*	0/51	27/51 (52,9%) 21*	3/22 (13,6%)	0/22	3/22 (13,6%)
	<i>R. euryale</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	–	–	–	–	–	–	0/2	0/2	0/2
Пещера Партизанская Partizanskaya cave (43°37'38.86" N, 39°54'46.06" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	0/1	0/1	0/1	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	1/3 (33%)	0/3	0/3	–	–	–	–	–	–
Всего Total		17/70 (14,9%)	2/70 (1,75%)	4/70 (3,5%)	37/66 (56,0%)	1/66 (1,5%)	28/66 (42,4%)	3/24 (12,5%)	0/24	3/24 (12,5%)

Примечание. Указано число положительных проб/общее число обследованных проб для каждого вида и локации. Указанное значение долей (%) является индикативным и не подтверждено статистическими методами. * – число проб, одновременно положительных по вирусу Хоста-1 и вирусу Кудеп.

Note. The number of positive samples/number of samples is shown for each species and location. The percentage value (%) is indicative and is not confirmed by statistical methods. * – number of samples simultaneously positive for Khosta-1 virus and Kudep virus.

ние РНК нового альфаконовируса Кудеп проводили с использованием подобранных праймеров и зондов (Alph_pr ROX-TGCCACAAGTTGCCACCGTCA-BQ2, Alph_F GCTTGCTGCTGAAGATCC, Alph_R CCACATCATTAACAGTGCGAATA) по такой же методике.

Высокопроизводительное секвенирование (NGS) и анализ данных. Секвенирование проб проводили, как описано ранее [14]. Часть проб были пулированы по видам и локациям (10–12 проб в пуле). Положительные в ПЦР пробы секвенировали индивидуально. Для удаления рибосомальной РНК использовали набор NEBNext rRNA Depletion kit (NEB, США). Для получения кДНК библиотек использовали набор NEBNext Ultra II RNA library kit for Illumina (NEB, США) в соответствии с инструкцией производителя. Измерение молярности полученных библиотек проводили методом ПЦР в реальном времени согласно рекомендациям, изложенным в руководстве Sequencing Library qPCR Quantification Guide

(Illumina, США). Секвенирование кДНК-библиотек осуществляли в формате 2 × 100 на приборе NovaSeq 6000 (Illumina, США) на базе центра Genetico (Москва). В среднем получали 80–110 млн парных ридов для пулированных проб и 25–40 млн парных ридов для индивидуальных проб. Полученные риды были отфильтрованы по качеству и после удаления адаптеров собраны *de novo* с использованием программного обеспечения CLC Genomics Workbench 7.0 (Qiagen, Германия). Полученные контиги анализировали по алгоритму blastx с использованием программы DIAMOND против базы данных протеинов вирусов семейства Coronaviridae, загруженных из базы GenBank с использованием собственного Python скрипта (модуль BioPython).

Генетический и филогенетический анализ. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности альфаконовирусов были выровнены по алгоритму ClustalW, имплементированного в программное обеспечение MEGAX (<https://www.megasoftware>).

net/). Всего 50 доступных в GenBank геномов альфакооронавирусов, принадлежащих 9 (из 16) под родам были использованы для анализа. Аминокислотные выравнивания для отдельных белков (ORF1a, ORF1b, S, ORF3, E, M, и N) были использованы для расчета значения идентичности (identity, %) между разными вирусами. Для филогенетического анализа подбирали лучшую модель замен с помощью «model selection module» в программе MEGAX. Филогенетические деревья были построены на основе аминокислотных последовательностей RdRp, поверхностного спайкового белка S и белка нуклеокапсида N с использованием выбранной модели (LG + G + I + F для RdRp, LG + G + F для белков S и N соответственно) и бутстреп тестированием (1000×) в программе MEGAX. Для таксономического анализа использовали критерии, принятые Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV, <https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae>) [19]. Для этого аминокислотные последовательности консервативных доменов гена *ORF1ab* (*nsp5*(3CL^{pro}), NiRAN, *nsp12*(RdRp), ZBD, *nsp13*(Hel1)) для каждого из анализируемых вирусов были объединены в одну последовательность (конкатенация), выровнены по алгоритму ClustalW и использованы для расчета процентов различающихся аминокислот. Вирусы, принадлежащие разным видам, должны иметь не более 92% идентичных а.о. в данных последовательностях консервативных доменов.

Результаты

Идентификация и генетическая характеристика нового альфакооронавируса летучих мышей. После сборки *de novo* геном нового альфакооронавируса Кудеп был идентифицирован в виде протяженного контига длиной 28 142 н.о. (включая поли(A)-хвост) в пробе F2, содержащей материал от *R. ferrumequinum*, собранный в п. Колокольная в 2020 г. После подбора специфических праймеров и зонда и ПЦР-скрининга (см. ниже) было проведено секвенирование индивидуальных положительных проб, содержащих РНК вируса Кудеп в высоком титре (значение Ct < 25 в ОТ-ПЦР в реальном времени). В результате получены практически полные геномные последовательности для 7 штаммов вируса Кудеп, включая один штамм 2020 г. (Kudep/F2/2020) и 6 штаммов 2021 г. (штаммы Kudep/2021/59, Kudep/2021/71, Kudep/2021/80, Kudep/2021/86, Kudep/2021/100 и Kudep/2021/107). Все секвенированные штаммы были получены от *R. ferrumequinum* из п. Колокольная в 2020 и 2021 гг. соответственно.

Анализ полученных данных показал, что геномы штаммов 59, 71 и 86 (все 2021 г.) на 100% идентичны и не содержат нуклеотидных замен при попарном сравнении геномов. Также 100% идентичность между собой имеют штаммы 80 и 107 (оба 2021 г.). Между этими двумя группами идентичных штаммов наблюдается 27 н.о. замен при полногеномном сравнении. Шестой штамм 2021 г. (под номером 100) отличается от группы 59/71/86 на 7 нуклеотидных замен и на 34 н.о.

от группы 80/107. Прототипный штамм вируса Кудеп F3/2020 отличается от штаммов 2021 г. на 8 н.о. (штаммы 80, 107), 19 н.о. (штаммы 59, 71, 86) и 32 н.о. (штамм 100). Отличительной особенностью штаммов F3, 80, и 107 является инсерция 9 н.о. в гене нуклеопротеина, приводящая к вставке 164QNN166 белке N, отсутствующая у штаммов 59, 71 и 86.

Геном нового альфакооронавируса Кудеп имеет характерную для альфакооронавирусов структуру. Две трети генома с 5'-конца занимает ген *ORF1ab*, который транслируется в виде протяженного полипротеина и нарезается на два основных белка – ORF1a и ORF1b. Дальнейший процессинг приводит к образованию 16 неструктурных белков репликативного комплекса (*nsp1–nsp11* из ORF1a, *nsp12–nsp16* из ORF1b). РНК-зависимая РНК-полимераза RdRp (*nsp12*), которая является наиболее консервативным белком, кодируется регионом 1–927 аминокислотных остатков (а.о.) полипротеина ORF1b. Остальная часть генома занята генами четырех структурных белков (S, E, M, и N) и генами нескольких неструктурных белков, число и структура которых может варьировать у разных кооронавирусов. Всего в геноме вируса Кудеп обнаруживается 8 открытых рамок считывания (ORF), кодирующих характерные для кооронавирусов белки: ORF1ab-S-ORF3a-ORF3b-E-M-N-ORFx. Отличительной особенностью генома вируса Кудеп является наличие дополнительной рамки считывания между генами S и E, в результате чего ORF3 разделена на два гена. Первый из них, *ORF3a*, кодирует белок длиной 120 а.о., который не обнаруживает гомологов среди известных вирусных белков при анализе в сервисе BLASTp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Следующая рамка считывания, *ORF3b*, кодирует неструктурный белок, имеющий сходство 55–78% в а.о. с соответствующими белками других альфакооронавирусов летучих мышей. В геноме вируса Кудеп отсутствуют гены вспомогательных белков ORF4, ORF7, ORF8 и ORF9, часто встречающиеся у вирусов летучих мышей, но обнаруживается ген предполагаемого белка ORFx (107 а.о.) с неизвестной функцией.

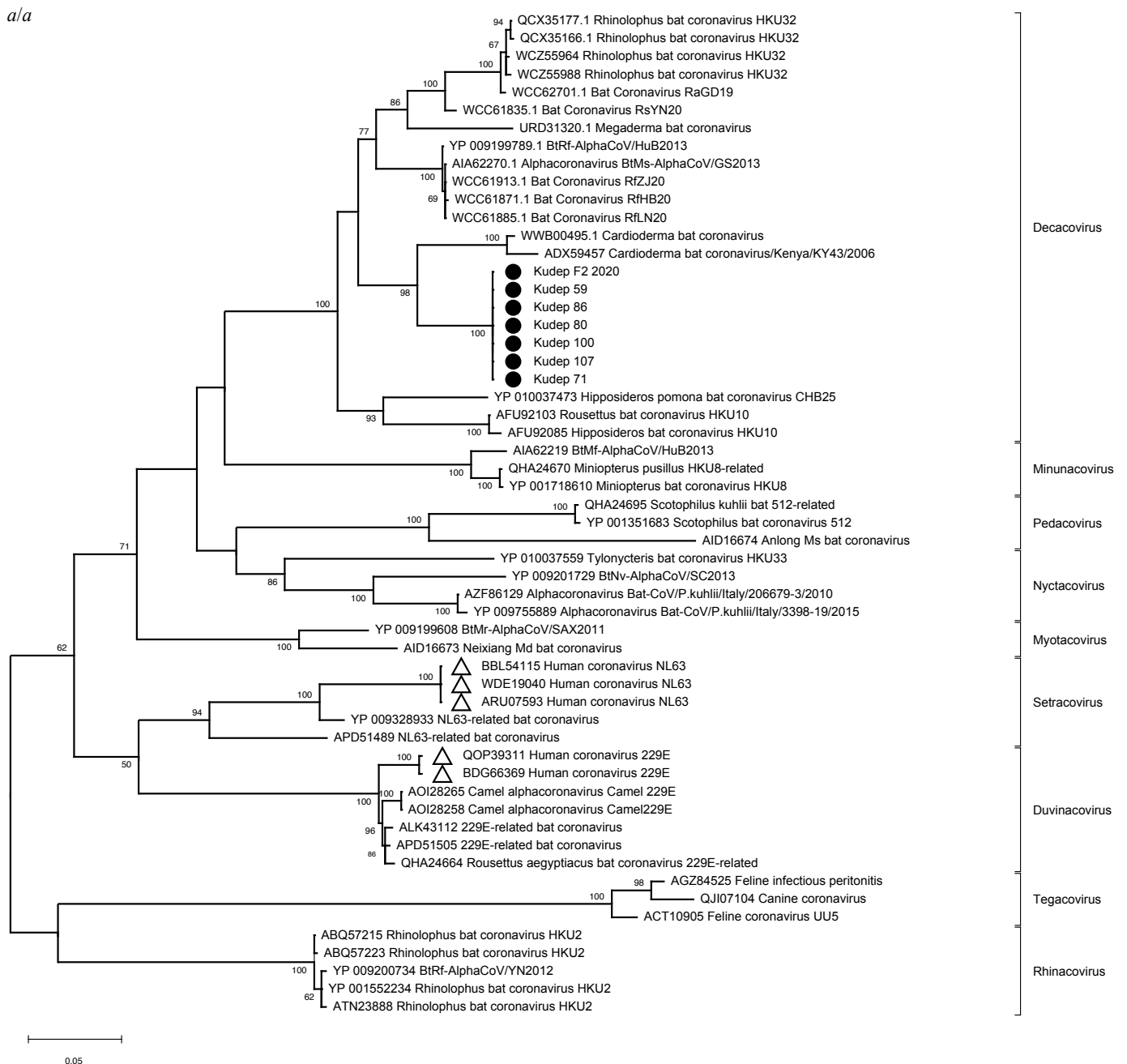
Структура генома вируса Кудеп наиболее схожа с вирусом *Cardioderma bat coronavirus/Kenya/KY43/2006* (штамм VtKY43), изолированным от Африканского ложного вампира (*Cardioderma cor*) в Кении в 2006 г. [20]. При полногеномном сравнении вирус Кудеп имеет максимальное значение идентичности (72% н.о.) с VtKY43 и его штаммами, и 67% н.о. идентичности с группой вирусов подковоносов из Китая (YN2012). Уровень идентичности RdRp (ORF1b) вируса Кудеп составляет 92% а.о. с вирусом VtKY43. С вирусами из Китая и Юго-Восточной Азии это значение составляет 87–90% а.о. Большинство структурных белков вируса Кудеп также имеют максимальную схожесть с VtKY43, включая поверхностный белок E (85% а.о. идентичности), мембранный протеин M (90–92% а.о.), и нуклеокапсидный белок N (81% а.о.). При сравнении с вирусами из Азиатского региона наибольшие значения идентичности состав-

ляют 83% а.о. для протеина E (штамм NuB2013, *R. ferrumequinum*, 2013 г., Китай), 90% для протеина M (штамм PH20, *R. shameli*, 2010 г., Камбоджа) и 69,7% для протеина N (штамм RfLN20, *R. ferrumequinum*, 2020 г., Китай) соответственно.

Последовательность поверхностного белка S вируса Кудеп имеет 58–73% а.о. идентичности с известными альфакоронавирусами, причем наиболее близкими из них (73% а.о. идентичности) являются вирусы BtCoV/Rh/YN2012_Rs4125 и BtCoV/Rh/YN2012_Rs4259, изолированные от подковоносов в Китае в 2012–2013 гг. Тогда как схожесть S-белка вируса Кудеп с вирусом BtKY43, который наиболее близок ему по RdRp, составляет только 62% а.о.

Два неструктурных вспомогательных белка, ORF3b и предполагаемый ORFX, имеют 77 и 55% а.о. идентичности с BtKY43 соответственно.

Филогенетический анализ. На рисунке представлена филогения отдельных представителей рода *Alphacoronavirus* на основе консервативного протеина RdRp (рис. а), спайкового протеина S (рис. б) и нуклеопротеина N (рис. в). На всех филогенетических деревьях новый альфакоронавирус Кудеп формирует отдельную ветвь внутри подрода *Decacovirus*. На дендрограммах, построенных на основе RdRp и белка нуклеокапсида N, вирус Кудеп является сестринской кладой для африканского BtKY43. На дендрограмме для белка S ближайшая к вирусу Кудеп генетиче-



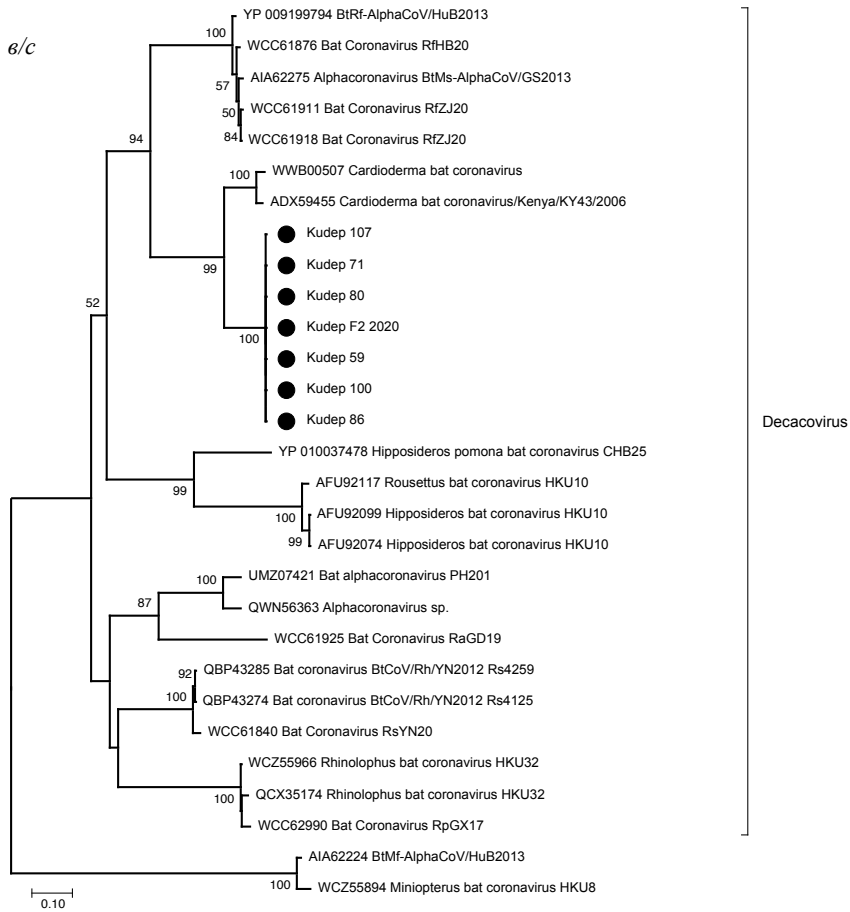
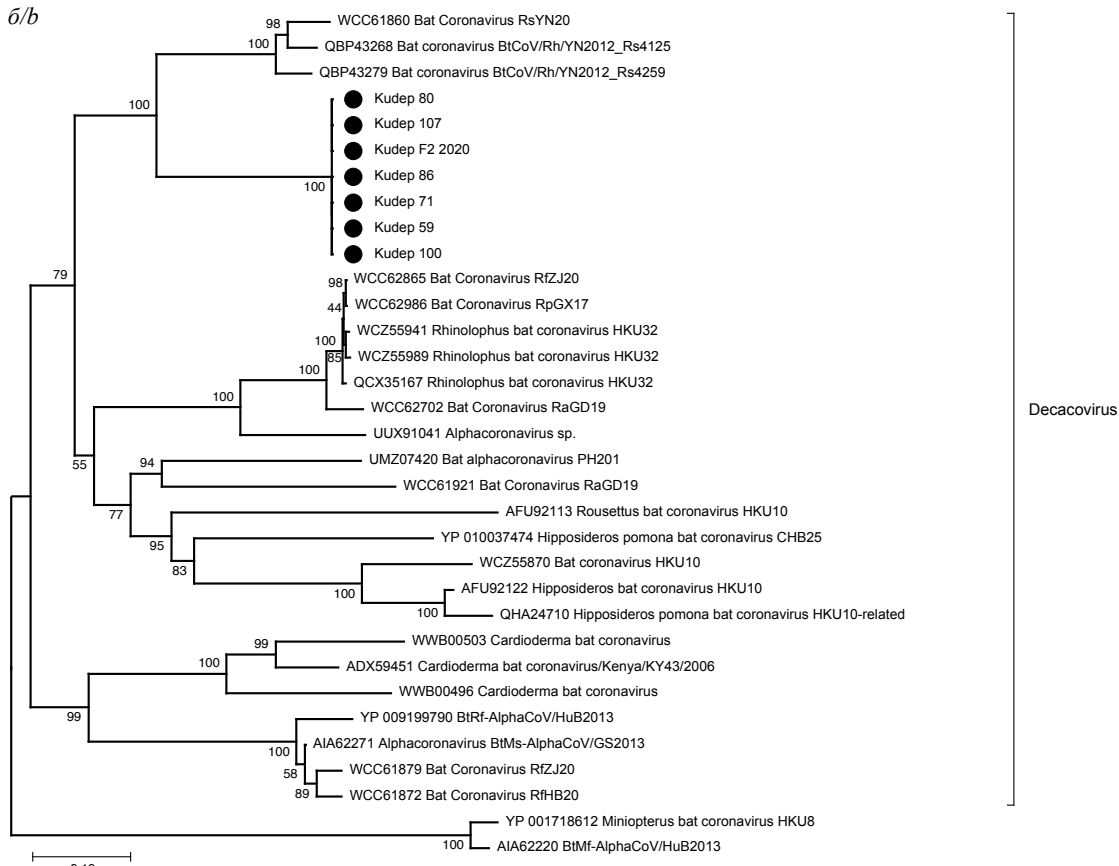


Рисунок. Филогения вируса Кудеп, построенная на основе анализа аминокислотной последовательности RdRp (a), спайкового белка S (б), белка нуклеокапсида N (в) отдельных представителей рода *Alphacoronavirus*.

Вирус Кудеп отмечен черным кружком; вирусы человека – прозрачным треугольником.

Figure. Phylogeny of Kudep virus based on analysis of RdRp (a), spike protein S (b), and nucleocapsid protein N (c) of certain representatives of the genus *Alphacoronavirus*.

The Kudep virus is marked with a black circle. Human coronaviruses are marked with a transparent triangle.

ская линия представлена штаммами от подковоносов из Китая.

Таксономический анализ. При попарном сравнении консервативных доменов гена *ORF1ab* (nsp5(3CL^{pro}), NiRAN, nsp12(RdRp), ZBD, nsp13(Hell)) вируса Кудеп с другими альфакоронавирусами, максимальное сходство (91% идентичных а.о.) получено для VtKY43. С ближайшими штаммами от подковоносов из Китая это значение составило 88%.

Результаты ОТ-ПЦР-обследования. В таблице представлены результаты ОТ-ПЦР-обследования подковоносов на наличие сарбековиров *Хоста-1*, *Хоста-2* (*Betacoronavirus*) и нового альфакоронавируса Кудеп. Вирус *Хоста-1* преимущественно ассоциирован с *R. ferrumequinum*, только одна положительная проба (из 3 протестированных из п. Партизанская) принадлежала *R. hipposideros*. Наибольшее число положительных проб было получено из колонии большого подковоноса в п. Колокольная. Общая зараженность вирусом *Хоста-1* *R. ferrumequinum* в колонии в п. Колокольная в осенний период составила 62,5–70% (2020–2021 гг.). В осенний период 2024 г. зараженность колонии определена в 13%. Общая зараженность подковоносов в регионе вирусом *Хоста-1* составила от 12,5% (2024 г.) до 56% (2021 г.). Вирус *Хоста-2* был выявлен только у *R. hipposideros* и только в одной локации за все время наблюдения.

Новый альфакоронавирус Кудеп был обнаружен только у *R. ferrumequinum* в двух достаточно близко расположенных локациях – в п. Хостинская-1 и в п. Колокольная. Так же, как и в случае с вирусом *Хоста-1*, зараженность *R. ferrumequinum* новым альфакоронавирусом Кудеп достигала высоких значений в осенний период (до 52,9% в 2021 г.). Весной 2024 г. этот показатель составил 13,6%. Общая зараженность подковоносов новым альфакоронавирусом Кудеп составила от 3,5% (2020 г.) до 42,4% (2021 г.). При этом 21 проба из п. Колокольная в 2021 г. была одновременно положительной на вирус *Хоста-1* и новый альфакоронавирус Кудеп. В материале из этой пещеры в 2020 г. обнаружена только одна такая проба (из 2 положительных по вирусу Кудеп). В п. Хостинская-1, второй локации, где обнаружен новый альфакоронавирус Кудеп, коинфекция с вирусом *Хоста-1* выявлена в одной пробе в 2020 г. (из 2 положительных) и в одной пробе в 2021 г.

Обсуждение

Летучие мыши рассматриваются как основной природный резервуар для альфа- и бетакоронавирусов. В результате преодоления межвидового барьера коронавируса летучих мышей передаются другим видам млекопитающих, включая сельскохозяйственных животных и человека, что часто приводит к возникновению эпидемических или эпизоотических вспышек и пандемий. Результаты многочисленных исследований показывают, что коронавирусы летучих мышей распространены повсеместно внутри их ареала, включая Европу, Африку, Китай и Юго-Восточную Азию и регионы Нового Света [21–24]. В настоящей работе мы идентифицировали но-

вый альфакоронавирус Кудеп, циркулирующий в популяции *R. ferrumequinum* на юге России (субтропический регион Краснодарского края, Сочи-Адлер). Всего нами полногеномно охарактеризованы 7 штаммов вируса Кудеп, обнаруженных в 2020 г. (1 штамм) и 2021 г. (6 штаммов). Хотя все секвенированные штаммы вируса Кудеп получены из одной локации с интервалом в 1 год, между ними наблюдаются определенные различия как в виде отдельных нуклеотидных замен, так и в виде делеций/инсерций в структурном белке нуклеокапсида, что является отражением идущего эволюционного процесса. Дальнейшие наблюдения позволят нам точно определить скорость накопления мутаций для данной вирусной популяции.

Геном вируса Кудеп имеет характерные для альфакоронавирусов размер и структуру. Наибольшее сходство геном вируса Кудеп имеет с альфакоронавирусом *Cardioderma bat coronavirus* (штаммы VtKY43, 2A/Kenya/BAT2621/2015 и 2B/Kenya/BAT2618/2015), который был обнаружен у Африканского ложного вампира (*Cardioderma cor*) в Кении [20]. Оба вируса характеризуются отсутствием генов вспомогательных неструктурных белков ORF4, ORF7, ORF8 и ORF9, которые в том или ином виде, как правило, присутствуют у альфакоронавирусов летучих мышей из Азиатского региона [25]. При сравнении полных геномов вирус Кудеп имеет приблизительно одинаковый уровень идентичности (67–72% н.о.) с VtKY43 и с рядом вирусов, найденных у *Rhinolophus* spp. в Китае. При анализе аминокислотных последовательностей структурных и неструктурных белков вирус Кудеп также оказывается равноудален и от африканских, и от азиатских вирусов (87–92% идентичности по RdRp).

Филогенетический анализ относит вирус Кудеп в подрод *Decacovirus*. Подрод включает в себя несколько линий вирусов, связанных с разными видами подковоносов (*Rhinolophus bat coronavirus* HKU32, YN2012, и др.), а также вирусы HKU10, найденные у подковогубых летучих мышей (*Hipposideros bat coronavirus* HKU10) и крыланов (*Rousettus bat coronavirus* HKU10) в Китае. К этому же подроду относятся два вируса от ложных вампиров (Megadermatidae) – ранее упомянутый VtKY43 из Кении и *Megaderma bat coronavirus* из Бангладеш. Таким образом, альфакоронавирусы данного подрода обладают значительной экологической пластичностью, что позволяет им совершать межвидовую трансмиссию между различными семействами летучих мышей и даже между представителями разных подотрядов отряда рукокрылых [26]. Положение вируса Кудеп внутри подрода *Decacovirus* практически совпадает на деревьях, построенных на основе RdRp и на основе структурного белка нуклеокапсида N, где вирус Кудеп формирует отдельную генетическую линию и кластеризуется рядом с линией VtKY43. Филогения на основе S-белка помещает линию вируса Кудеп рядом с одной из линий вирусов подковоносов (YN2012) из Китая [11].

Для определения таксономического положения вируса Кудеп мы проанализировали схожесть его консервативных доменов гена *ORF1ab* (nsp5(3CL^{pro}),

NiRAN, nsp12(RdRp), ZBD, nsp13(Hel1)) с другими известными альфакоронавирусами. Полученные максимальные значения схожести составили 91% идентичных а.о. (с VtKY43), что соответствует демаркационным критериям ICTV (92% идентичных а.о.) при определении отдельного вида коронавирусов (<https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae>) [19]. Таким образом, мы предполагаем, что найденный нами вирус Кудеп представляет новый вид в составе подрода *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus*.

Результаты ОТ-ПЦР-скрининга показывают, что ранее описанный нами SARS-подобный бетакоронавирус Хоста-1 и новый альфакоронавирус Кудеп активно циркулируют на обследованной территории. Зараженность этими вирусами в колонии *R. ferrumequinum* в п. Колокольная осенью 2021 г. достигала 70,5 и 59,2% соответственно. Многочисленные исследования демонстрируют, что зараженность летучих мышей коронавирусами может варьировать в широких пределах – от 0 до 60–70%, в зависимости от локации и времени года [27–30]. В весеннем сборе 2024 г. зараженность большого подковоноса оказалась значительно ниже (13%), но выявление вирусов Хоста-1 и Кудеп ранней весной может свидетельствовать об активной персистирующей инфекции.

В обеих колониях большого подковоноса (п. Хостинская-1 и п. Колокольная), где обнаружены вирусы Хоста-1 и новый альфакоронавирус Кудеп, выявлены случаи коинфекции отдельных особей двумя вирусами. В 2021 г. такие пробы составили более 1/2 от всех положительных проб. Обнаружение коронавируса и в осенний, и в весенний периоды на протяжении 4 лет наблюдения (2020–2024 гг.) позволяет сделать вывод о наличии здесь стойкого природного очага двух коронавирусов – бетакоронавируса Хоста-1 и нового альфакоронавируса Кудеп, экологически связанных с *R. ferrumequinum*.

Необходимо отметить, что в обследованных пещерах, населенных подковоносами, отмечены следы посещения пещер спелеологами, стадом домашних коз (летом в поиске прохлады), шакалами и дикими лесными кошками. Это создает возможность экспозиции и передачи выявленных коронавирусов летучих мышей человеку или животным. Выявление вирусного разнообразия в природных биотопах и изучение эволюционных процессов, приводящих к появлению новых вирусных инфекций, является актуальной задачей современной вирусологии. Эти исследования имеют серьезное прикладное значение в контроле появления новых и возвращающихся инфекций. Эпидемиологические ситуации будут возникать и в будущем, что требует объединения усилий на международном уровне, направленных на проведение постоянного мониторинга популяционного генофонда потенциально зоонозных вирусов [31, 32].

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К. ред. Экология вирусов. В кн.: *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013.
2. Letko M., Seifert S.N., Olival K.J., Plowright R.K., Munster V.J. Bat-borne virus diversity, spillover and emergence. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(8): 461–71. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0394-z>
3. Grange Z.L., Goldstein T., Johnson C.K., Anthony S., Gilardi K., Daszak P., et al. Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2021; 118(15): e2002324118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002324118>
4. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Sironi M. Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. *Trends Microbiol.* 2016; 25(1): 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001>
5. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
6. Львов Д.К., Альховский С.В. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавирусов (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus). *Вопросы Вирусологии.* 2020; 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> <https://elibrary.ru/hnouwn>
7. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
8. Zhou P., Fan H., Lan T., Yang X.L., Shi W.F., Zhang W., et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature.* 2018; 556(7700): 255–8. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0010-9>
9. Леншин С.В., Ромашин А.В., Вышемирский О.И., Львов Д.К., Альховский С.В. Летучие мыши субтропической зоны Краснодарского края России как возможный резервуар зоонозных вирусных инфекций. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(2): 112–22. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-41> <https://elibrary.ru/bimauw>
10. Wang N., Luo C., Liu H., Yang X., Hu B., Zhang W., et al. Characterization of a new member of alphacoronavirus with unique genomic features in Rhinolophus bats. *Viruses.* 2019; 11(4): 379. <https://doi.org/10.3390/v11040379>
11. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., et al. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J.* 2016; 10(3): 609–20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
12. Lau S.K.P., Wong A.C.P., Zhang L., Luk H.K.H., Kwok J.S.L., Ahmed S.S., et al. Novel bat alphacoronaviruses in southern China support Chinese horseshoe bats as an important reservoir for potential novel coronaviruses. *Viruses.* 2019; 11(5): 423. <https://doi.org/10.3390/v11050423>
13. Alkhovsky S., Lenchin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulycheva Y., et al. SARS-like Coronaviruses in Horseshoe Bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses.* 2022; 14(1): 113. <https://doi.org/10.3390/v14010113>
14. Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., et al. Coronaviruses (Coronaviridae) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia. *Vopr. Virusol.* 2024; 69(3): 255–65. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>
15. Urushadze L., Babuadze G., Shi M., Escobar L.E., Mauldin M.R., Natradeze I., et al. A cross sectional sampling reveals novel coronaviruses in bat populations of Georgia. *Viruses.* 2021; 14(1): 72. <https://doi.org/10.3390/v14010072>
16. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
17. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
18. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
19. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>

20. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
21. Anthony S.J., Johnson C.K., Greig D.J., Kramer S., Che X., Wells H., et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol.* 2017; 3(1): vex012. <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>
22. Cohen L.E., Fagre A.C., Chen B., Carlson C.J., Becker D.J. Coronavirus sampling and surveillance in bats from 1996–2019: a systematic review and meta-analysis. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(6): 1176–86. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01375-1>
23. Bueno L.M., Rizotto L.S., Viana A.O., Silva L.M.N., de Moraes M.V.D.S., Benassi J.C., et al. High genetic diversity of alphacoronaviruses in bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Atlantic Forest in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(5): e2863–75. <https://doi.org/10.1111/tbed.14636>
24. Caraballo D.A., Sabio M.S., Colombo V.C., Piccirilli M.G., Vico L., Hirmas Riade S.M., et al. The role of Molossidae and Vespertilionidae in shaping the diversity of alphacoronaviruses in the Americas. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6): e0314322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03143-22>
25. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
26. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
27. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
28. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/s0950268810001147>
29. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
30. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
31. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and ecology*. London: Academic Press, Elsevier; 2015.
32. Львов Д.К., Борисевич С.В., Альховский С.В., Бурцева Е.И. Современные подходы анализа вирусных геномов в интересах биобезопасности. *Инфекционные болезни: Новости, Мнения, Обучение*. 2019; 8(2): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-12012> <https://elibrary.ru/xbkmp1>
- 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> <https://elibrary.ru/hnounw> (in Russian)
7. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
8. Zhou P., Fan H., Lan T., Yang X.L., Shi W.F., Zhang W., et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature*. 2018; 556(7700): 255–8. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0010-9>
9. Leshin S.V., Romashin A.V., Vyshemirsky O.I., Lvov D.K., Alkhovskiy S.V. Bats of the subtropical climate zone of the Krasnodar territory of Russia as a possible reservoir of zoonotic viral infections. *Voprosy virusologii*. 2021; 66(2): 112–22. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-41> <https://elibrary.ru/bimauw> (in Russian)
10. Wang N., Luo C., Liu H., Yang X., Hu B., Zhang W., et al. Characterization of a new member of alphacoronavirus with unique genomic features in Rhinolophus bats. *Viruses*. 2019; 11(4): 379. <https://doi.org/10.3390/v11040379>
11. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., et al. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J.* 2016; 10(3): 609–20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
12. Lau S.K.P., Wong A.C.P., Zhang L., Luk H.K.H., Kwok J.S.L., Ahmed S.S., et al. Novel bat alphacoronaviruses in southern China support Chinese horseshoe bats as an important reservoir for potential novel coronaviruses. *Viruses*. 2019; 11(5): 423. <https://doi.org/10.3390/v11050423>
13. Alkhovskiy S., Leshin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulycheva Y., et al. SARS-like Coronaviruses in Horseshoe Bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses*. 2022; 14(1): 113. <https://doi.org/10.3390/v14010113>
14. Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., et al. Coronaviruses (Coronaviridae) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia. *Vopr. Virusol.* 2024; 69(3): 255–65. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>
15. Urushadze L., Babuadze G., Shi M., Escobar L.E., Mauldin M.R., Natradze I., et al. A cross sectional sampling reveals novel coronaviruses in bat populations of Georgia. *Viruses*. 2021; 14(1): 72. <https://doi.org/10.3390/v14010072>
16. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
17. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
18. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
19. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
20. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
21. Anthony S.J., Johnson C.K., Greig D.J., Kramer S., Che X., Wells H., et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol.* 2017; 3(1): vex012. <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>
22. Cohen L.E., Fagre A.C., Chen B., Carlson C.J., Becker D.J. Coronavirus sampling and surveillance in bats from 1996–2019: a systematic review and meta-analysis. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(6): 1176–86. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01375-1>
23. Bueno L.M., Rizotto L.S., Viana A.O., Silva L.M.N., de Moraes M.V.D.S., Benassi J.C., et al. High genetic diversity of alphacoronaviruses in bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Atlantic Forest in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(5): e2863–75. <https://doi.org/10.1111/tbed.14636>

REFERENCES

1. Lvov D.K., ed. Ecology of viruses. In: *Handbook of Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013. (in Russian)
2. Letko M., Seifert S.N., Olival K.J., Plowright R.K., Munster V.J. Bat-borne virus diversity, spillover and emergence. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(8): 461–71. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0394-z>
3. Grange Z.L., Goldstein T., Johnson C.K., Anthony S., Gilardi K., Daszak P., et al. Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2021; 118(15): e2002324118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002324118>
4. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Sironi M. Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. *Trends Microbiol.* 2016; 25(1): 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001>
5. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*. 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
6. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V. Source of the COVID-19 pandemic: ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (Subgenus Sarbecovirus), and MERS-CoV (Subgenus Merbecovirus). *Voprosy Virusologii*. 2020;

24. Caraballo D.A., Sabio M.S., Colombo V.C., Piccirilli M.G., Vico L., Hirmas Riade S.M., et al. The role of Molossidae and Vespertilionidae in shaping the diversity of alphacoronaviruses in the Americas. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6): e0314322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03143-22>
25. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
26. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
27. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
28. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/s0950268810001147>
29. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
30. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
31. 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.
32. Lvov D.K., Borisevich S.V., Alkhovsky S.V., Burtseva E.I. Relevant approaches to analysis of viral genomes for biosafety. *Infektsionnye bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie*. 2019; 8(2): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-12012> <https://elibrary.ru/xbkmp1> (in Russian)

Информация об авторах:

Леншин Сергей Викторович – научный сотрудник бактериологической лаборатории Сочинского филиала ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Краснодарский край, Сочи, Россия. E-mail: lenshin-s@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6815-2869>

Вишневская Татьяна Викторовна – научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: t_vish77@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6963-8681>

Ромашин Алексей Владимирович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Сочинский национальный парк», Сочи, Россия. E-mail: romashin@sochi.com; <https://orcid.org/0000-0003-4751-1484>

Булычева Юлия Игоревна – научный сотрудник лаборатории биологии и индикации арбовирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: boulychevayuli@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6798-7925>

Вышемирский Олег Иванович – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной вирусологии Курчатковского комплекса медицинской приматологии НИЦ «Курчатковский институт», Сочи, Россия. E-mail: olegvyshe@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Соловьева Софья Алексеевна – младший научный сотрудник лаборатории биологии и индикации арбовирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: sassony@ya.ru; <https://orcid.org/0009-0006-7021-7143>

Гительман Ася Калмановна – ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gitelman_ak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8410-2332>

Пазилин Алексей Сергеевич – старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: pazilin@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0002-5665-409X>

Львов Дмитрий Константинович – академик РАН, профессор, д-р мед. наук, главный научный сотрудник Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: dk_lvov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Ху Бен – PhD, научный сотрудник Ключевой лаборатории вирусологии и биобезопасности Уханьского института вирусологии Китайской академии наук, Ухань, Китайская Народная Республика. E-mail: huben@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-9194-3474>

Ши Чженгли – PhD, руководитель Ключевой лаборатории вирусологии и биобезопасности Уханьского института вирусологии Китайской академии наук, Ухань, Китайская Народная Республика; старший научный сотрудник, Национальная лаборатория Гуанчжоу, Международный Био-остров Гуанчжоу, Гуанчжоу, Китайская Народная Республика. E-mail: zlishi@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-8089-163X>

Альховский Сергей Владимирович ✉ – член-корр. РАН, д-р биол. наук, руководитель лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: salkh@ya.ru; s_alkhovsky@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Участие авторов: Леншин С.В. – сбор материала, анализ данных литературы, ПЦР-скрининг проб за 2020 и 2021 гг.; Вишневская Т.В. – секвенирование, генетический анализ, ПЦР-анализ; Ромашин А.В. – обобщение данных по рукокрылым в регионе, сбор и определение видового состава летучих мышей; Булычева Ю.И. – NSG-секвенирование и анализ данных; Вышемирский О.И. – написание статьи, анализ данных; Соловьева С.А. – ПЦР-скрининг, анализ данных; Гительман А.К. – обработка первичного материала, выделение РНК; Пазилин А.С. – выделение РНК, анализ данных, генетический анализ; Львов Д.К. – критический анализ материала, обобщение вирусологических данных; Ху Бен – анализ данных, критический анализ статьи; Ши Чженгли – концептуализация исследования, получение финансирования; Альховский С.В. – концептуализация исследования, планирование и организация исследования, написание статьи, получение финансирования.

Поступила 04.11.2024
Принята в печать 19.12.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Sergey V. Lenshin – researcher at the bacteriological laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор (Sochi department), Sochi, Russia. E-mail: lenshin-s@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6815-2869>

Tatyana V. Vishnevskaya – researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: t_vish77@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6963-8681>

Alexey V. Romashin – PhD (Biology), leading researcher, Sochi National Park, Sochi, Russia. E-mail: romashin@sochi.com; <https://orcid.org/0000-0003-4751-1484>

Yulia I. Bulycheva – researcher at the laboratory of biology and indication of arboviruses, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: boulychevayuli@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6798-7925>

Oleg I. Vyshemirsky – PhD (Medicine), leading researcher at the laboratory of infectious virology, Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center «Kurchatov Institute», Veseloe village, Sochi, Russia. E-mail: olegvyshem@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Sophya A. Solovyeva – junior researcher at the laboratory of biology and indication of arboviruses, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: sassony@ya.ru; <https://orcid.org/0009-0006-7021-7143>

Asya K. Gitelman – leading researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: gitelman_ak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8410-2332>

Alexey S. Pazilin – senior researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: pazilin@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0002-5665-409X>

Dmitry K. Lvov – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Chief Researcher, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: dk_lvov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Ben Hu – PhD, researcher at the Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China. E-mail: huben@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-9194-3474>

Zheng-Li Shi – PhD, head of the Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China. E-mail: zlishi@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-8089-163X>

Sergey V. Alkhovsky✉ – corresponding member of RAS, Dr. Sci. (Biology), head of the laboratory of biotechnology, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: salkh@ya.ru and s_alkhovskiy@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Contribution: Lenshin S.V. – sample collection, literature data analysis, PCR screening of samples from 2020 and 2021; Vishnevskaya T.V. – sequencing, genetic analysis, and PCR analysis; Romashin A.V. – sample collection, species identification of bats; Bulycheva Yu.I. – NGS sequencing and data analysis; Vyshemirskiy O.I. – sample collection, manuscript preparation and data analysis; Solovyeva S.A. – PCR screening and data analysis; Gitelman A.K. – primary sample processing and RNA extraction; Pazilin A.S. – RNA extraction, data analysis, and genetic analysis; Lvov D.K. – critical review of the material and synthesis of virological data; Ben Hu – data analysis and critical review of the manuscript; Zheng-Li Shi – conceptualization of the study and funding acquisition; Alkhovsky S.V. – conceptualization, study planning and organization, sample collection, manuscript preparation, and funding acquisition.

Received 04 November 2024

Accepted 19 December 2024

Published 26 December 2024

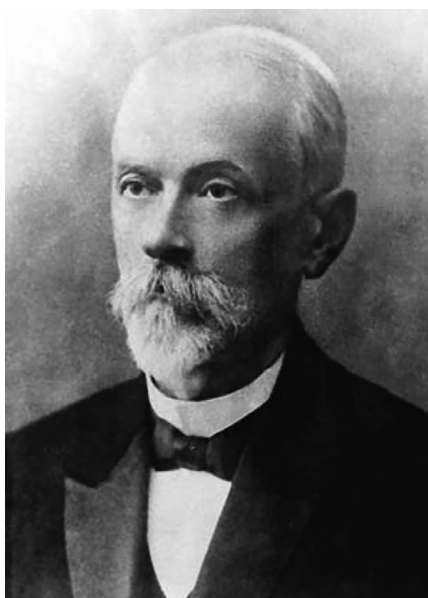
ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ



К 160-летию отца вирусологии

Родословие Д.И. Ивановского

*«Однако ж род его, и племя,
И чин, и службу, и года
Вам знать не худо, господа»
А.С. Пушкин «Езерский»*



Одна из последних фотографий Д.И. Ивановского.

Широкий интерес научного сообщества к исторической фигуре Дмитрия Иосифовича Ивановского возник лишь в 1940-х гг., после того как Уэнделл Мередит Стэнли во всеулышание упомянул о нем как о первопроходце новой науки сначала на лекции в Нью-Йоркском научном обществе Гарвея [1], затем на научной секции конгресса Национального совета американо-советской дружбы [2] и, наконец, в своей нобелевской речи [3]. Благодаря честности и научной принципиальности американского коллеги, о великом русском ученом вспомнили и в Советском Союзе. К тому времени со дня смерти Дмитрия Иосифовича минула уже четверть века, но еще были живы его младшие сотрудники и ученики, благодаря чему удалось собрать их воспоминания. Было подготовлено издание его избранных трудов [4], реконструирована его научная биография [5]. В 1950 г. состоялось объединенное заседание Отделения биологических наук АН СССР, Академии медицинских наук и Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук, посвященное памяти Д.И. Ивановского [6], тогда же его имя было присвоено Институту вирусологии.

Личность великого ученого и его путь продолжают переосмысливать и дополнять до сих пор, находя новые точки зрения и новые архивные документы [7, 8]. Однако частная жизнь Дмитрия Иосифовича интересовала исследователей в значительно меньшей степени. Что же касается истории рода Ивановских, то этот вопрос до настоящего времени, насколько нам известно, не освещался. В данной публикации предпринята попытка восполнить этот пробел.

Согласно формулярному списку о службе Дмитрия Иосифовича [9], происходил он из дворян Херсонской губернии. Действительно, в фонде Герольдии Правительствующего Сената в Российском государственном историческом архиве мы можем видеть дело «По рапорту Херсонского дворянского собрания о происхождении рода Ивановских» [10], заведенное в 1832 г. по инициативе Антона Иосифовича Ивановского, деда ученого. В документах указано, что этот человек происходил из дворян Витебской губернии, что, в свою очередь, заставляет нас обратиться к родословиям Ивановских на Витебщине. И в одном из трех таких дел мы находим сведения о более ранних поколениях этого семейства [11]. Объединение собранных данных позволяет составить представление о генеалогии Д.И. Ивановского.

Итак, пращуром рода был некий Стефан Ивановский, который приехал из Вилькомирского повета Великого княжества Литовского в Полоцкое воеводство на рубеже XVII–XVIII вв. и поселился неподалеку от Себежа. Род его, судя по форме фамилии (Ивановский, а не Яновский), имел не польское, а русское происхождение, хотя печатался польским гербом Лодзя – «*лодка желтая или золотая в четыре доски в красном поле, так как будто по крови неприятельской плывущая, без паруса и мачты, наподобие барки могущая, однако, глубокие реки переплывать. В шлеме павлинские перья и над оными лодка такового ж фасону*».

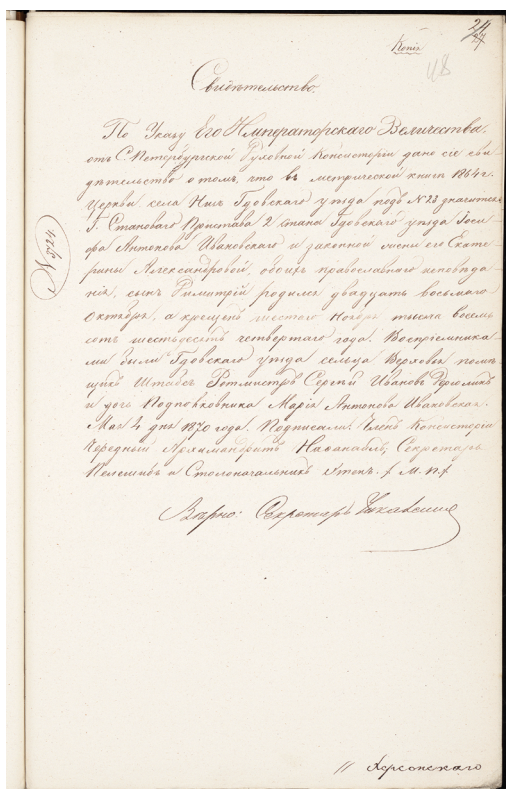
Потомки Стефана расселились в пределах Динабургского повета и, «*жительствова в сем белорусском крае, находились беспрерывно в дворянском звании и никаким ремеслом и другим противным статутному закону злоупотреблением преимущества дворянского не опорочили*». У Казимира Стефановича родились сыновья Юзеф (Иосиф) и Гжегож (Григорий). А у Юзефа Казимировича – сыновья Тадеуш (Фаддей), Антоний, Ян (Иван) и Доминик.



Герб Лодзя (РГИА, ф. 1343, оп. 22, д. 2660, л. 8).



Родовое древо Ивановских герба Лодзя (РГИА, ф. 1343, оп. 22, д. 2660, л. 8 об.).



Свидетельство о рождении Д.И. Ивановского (РГИА, ф. 1343, оп. 22, д. 2719, л. 48).

Антоний Юозефович (Антон Иосифович, или Осипович) Ивановский родился приблизительно в 1793 г. В 1809 г. он, еще юношей, покинул родные места и поступил в Дворянский полк (кадетский корпус) «для научения порядка военной службы». В феврале 1812 г. был произведен в прапорщики, назначен в Якутский

пехотный полк и уже в июле оказался на войне «против французских войск, соединенных из разных наций». Участвовал в многочисленных сражениях, брал Кобрин и Борисов, далее отправился в заграничный поход, прошел Польшу и Пруссию, Саксонию и Богемию, Вестфалию и Нассау, храбро сражался в Битве народов под Лейпцигом, за что был награжден орденом Св. Анны IV степени, добрался и до Франции, откуда возвратился лишь в 1819 г. в чине поручика.

В 1826 г. майор Ивановский перевелся в Казанский пехотный полк и вскоре женился на дочери генерала Матвея Семеновича Вукотича – Ольге (Елене). В 1827 г. он оказался в 34 егерском полку и в его составе участвовал в Турецкой кампании, где за отличную усердную службу получил орден Св. Владимира IV степени.

Супруга подарила ему двух сыновей: Иосифа (Осипа, родился в Севастополе 07.09.1827) и Федора (родился в 1830 г.), а также дочь Марию. В 1831 г. Антон Иосифович был «за болезнь уволен от службы подполковником с мундиром и пенсионом». Местом жительства он избрал д. Вукотичево Ольвиопольского уезда Херсонской губернии (ныне – Голованевский р-н Кировоградской обл.). Имение, доставшееся ему в приданое за женою, было весьма скромным: 106 десятин земли, в нем состояло 5 душ мужеского пола и 7 душ женского.

Младший из сыновей подполковника Ивановского умер еще ребенком. Старший же, Иосиф Антонович, окончил Златопольское дворянское училище и в 1847 г. вступил на гражданскую службу в канцелярию бессарабского областного прокурора. Два года спустя он был переведен в надворный суд Санкт-Петербургской губернии, а в 1850 г. обосновался в г. Гдове, где занимал ряд гражданских должностей и дослу-



Дендрограмма рода Ивановских.

жился до чина коллежского асессора. Первый его брак был краток, а во второй раз он повенчался 3 февраля 1860 г. с дочерью покойного помещика из Лугского уезда отставного капитана Александра Карповича Потемкина, Екатериною. В семье родилось шестеро детей: Николай (03.12.1860), Лидия (08.03.1862), Алексей (16.02.1863), Дмитрий (28.10.1864), Ольга (18.06.1866) и Сергей (05.12.1868).

В указанном деле имеется метрическое свидетельство третьего сына И.А. Ивановского – Дмитрия Иосифовича. Согласно этому документу, родился он 28 октября (9 ноября по новому стилю) 1864 г. и был крещен в церкви села Низ Гдовского уезда 6 ноября того же года. Воспреемниками от купели были помещик из сельца Верховья Сергей Иванович Дерголин и родная тетка младенца Мария Антоновна Ивановская.

Так и начался жизненный путь великого русского ученого. И хотя из-за ранней смерти сына Николая в 1911 г., ветвь его рода пресеклась, судьбе было угодно, чтоб он стал отцом одной из важнейших наук современности – вирусологии. Роль нашего великого соотечественника в рождении вирусологии как науки подробно описана в отечественных и зарубежных изданиях [12–15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Stanley W.M. Isolation and properties of Tobacco mosaic and other virus proteins: Harvey lecture, March 17, 1938. *Bull. NY Acad. Med.* 1938; 14(7): 398–428.
2. Stanley W.M. Soviet studies on viruses. *Science.* 1944; 99(2564): 136–8. <https://doi.org/10.1126/science.99.2564.136>
3. Stanley W.M. The isolation and properties of crystalline tobacco

4. mosaic virus: Nobel lecture, December 12, 1946. In: *Nobel Lectures: Chemistry 1942-1962.* Amsterdam; 1964: 137–57.
5. Ивановский Д.И. *Избранные произведения.* М.; 1953.
6. Овчаров К.Е. Дмитрий Иосифович Ивановский (1864–1920). М.; 1952.
7. Памяти Дмитрия Иосифовича Ивановского. В кн.: *Материалы объединенного общего собрания Отделения биологических наук АН СССР, Академии медицинских наук и Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук имени В. И. Ленина (21-22 ноября 1950 г.).* М.; 1952: 96.
8. Гапон Д.А. «Конечно, будем знать». К 150-летию со дня рождения Дмитрия Иосифовича Ивановского. *Природа.* 2015; (2): 77–87. <https://elibrary.ru/tobutb>
9. Даудов А.Х., Ростовцев Е.А., Сидорчук И.В. Дмитрий Иосифович Ивановский и Санкт-Петербургский университет. *Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. История.* 2021; 66(4): 1100–6. <https://doi.org/10.21638/11701/srbu02.2021.404> <https://elibrary.ru/lspbupv>
10. Ивановский Д.И. Государственный архив Ростовской области: ф. Р-46, оп. 3, д. 327.
11. По рапорту Херсонского дворянского собрания о происхождении рода Ивановских. Российский государственный исторический архив: ф. 1343, оп. 22, д. 2719.
12. О дворянском происхождении Ивановских. Российский государственный исторический архив: ф. 1343, оп. 22, д. 2660.
13. Львов Д.К. Рождение и становление вирусологии. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных.* М.: МИА; 2013: 66–86.
14. Beijerinck M.W. Bemerkung zu dem Aufsatz von Herrn Iwanowsky über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Abteilung II.* 1899; 5: 310–1.
15. Levine A.J., Lustig A., Lvov D.K. Foreword: 100 years of virology. In: Webster R.G., Granoff A., eds. *Encyclopedia of Virology. Volume 1.* London: Academic Press; 1994: 1–3.
16. Lvov D.K. Century of virology. In: Mahy B.W., Lvov D.K., eds. *Concepts in Virology: From Ivanovsky to the Present.* Switzerland: Harwood Academic; 1993: 3–13.

Д.О. Виноходов,
д-р биол. наук, доцент,
проректор по научной работе
Санкт-Петербургского государственного
технологического института
(технического университета)

Список статей, опубликованных в журнале «Вопросы вирусологии» в 2024 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

Жирнов О.П., Львов Д.К. Птичий грипп: «По ком звонит колокол»? №2 2024

Львов Д.К., Альховский С.В. 55 лет отделу экологии вирусов с Научно-практическим центром по экологии и эпидемиологии гриппа (Институт вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). №1 2024

ОБЗОРЫ

Adekola H.A., Wahab K.A., Odunsi O.E., Abesin T.A., Oyeyan O.A. Современная диагностика и биомаркеры арбовирусных инфекций (обзор вирусов денге, Зика, Западно-го Нила и Чикунгунья). №1 2024

Бобкова М.Р. Дефектные провирусы ВИЧ: возможное участие в патогенезе ВИЧ-инфекции. №5 2024

Марченко В.А., Жилинская И.Н. Активация и дисфункция эндотелия кровеносных сосудов при инфекции, вызванной вирусами гриппа типа А. №6 2024

Охлопова О.В., Кононова Ю.В., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Шестопалов А.М., Акимкин В.Г. Гладконосые летучие мыши (семейство Vespertilionidae) как возможный резервуар лисса- и коронавируса в Западной Сибири и на юге европейской части России. №5 2024

Попадюк Е.Е., Сизикова Т.Е., Хмелев А.Л., Тимофеев М.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Применение иммуноглобулинов и моноклональных антител в отношении COVID-19. №2 2024

Сайдудлаева И.С., Тихомиров Д.С., Дроков М.Ю., Туполева Т.А. Вирус герпеса человека 6-го типа (Orthoherpesviridae: Roseolovirus): особенности эпидемиологии и диагностики. №1 2024

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Сравнительный анализ критериев классификации ряда групп патогенных ДНК- и РНК-содержащих вирусов на основе геномных данных. №3 2024

Трачук К.Н., Пестов Н.Б., Бирюкова Ю.К., Колясников Н.М. Влияние врожденного иммунного ответа на эффективность действия онколитических вирусов. №6 2024

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Adeiza S.S., Islam M.A., Mungadi H.U., Shuaibu A.B., Sah R. Пререгистрированный мета-метаанализ по глобальному распространению гепатотропных вирусов. №5 2024

Alkhuzaie A.A.M., Jabbar E.A.K., Albadry B.J. Электролиты, цинк и витамин D₃ у пациентов с COVID-19 с сердечно-сосудистыми осложнениями. №3 2024

Антонова А.А., Лебедев А.В., Ожмегова Е.Н., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Кузнецова А.И. Вариабельность неструктурных белков у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа А6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1, sub-subtype A6), циркулирующих в разных регионах Российской Федерации. №5 2024

Асатрян М.Н., Шмыр И.С., Тимофеев Б.И., Щербинин Д.Н., Агасарян В.Г., Тимофеева Т.А., Ершов И.Ф., Герасимук Э.Р., Ноздрачева А.В., Семененко Т.А., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Разработка, изучение и сравнение моделей перекрестного иммунитета к вирусу гриппа с применением статистических методов и машинного обучения. №4 2024

па с применением статистических методов и машинного обучения. №4 2024

Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Панова А.Д., Мукашева Е.А., Краснослободцев К.Г., Кириллова Е.С., Бреслав Н.В., Трушакова С.В., Комарова И.А., Феодоритова Е.Л., Меркулова Л.Н., Хлопова И.Н., Кружкова И.С., Игнатьева А.В., Крепкая А.С., Комиссаров А.Б., Почтовый А.А., Кустова Д.Д., Гуцин В.А., Тюрин И.Н., Самков А.А., Антипят Н.А. Свойства вирусов гриппа, вызвавших эпидемические подъемы заболеваемости в России и странах мира в 2022–2023 гг. Эффективность вакцинопрофилактики. №1 2024

Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф., Новикова Н.А. Распространение и филогенетический анализ геновариантов цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5) у детей и иммунокомпромированных пациентов в центральной части России. №6 2024

Великжанина Е.И., Сашина Т.А., Морозова О.В., Кашников А.Ю., Епифанова Н.В., Новикова Н.А. Необычные ВА222-подобные штаммы Rotavirus A (Sedoreoviridae: Rotavirus: Rotavirus A): молекулярно-генетический анализ на основе всех сегментов генома. №4 2024

Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) у этносов России: распространенность типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), варианты гена LMP1 и злокачественные опухоли. №1 2024

Глотов А.Г., Южаков А.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В., Котенева С.В., Комина А.К., Жукова Е.В. Частота выявления от больных животных и генетический полиморфизм сибирских изолятов респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота (Pneumoviridae, Bovine orthorhynchovirus, Bovine respiratory syncytial virus, BRSV), выявленных на территориях Уральского, Сибирского федеральных округов РФ и Республики Казахстан. №1 2024

Жаппарова Г.А., Мырзахметова Б.Ш., Тленчиева Т.М., Түсіпова А.А., Бисенбаева К.Б., Тойтанова А.С., Кутумбетов Л.Б. Оценка эффективности химической инактивации и иммуногенности варианта Омикрон вируса SARS-CoV-2. №5 2024

Захаров В.В., Балыкина Ю.Е. Ретроспективный анализ и прогнозирование распространения вирусов в реальном времени: COVID-19 в Санкт-Петербурге и в Москве в 2020–2021 гг. №6 2024

Iloukou P.J., Boumba A.L.M., Pouki F.S., Massengo N.R.B., Takale R.P., Moukassa D., Ennaji M.M. Профилирование экспрессии генов p53 и c-myc у HTLV-1-инфицированных доноров крови в Конго. №2 2024

Iloukou P.J., Boumba A.L.M., Ngombe Mouabata D.F.L., Massengo N.R.B., Malonga G.A., Moukassa D., Ennaji M.M. Обнаружение и генотипирование вируса герпеса человека 8-го типа (Orthoherpesviridae: Rhadinovirus: Rhadinovirus humangamma 8) молекулярными методами у доноров крови в Конго. №3 2024

Калнина Л.Б., Селимова Л.М., Носик Д.Н. Оценка анти-ВИЧ-1 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus type 1) активности 6HP и 3TC *in vitro* с использованием вариантов клеточной линии MT-4 с различной репликативной активностью. №5 2024

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

*The article is published in Russian and English on the journal's website: <https://virusjour.crie.ru>

- Карташов М.Ю., Кривошеина Е.И., Курушина В.Ю., Мошкин А.Б., Ханхареев С.С., Биче-оол Ч.Р., Пелёвина О.Н., Попов Н.В., Богомазова О.Л., Терновой В.А.** Встречаемость и генетическое разнообразие вируса Алонгшан (Flaviviridae), выявленного в клещах на юге Восточной Сибири. №2 2024
- Краснов Я.М., Найденова Е.В., Гусева Н.П., Полунина Т.А., Шаропова Н.А., Соседова Е.А., Котова Н.В., Захаров К.С., Казанцев А.В., Доманина И.В., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Кондратьев Е.Н., Осина Н.А., Кутырев В.В.** Филогенетический анализ вариантов генома вируса Пуумала (Hantaviridae: *Orthohantavirus*), выделенных на территории Саратовской области.* №2 2024
- Кузнецова А.И., Антонова А.А., Лебедев А.В., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Ожмегова Е.Н., Галзитская О.В.** Особенности белка Tat не-А6-вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*), характерных для Российской Федерации.* №6 2024
- Кустова Д.Д., Почтовый А.А., Шпакова О.Г., Штинова И.А., Кузнецова Н.А., Клейменов Д.А., Комаров А.Г., Гуцин В.А.** Молекулярно-биологические закономерности сохранения циркуляции вируса SARS-CoV-2 в человеческой популяции.* №4 2024
- Латышев О.Е., Зайкова О.Н., Елисеева О.В., Савочкина Т.Е., Чернорыж Я.Ю., Сыроешкин А.В., Петров Г.В., Воркунова Г.К., Ларичев В.Ф., Федякина И.А., Черепушкин С.А., Цибезов В.В., Южакова К.А., Куликова Н.Ю., Лебедева В.В., Якунин Д.Ю., Козлова А.А., Баранец М.С., Юрлов К.И., Леснова Е.И., Гребенникова Т.В.** Разработка, получение и характеристика вирусоподобных частиц SARS-CoV-2 (Coronaviridae: *Orthocoronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*).* №2 2024
- Леншин С.В., Вишневецкая Т.В., Ромашин А.В., Бульчева Ю.И., Вышемирский О.И., Соловьева С.А., Гительман А.К., Пазилин А.С., Львов Д.К., Ху Б., Ши Ч., Альховский С.В.** Идентификация нового альфакоронавируса (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России.* №6 2024
- Мырзахметова Б.Ш., Жаппарова Г.А., Бисенбаева К.Б., Тойтанова А.С., Туысканова М.С., Жугунисов К.Д., Кутумбетов Л.Б.** Иммуная реактивность двух биологических моделей на прививку инактивированной вакциной QazVac против коронавирусной инфекции COVID-19.* №3 2024
- Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Харченко О.С., Сидоров А.В., Алаторцева Г.И., Черепович Б.С., Тараканова Ю.Н., Трубачева О.А., Пашков Е.А., Ртищев А.А., Светич О.А., Зверев В.В.** Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-zoster (Varicellovirus humanalpha3)*.* №6 2024
- Ngombe Mouabata D.F.L., Voumba A.L.M., Iloukou Mayakia P.J., Massengo N.R.B., Takale R.P., Moukassa D., Ennaji M.M.** Молекулярная диагностика папилломавирусов высокого риска и статус вакцинации среди женщин с нормальной цитологией в Конго.* №4 2024
- Носик Д.Н., Селимова Л.М., Калнина Л.Б., Каплина Э.Н.** Влияние дезоксирибонуклеата натрия с железом комплекса (ДНК-Na-Fe) на экспрессию поверхностных маркеров клеток МТ-4, инфицированных вирусом иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) (Retroviridae: *Primate lentivirus group*).* №4 2024
- Odebisi-Omokanye M.B., Suleiman M.M., Sulaiman K.M., Atolagbe S.A.** Частота выявления антител к вирусу Западного Нила среди пациентов с острой фебрильностью в Илорине, Нигерия.* №4 2024
- Ожмегова Е.Н., Кузнецова А.И., Лебедев А.В., Антонова А.А., Ким К.В., Мунчак Я.М., Туманов А.С., Казеннова Е.В.** Эффективность схем АРТ первой линии на основе TDF у ВИЧ-инфицированных пациентов с предсуществующей мутацией A62V в обратной транскриптазе.* №3 2024
- Охлопкова О.В., Гончаров А.Е., Асланов Б.И., Фадеев А.В., Давидюк Ю.Н., Мошкин А.Д., Столбунова К.А., Степанюк М.А., Соболев И.А., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Шестопалов А.М., Акимкин В.Г.** Первое обнаружение вирусов гриппа А субтипов H1N1 и H3N8 в Антарктическом регионе: о. Кинг-Джордж, 2023 год.* №4 2024
- Salim Z.F., Hamad B.J.** Молекулярная диагностика вируса ветряной оспы в спинномозговой жидкости пациентов с инсультом из провинции Ди-Кар.* №4 2024
- Тихомиров Д.С., Демин М.В., Серикова А.А., Бидерман Б.В., Судариков А.Б., Туполева Т.А.** Мутации в гене UL97 цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta 5*) увеличивают продолжительность виремии и снижают противовирусный ответ у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.* №5 2024
- Тюлько Ж.С., Фадеев А.В., Василенко А.Г., Градобоева Е.А., Якименко В.В., Комиссаров А.Б.** Анализ изменений в геноме вируса омской геморрагической лихорадки (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) при лабораторных практиках сохранения вируса. №6 2024
- Чернышев Р.С., Иголкин А.С., Зиняков Н.Г., Чвала И.А.** Сравнительный анализ полногеномных последовательностей изолятов вируса африканской чумы свиней (Asfarviridae: *Asfivirus*), выделенных на территории левобережья Днепра в 2023 году.* №5 2024
- Чанышев М.Д., Власенко Н.В., Роев Г.В., Котов И.А., Глущенко А.Г., Макашова В.В., Хафизов К.Ф., Акимкин В.Г.** Амплификационная панель NGS для секвенирования ДНК вируса гепатита В.* №1 2024
- Чернышев Р.С., Иголкин А.С., Шотин А.Р., Зиняков Н.Г., Колбин И.С., Садчиков А.С., Лаврентьев И.А., Груздев К.Н., Мазлум А.** Пространственно-временной кластерный анализ циркуляции вируса африканской чумы свиней (Asfarviridae: *Asfivirus*) в Калининградской области на основе трех генетических маркеров.* №3 2024
- Юрлов К.И., Якушина С.А., Федорова Н.Е., Кистенева Л.Б., Келли Е.И., Каниболоцкий А.А., Ивкин Е.Н., Антипят Н.А., Тюрин И.Н., Ларичев В.Ф., Демидова Н.А., Леснова Е.И., Климова Р.Р., Масалова О.В., Куц А.А.** Обнаружение и высокое содержание ДНК герпесвирусов (Orthoherpesviridae) в аутопсийных материалах пациентов с летальным исходом COVID-19.* №2 2024
- Яшина Л.Н., Жигалин А.В., Абрамов С.А., Лучникова Е.М., Сметанникова Н.А., Дупал Т.А., Кривопапов А.В., Вдовина Е.Д., Свиринов К.А., Гаджиев А.А., Малышев Б.С.** Выявление коронавирусов (Coronaviridae) у рукокрылых на территории Северного Кавказа и юга Западной Сибири.* №3 2024

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

Иванов А.П., Дзагурова Т.К., Курашова С.С., Теодорович Р.Д., Клеблеева Т.Д., Ткаченко Е.А. Система иммуноферментного анализа для серологической диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом на основе инактивированного очищенного вируса Пуумала (Hantaviridae: *Orthohantavirus*). №3 2024

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Jalil M.B., Mohammed Ali M.N., Alabadi H.I. Серопревалентность вируса простого герпеса 1-го типа (Herpesviridae: *Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) у курильщиков.* №2 2024

ДИСКУССИЯ

Ершов Ф.И. Почему XXI век может стать «веком пандемий»?
Вопрос для дискуссии. №1 2024

РЕЦЕНЗИИ

Жирнов О.П. «Клещевой энцефалит в XXI веке». Отзыв на коллективную монографию под редакцией академика РАН В.И. Злобина. №4 2024

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

К юбилею Жданова. №2 2024

Ершов Ф.И. Мой учитель. К 110-летию со дня рождения академика Виктора Михайловича Жданова. №3 2024

Виноходов Д.О. Родословие Д.И. Ивановского. №6 2024

НЕКРОЛОГИ

Борис Савельевич Народицкий. №1 2024

Николай Дмитриевич Львов. №1 2024

Колобухина Людмила Васильевна. №4 2024

ИНФОРМАЦИЯ

План секции вирусологии Московского отделения Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов на первое полугодие 2024 г. №1 2024

Календарь событий Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора. №2 2024

О вручении Государственной премии в области науки и техники за 2023 год члену-корреспонденту РАН Петру Михайловичу Чумакову. №3 2024

Index of articles published in the journal «Problems of Virology» in 2024

EDITORIAL

Lvov D.K., Alkhovskiy S.V. To the 55th anniversary of the Virus Ecology Department with the Scientific and Practical Center for the Ecology and Epidemiology of Influenza (D.I. Iva-novsky Institute of Virology of the N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Epidemiology of the Ministry of Health of Russian Federation).* №1 2024

Zhirnov O.P., Lvov D.K. Avian flu: «For whom the bell tolls»? №2 2024

REVIEWS

Adekola H.A., Wahab K.A., Odunsi O.E., Abesin T.A., Oyesanya O.A. Current Diagnostics and Biomarkers for Arboviral Infections (A Review On Dengue, Zika, West Nile And Chikungunya Viruses).* №1 2024

Bobkova M.R. Defective HIV proviruses: possible involvement in the HIV infection pathogenesis.* №5 2024

Marchenko V.A., Zhilinskaya I.N. Endothelial activation and dysfunction caused by influenza A virus.* №6 2024

Ohlopko O.V., Kononova Yu.V., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Shestopalov A.M., Akimkin V.G. Plain-nosed bats (family Vespertilionidae) as a possible reservoir of lyssa-viruses and coronaviruses in Western Siberia and the south of European Russia.* №5 2024

Popadyuk E.E., Sizikova T.E., Khmelev A.L., Timofeev M.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. The use of immunoglobulins and monoclonal antibodies against COVID-19. №2 2024

Saydullayeva I.S., Tikhomirov D.S., Drovkov M.Yu., Tupoleva T.A. Human herpes virus type 6 (Orthoherpesviridae: *Roseolovirus*): features of epidemiology and diagnosis. №1 2024

Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Comparative analysis of the taxonomic classification criteria for a number of groups of pathogenic DNA and RNA viruses based on genomic data. №3 2024

Trachuk K.N., Pestov N.B., Biryukova Yu.K., Kolyasnikova N.M. The impact of innate immune response on the efficacy of oncolytic viruses. №6 2024

ORIGINAL RESEARCHES

Adeiza S.S., Islam M.A., Mungadi H.U., Shuaibu A.B., Sah R. A preregistered meta-meta-analysis on the global distribution of Hepatotropic Viruses.* №5 2024

AIKhuzaie A.A.M., Jabbar E.A.K., Albadry B.J. Electrolytes, Zinc and Vitamin D₃ in COVID-19 Patients with Cardiovascular Complications.* №3 2024

Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Kuznetsova A.I. Variability of non-structural proteins in HIV-1 sub-subtype A6 (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*, sub-subtype A6) variants circulating in different regions of the Russian Federation.* №5 2024

Asatryan M.N., Shmyr I.S., Timofeev B.I., Shcherbinin D.N., Agasaryan V.G., Timofeeva T.A., Ershov I.F., Gerasimuk E.R., Nozdracheva A.V., Semenenko T.A., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L. Development, study and comparison of models of cross-immunity to the influenza virus using statistical methods and machine learning.* №4 2024

Burtseva E.I., Kolobukhina L.V., Panova A.D., Mukasheva E.A., Krasnoslodotsev K.G., Kirillova E.S., Breslav N.V., Trushakova S.V., Komarova I.A., Feodoritova E.L., Merkulova L.N., Khlopova I.N., Kruzhkova I.S., Ignatjeva A.V., Krepkaya A.S., Komissarov A.B., Pochtovyi A.A., Kustova D.D., Gushchin V.A., Tyurin I.N., Samkov A.A., Antipjat N.A. Properties of influenza viruses that caused epidemic increases in morbidity in Russia and countries of the world during 2022–2023. The effectiveness of vaccine prophylaxis.* №1 2024

Chanyshv M.D., Vlasenko N.V., Roev G.V., Kotov I.A., Glushchenko A.G., Makashova V.V., Khafizov K.F., Akimkin V.G. NGS amplification panel for HBV sequencing.* №1 2024

Chernyshev R.S., Igolkin A.S., Shotin A.R., Zinyakov N.G., Kolbin I.S., Sadchikova A.S., Lavrentiev I.A., Gruzdev K.N., Mazloum A. Spatio-temporal clustering of African swine fever virus (Asfarviridae: *Asfivirus*) circulating in the Kaliningrad region based on three genome markers.* №3 2024

Chernyshev R.S., Igolkin A.S., Zinyakov N.G., Chvala I.A. Comparative analysis of whole-genome sequences of African swine fever virus (Asfarviridae: *Asfivirus*) isolates collected on the territory of the left bank of the Dnieper River in 2023.* №5 2024

Glotov A.G., Yuzhakov A.G., Glotova T.I., Nefedchenko A.V., Koteneva S.V., Komina K.A., Zhukova E.V. Occurrence in sick animals and genetic heterogeneity of Siberian isolates of bovine respiratory syncytial virus (Pneumoviridae, Bovine orthopneumovirus, Bovine respiratory syncytial virus, BRSV) identified in the territories of the Ural, Siberian Federal District and the Republic of Kazakhstan. №1 2024

Gurtsevitch V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Smirnova K.V. Epstein-Barr virus (EBV) among Russian ethnic groups: Prevalence of EBV types, EBV-1 and EBV-2, LMP-1 gene variants and malignancies.* №1 2024

- Iloukou P.J., Boumba A.L.M., Ngombe Mouabata D.F.L., Masengo N.R.B., Malonga G.A., Moukassa D., Ennaji M.M.** Molecular detection and genotyping of human herpes virus 8 (Orthoherpesviridae: *Rhadinovirus: Rhadinovirus humangamma 8*) in blood donors in Congo.* №3 2024
- Iloukou P.J., Boumba A.L.M., Pouki F.S., Massengo N.R.B., Takale R.P., Moukassa D., Ennaji M.M.** Gene expression profiling of *p53* and *c-myc* in HTLV-1 positive blood donors in Congo.* №2 2024
- Kalnina L.B., Selimova L.M., Nosik D.N.** Evaluation of anti-HIV-1 (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus type 1*) activity of 6HP and 3TC *in vitro* using MT-4 cell line variants with different replicative activity.* №5 2024
- Kartashov M.Yu., Krivosheina E.I., Kurushina V.Yu., Moshkin A.B., Khankhareev S.S., Biche-ool C.R., Pelevina O.N., Popov N.V., Bogomazova O.L., Ternovoi V.A.** Prevalence and genetic diversity of the Alongshan virus (*Flaviviridae*) circulating in ticks in the south of Eastern Siberia. №2 2024
- Krasnov Ya.M., Naidenova E.V., Guseva N.P., Polunina T.A., Sharapova N.A., Sosedova E.A., Kotova N.V., Zakharov K.S., Kazantsev A.V., Domanina I.V., Chekashov V.N., Shilov M.M., Kondratiev E.N., Osina N.A., Kutyr- ev V.V.** Phylogenetic analysis of the genome variants of the Puumala virus (*Hantaviridae: Orthohantavirus*) isolated in the Saratov region.* №2 2024
- Kustova D.D., Pochtovyi A.A., Shpakova O.G., Shtinova I.A., Kuznetsova N.A., Kleimenov D.A., Komarov A.G., Gushchin V.A.** The Molecular and Biological Patterns Underlying Sustained SARS-CoV-2 Circulation in the Human Population.* №4 2024
- Kuznetsova A.I., Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Galzitskaya O.V.** The features of Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 (Retroviridae: *Lentivirus: Lentivirus humimdef1*) non-A6 variants, characteristic for the Russian Federation.* №6 2024
- Latyshev O.E., Zaykova O.N., Eliseeva O.V., Savochkina T.E., Chernoryzh Ya.Yu., Syroeshkin A.V., Petrov G.V., Vorkunova G.K., Larichev V.F., Fediakina I.T., Cherepushkin S.A., Tsibezov V.V., Yuzhakova K.A., Kulikova N.Y., Lebedeva V.V., Yakunin D.Y., Kozlova A.A., Baranets M.S., Yurlov K.I., Lesnova E.I., Grebennikova T.V.** Development, production and characterization of SARS-CoV-2 virus-like particles (Coronaviridae: *Orthocoronavirinae: Betacoronavi- rus: Sarbecovirus*).* №2 2024
- Lenshin S.V., Vishnevskaya T.V., Romashin A.V., Bulycheva Yu.I., Vyshemirsky O.I., Solovyeva S.A., Gitelman A.K., Pazilin A.S., Lvov D.K., Hu B., Shi Z.L., Alkhovskiy S.V.** Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia.* №6 2024
- Myrzakhmetova B.Sh., Zhapparova G.A., Bissenbayeva K.B., Toytanova A.S., Tuyskanova M.S., Zhugunissov K.D., Kutumbetov L.B.** Immune reactivity of two biological models to vaccination with inactivated vaccine QazVac against coronavirus infection COVID-19.* №3 2024
- Nagieva F.G., Barkova E.P., Kharchenko O.S., Sidorov A.V., Alatoritseva G.I., Cherepovich B.S., Tarakanova Yu.N., Trubacheva O.A., Pashkov E.A., Rtischev A.A., Svitich O.A., Zverev V.V.** A simple highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus humanalpha3*).* №6 2024
- Ngombe Mouabata D.F.L., Boumba A.L.M., Iloukou Maya- kia P.J., Masengo N.R.B., Takale R.P., Moukassa D., Ennaji M.M.** Molecular detection of high-risk papillomaviruses and vaccination status in normal cytology in Congo.* №4 2024
- Nosik D.N., Selimova L.M., Kalnina L.B., Kaplina E.N.** The effect of sodium deoxyribonucleate with iron complex (DNA-Na-Fe) on the expression of surface markers of MT-4 cells infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) (Retroviridae: *Primate lentivirus group*).* №4 2024
- Odebisi-Omokanye M.B., Suleiman M.M., Sulaiman K.M., Atolagbe S.A.** Seropositivity of West Nile virus among acute febrile patients in Ilorin, Nigeria.* №4 2024
- Ohlopkova O.V., Goncharov A.E., Aslanov B.I., Fadeev A.V., Davidyuk Y.N., Moshkin A.D., Stolbunova K.A., Stepanyuk M.A., Sobolev I.A., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Shestopalov A.M., Akimkin V.G.** First detection of influenza A virus subtypes H1N1 and H3N8 in the Antarctic region: King George Island, 2023. №4 2024
- Ozhmegova E.N., Kuznetsova A.I., Lebedev A.V., Antonova A.A., Kim K.V., Munchak Ya.M., Tumanov A.S., Kazennova E.V.** Efficacy of first-line ART regimens based on tenofovir in HIV-infected patients with pre-existing A62V mutation in reverse transcriptase.* №3 2024
- Salim Z.F., Hamad B.J.** Molecular Study of Varicella zoster virus in Cerebrospinal Fluid from Stroke Patients of Thi-Qar province.* №4 2024
- Tikhomirov D.S., Demin M.V., Serikova A.A., Biderman B.V., Sudarikov A.B., Tupoleva T.A.** Mutations in human cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Herpesvi- rales: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta 5*) UL97 gene lead to increase in viremia duration and poor antiviral response in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells.* №5 2024
- Tyulko Zh.S., Fadeev A.V., Vasilenko A.G., Gradoboeva E.A., Yakimenko V.V., Komissarov A.B.** Analysis of changes in the genome of the Omsk hemorrhagic fever virus (Flaviviridae: *Orthoflavivirus*) during laboratory practices for virus preservation. №6 2024
- Van'kova O.E., Brusnigina N.F., Novikova N.A.** Prevalence and phylogenetic analysis of cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) genetic variants from children and immunocompromised patients in central Russia. №6 2024
- Velikzhanina E.I., Sashina T.A., Morozova O.V., Kashnikov A.Y., Epifanova N.V., Novikova N.A.** Unusual BA222-like strains of Rotavirus A (*Sedoreoviridae: Rotavirus: Rota- virus A*): molecular and genetic analysis based on all genome segments.* №4 2024
- Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., Krivopalov A.V., Vdovina E.D., Svirin K.A., Gadzhiev A.A., Malyshev B.S.** Coronaviruses (*Coronaviridae*) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia.* №3 2024
- Yurlov K.I., Yakushina S.A., Fedorova N.E., Kisteneva L.B., Kelly E.I., Kanibolotsky A.A., Ivkin Y.N., Antipiat N.A., Turin I.N., Larichev V.F., Demidova N.A., Lesnova E.I., Klimova R.R., Masalova O.V., Kushch A.A.** Detection rates and high concentration of herpesvirus (*Orthoherpesviridae*) DNA in autopsy materials from patients COVID-19 fatal outcome. №2 2024
- Zakharov V.V., Balykina Yu.E.** Retrospective analysis and forecasting of the spread of viruses in real time: COVID-19 in St. Petersburg and Moscow in 2020–2021.* №6 2024
- Zhapparova G.A., Myrzakhmetova B.Sh., Tlenchiyeva T.M., Tussipova A.A., Bissenbayeva K.B., Toytanova A.S., Kutumbetov L.B.** Isolation of the Omicron variant of the SARS-CoV-2 virus and assessment of the effectiveness of inactivants for use in vaccine manufacturing technology. №5 2024

TO HELP THE VIROLOGIST

- Ivanov A.P., Dzagurova T.K., Kurashova S.S., Teodorovich R.D., Klebleeva T.D., Tkachenko E.A.** Enzyme immunoassay system for serological diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome based on inactivated purified Puumala virus (*Hantaviridae: Orthohantavirus*). №3 2024

SHORT COMMUNICATIONS

Jalil M.B., Mohammed Ali M.N., Alabadi H.I. Seroprevalence of Herpes simplex virus type 1 (Herpesviridae: *Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) in smokers.* №2 2024

DISCUSSION

Ershov F.I. Why can the 21st century become the «century of pandemics»? A question for discussion. №1 2024

BOOK REVIEWS

Zhirnov O.P. «Tick-borne encephalitis in the 21st century». Review of the collective monograph edited by Academician of the Russian Academy of Sciences V.I. Zlobin. №4 2024

ANNIVERSARY DATES

To the anniversary of Zhdanov. №2 2024

Ershov F.I. My teacher. On the 110th anniversary of academician Viktor Mikhailovich Zhdanov. №3 2024

Vinokhodov D.O. Genealogy of D.I. Ivanovsky. №6 2024

OBITUARY

Boris S. Naroditsky. №1 2024

Nikolay D. Lvov. №1 2024

Lyudmila V. Kolobukhina №4 2024

INFORMATION

Plan of the virology section of the Moscow branch of the All-Russian Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists for the first half of 2024. №1 2024

Calendar of events of the Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. №2 2024

On the presentation of the State Prize in Science and Technology for 2023 to Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences Petr Mikhailovich Chumakov. №3 2024

Index of articles published in the journal «Problems of Virology» in 2023. №6 2024

Анализ поступления статей, опубликованных в журнале Вопросы вирусологии в 2024 г.

В редакцию журнала в 2024 г. поступило 73 статьи, из которых были приняты к печати 48 статей (66%), в том числе в рубрике Редакционная концепция – 2, Обзоры – 8, Оригинальные исследования – 36, Дискуссия – 1, Краткие сообщения – 1.

Основное число поступивших и принятых к публикации статей присланы из исследовательских центров, расположенных в Европейской части Российской Федерации (Москва, Владимир, Нижний Новгород, Сергиев посад, Саратов), Сибири (Новосибирск, Краснослободск). Из Европы поступила статья из Франции. Из Азиатского региона статьи поступали из Казахстана, Ирака, Бангладеш, Непала, Индии. Из Африканского континента опубликованы статьи из Нигерии, Демократической республики Конго, Марокко.

По тематике значительная доля опубликованных статей была посвящена проблемам гриппа и ОРВИ, а также ВИЧ, парентеральным гепатитам, детским вирусным инфекциям, ОКИ, зоонозным инфекциям, герпесу. Опубликованы статьи, посвященные ветеринарным вирусным инфекциям, включая Африканскую чуму свиней, и отдельные сообщения по таксономии вирусов.

Срок рассмотрения поступивших статей составил 6-8 недель. Средний срок между поступлением статьи в редакцию и ее опубликованием в 2024 году составил 90 дней и во многом зависел от скорости реакции авторов на замечания рецензентов.

Редакция выражает глубокую благодарность рецензентам за высокопрофессиональную работу и надеется на дальнейшее сотрудничество.

Problems
of Virology

Voprosy
Virusologii