

**РОССИЙСКАЯ  
АКАДЕМИЯ  
НАУК**

Журнал "Вопросы вирусологии" представлен в следующих международных информационно-справочных изданиях: Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, 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, Russian Science Citation Index (на базе Web of Science)

ЛР № 010215 от 29.04.97

**Почтовый адрес:**

115088, Москва,  
ул. Новоостاپовская, д. 5, стр. 14,  
ОАО «Издательство "Медицина"»

**Адрес редакции:** 129515,  
Москва, ул. 1-я Останкинская, д. 26  
Зав. редакцией *Т.М. Курушина*  
Тел.: +7-495-150-07-47 доб. 402  
E-mail: vopr.virusol@idm.msk.ru  
[www.medlit.ru](http://www.medlit.ru)

**ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ**

Тел. +7-495-150-07-47 доб. 101  
E-mail: info@idm.msk.ru  
[www.medlit.ru](http://www.medlit.ru)

**Ответственность за  
достоверность информации,  
содержащейся  
в рекламных материалах,  
несут рекламодатели.**

Редактор *Е.П. Мороз*  
Технический редактор  
*Л.В. Зюкина*  
Корректор *В.С. Смирнова*  
Верстка *Е.М. Архипова*

Сдано в набор 30.11.2017.  
Подписано в печать 27.12.2017.  
Формат 60 × 88%.  
Печать офсетная.  
Печ. л. 6,00.  
Усл. печ. л. 5,88.  
Уч.-изд. л. 6,36.

Отпечатано в ООО "ПОЛИ ПРИНТ  
СЕРВИС", 119049, г. Москва,  
Калужская пл., д. 1, корп. 2  
ISSN 0507-4088. *Вопр. вирусологии.* 2017.  
Т. 63. № 1. 1-48.

Все права защищены. Ни одна часть этого  
издания не может быть занесена в память  
компьютера либо воспроизведена любым  
способом без предварительного письменного  
разрешения издателя.

Свидетельство о регистрации № 1170  
от 11 декабря 1990 г.



**МОСКВА  
«ИЗДАТЕЛЬСТВО  
"МЕДИЦИНА"»**

# ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

**ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

Основан в 1956 г.

**1**

**Том 63 · 2018**

## Редакционная коллегия

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

Зам. главного редактора: **Дерябин П.Г. (д.м.н., проф.)**

Ответственный секретарь: **Гребенникова Т.В. (д.б.н., проф.,  
член-корр. РАН)**

Научный редактор: **Забережный А.Д. (д.б.н., проф.)**

### Члены редколлегии:

Альховский С.В. (д.б.н.)

Баринский И.Ф. (д.м.н., проф.)

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)

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.)

Лашкевич В.А. (д.м.н., проф., акад. РАН)

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

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)

**Ананьев В.Ю.** (к.м.н., рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Приморском крае"; Владивосток, Россия)

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

**Баранов А.А.** (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

**Борисевич С.В.** (д.б.н., проф.; член-корр. РАН, Сергиев Посад, Россия)

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

**Бутаев Т.М.** (д.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Республике Сев. Осетия-Алания; Владикавказ, Россия)

**Гарбуз Ю.А.** (рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Хабаровском крае"; Хабаровск, Россия)

**Глинских Н.П.** (д.м.н., проф.; Екатеринбург, Россия)

**Григорьев С.Н.** (рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Магаданской обл."; Магадан, Россия)

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

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

**Иванов А.И.** (рук. ФКУЗ "Хабаровская ПЧС"; Хабаровск, Россия)

**Кузин А.А.** (д.м.н.; СПб, Россия)

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

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

**Лисицин Е.А.** (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Владимирской обл.; Владимир, Россия)

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

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

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

**Негесов С.В.** (д.б.н., проф., член-корр. РАН; Новосибирск, Россия)

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

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

**Покровский В.И.** (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

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

**Романенко В.В.** (д.м.н., зам. рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Свердловской обл."; Екатеринбург, Россия)

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

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

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

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

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

**Янович В.А.** (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Еврейской АО; Биробиджан, Россия)

**Яшкулов К.Б.** (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Республике Калмыкия; Элиста, Россия)

## ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА

**Виноград Н.А.** (д.м.н., проф.; Львов, Республика Украина)

**Грибкова Н.В.** (к.м.н.; Минск, Республика Беларусь)

**Титов А.П.** (д.м.н., проф., член-корр. НАН Беларуси, акад. РАН; Минск, Республика Беларусь)

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

**Berencsi G.** (PhD, MD, Prof.; Budapest, Hungary)

**Ciampor F.** (PhD, MD, DrSc; Bratislava, Slovak Republic)

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

**De Paiva T.M.** (PhD; San Paulo, Brazil)

**Galabov A.S.** (Prof., acad. of the Bulgarian Academy of Sciences; Sofia, Bulgaria)

**Golovljova I.** (PhD; Tallinn, Estonia)

**Goujgoulova G.** (PhD; Sofia, Bulgaria)

**Hoenen T.** (PhD; Hamilton, USA)

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

**Klenk H.-D.** (PhD, Prof.; Marburg, Germany)

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

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

**Maneekarn N.** (PhD, D.V.M., Prof.; Chiang Mai, Thailand)

**Matrosovich M.N.** (PhD; Marburg, Germany)

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

**Oxford J.** (DSc; London, UK)

**Petrenkienė V.** (Assoc. Prof.; Kaunas, Lithuania)

**Roggendorf M.** (MD, Essen, Germany)

**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)

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

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

**Vainionpää R.** (Docent; Turku, Finland)

**Webster R.** (PhD, DSc, Memphis, USA)

**Webby R.** (PhD, Memphis, USA)

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

**Zeichardt H.** (PhD, DSc, Prof.; Berlin, Germany)

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES  
**VOPROSY VIROLOGII**

PROBLEMS OF VIROLOGY (Russian Journal)

Scientific Theoretical Journal Issued once in two months. Published since 1956

**Volume 63 • 1 • 2018**

EDITORIAL BOARD

**Editor-in-Chief: LVOV D.K.**, MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAS

Assistant editors in chief: **Deryabin P.G.**, MD, PhD, DSc, Professor

Executive secretary: **Grebennikova T.V.**, Doctor of Biological Sciences, Professor,  
corresponding member of RAS

Scientific editor: **Zaberezhnyy A.D.**, Doctor of Biological Sciences, Professor

*Members of editorial board:*

**Al'khovskiy S.V.** – Doctor of Biological Sciences; **Barinskiy I.F.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Belousova R.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof.; **Galegov G.A.** – Doctor of Biological Sciences, Prof.; **Gulyukin M.I.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Academician of RAS; **Gurtsevich V.E.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Ershov F.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Zverev V.V.** – Doctor of Biological Sciences, Prof., Academician of RAS; **Zuev V.A.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Ivanova O.E.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Karganova G.G.** – Doctor of Biological Sciences, Prof.; **Lashkevich V.A.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Onishchenco G.G.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Uryvaev L.B.** – MD, PhD, DSc, Prof., corresponding member of RAS; **Yuminova N.V.** – Doctor of Biological Sciences, Prof.

Editorial council

**Akimkin V.G.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow, Russia)

**Aliper T.I.** – Sc.D., Prof. (Moscow, Russia)

**Anan'ev V.Yu.** – MD, PhD (Vladivostok, Russia)

**Antonov V.A.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Volgograd, Russia)

**Baranov A.A.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow, Russia)

**Borisevich S.V.** – Sc.D., Prof., corr. member of RAS (Sergiev Posad, Russia)

**Briko N.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow, Russia)

**Butaev T.M.** – MD, PhD, DSc (Vladikavkaz, Russia)

**Garbuz Yu.A.** – MD (Khabarovsk, Russia)

**Glinskikh N.P.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Ekaterinburg, Russia)

**Grigor'ev S.N.** – MD (Magadan, Russia)

**Zasedatelev A.S.** – Doctor of physical, Prof. (Moscow, Russia)

**Zlobin V.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Irkutsk, Russia)

**Ivanov L.I.** – MD (Khabarovsk, Russia)

**Kuzin A.A.** – MD, PhD, DSc (St. Petersburg, Russia)

**Kutyrev V.V.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Saratov, Russia)

**Leonova G.N.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Vladivostok, Russia)

**Lisitsin E.A.** – MD, PhD (Vladimir, Russia)

**Loktev V.B.** – Sc.D., Prof. (Novosibirsk, Russia)

**Malyshev N.A.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Moscow, Russia)

**Mikhaylov M.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., corr. member of RAS (Moscow, Russia)

**Netesov S.V.** – Sc.D., Prof., corr. member of RAS (Novosibirsk, Russia)

**Nikiforov V.V.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Moscow, Russia)

**Pokrovskiy A.G.** – MD, PhD, DSc, Prof., corr. member of RAS (Novosibirsk, Russia)

**Pokrovskiy V.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow, Russia)

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

**Romanenko V.V.** – MD, PhD, DSc (Ekaterinburg, Russia)

**Stepanova T.F.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Tyumen, Russia)

**Tutel'yan A.V.** – MD, PhD, DSc, Prof., corr. member of RAS (Moscow, Russia)

**Chuchalin A.G.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow, Russia)

**Shestopalov A.M.** – Sc.D., Prof. (Novosibirsk, Russia)

**Shchelkanov M.Yu.** – Sc.D, Prof. (Vladivostok, Russia)

**Yanovich V.A.** – MD, PhD (Birobidzhan, Russia)

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

Advisory Board

**Vinograd N.A.** – MD, PhD, DSc, Prof. (Lvov, Ukraine)

**Gribkova N.V.** – MD, PhD (Minsk, Republic of Belarus)

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

**Becker J.** – PhD, DM, Prof. (Jerusalem, Israel)

**Berencsi G.** – PhD, MD, Prof. (Budapest, Hungary)

**Ciampor F.** – PhD, MD, Dr.Sc. (Bratislava, Slovak Republic)

**Compans R.W.** – PhD, Prof. (Atlanta, USA)

**De Paiva T.M.** – PhD (San Paulo, Brazil)

**Galabov A.S.** – Prof., acad. of the Bulgarian Academy of Sciences (Sofia, Bulgaria)

**Golovljova I.** – PhD (Tallinn, Estonia)

**Goujgoulova G.** – PhD (Sofia, Bulgaria)

**Hoenen T.** – PhD (Hamilton, USA)

**Kawaoka Y.** – PhD, Prof. (Tokyo, Japan)

**Klenk H.-D.** – PhD, Prof. (Marburg, Germany)

**Kuhn J.H.** – MD, PhD, PhD, MSc (Frederick, USA)

**Mackenzie J.** – PhD, Prof. (Brisbane, Australia)

**Maneekarn N.** – PhD, D.V.M., Prof. (Chiang Mai, Thailand)

**Matrosovich M.N.** – PhD (Marburg, Germany)

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

**Oxford J.** – DSc (London, UK)

**Petrenkiene V.** – Assoc. Prof. (Kaunas, Lithuania)

**Roggendorf M.** – MD (Essen, Germany)

**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)

**Turan K.** – PhD, Assoc. Prof. (Istanbul, Turkey)

**Vaheri A.** – PhD, MD, Prof. (Helsinki, Finland)

**Vainionpää R.** – Docent (Turku, Finland)

**Webster R.** – PhD, DSc. (Memphis, USA)

**Webby R.** – PhD (Memphis, USA)

**Yuelong Shu** – PhD (Beijing, P.R. China)

**Zeichardt H.** – PhD, DSc, Prof. (Berlin, Germany)



Izdatel'stvo Meditsina

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОБЗОРЫ

- Львов Д.К., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В.** Гигантские вирусы: происхождение, распространение, таксономические, структурно-морфологические и молекулярно-биологические характеристики . . . . . 5
- Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н.** Теоретические и прикладные аспекты системы интерферонов: к 60-летию открытия интерферонов . . . . . 10
- Костюшев Д.С., Зуева А.П., Брезгин С.А., Липатников А.Д., Волчкова Е.В., Малеев В.В., Чуланов В.П.** Роль ДНК-метилтрансфераз в жизненном цикле вируса гепатита В и патогенезе хронического гепатита В . . . . . 19

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Дёмина Т.В., Козлова И.В., Ткачёв С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Савинова Ю.С., Сунцова О.В., Верхозина М.М., Джюев Ю.П., Парамонов А.И., Киселёв Д.О., Злобин В.И.** Определение и сравнительный анализ геномной структуры сибирских штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа . . . . . 29
- Чернохаева Л.Л., Майкова Г.Б., Рогова Ю.В., Романенко В.В., Анкудинова А.В., Килячина А.С., Ворович М.Ф., Карганова Г.Г.** Сопоставление результатов иммуноферментного анализа и реакции нейтрализации при оценке защищенности населения от клещевого энцефалита . . . . . 36
- Ростова Н.Б., Гудилина Н.А.** Критерии рациональной фармакотерапии на примере ВИЧ-инфекции . . . . . 41

### РЕЦЕНЗИИ

- Сидорчук А.А.** Рецензия на монографию В.В. Макарова, А.М. Гулюкина «Бешенство — естественная история на рубеже столетий» . . . . . 48

## CONTENTS

### REVIEWS

- Lvov D.K., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V.** Giant viruses: origin, spreading, taxonomical, structural–morphological and molecular–biological characteristics
- Ershov F.I., Narovlyansky A.N.** Theoretical and applied aspects of the interferon system: to the 60th anniversary of the discovery of interferons
- Kostyushev D.S., Zueva A.P., Brezgin S.A., Lipatnikov A.D., Volchkova E.V., Maleyev V.V., Chulanov V.P.** The role of DNA-methyltransferases in the life cycle of hepatitis B virus and pathogenesis of chronic hepatitis B

### ORIGINAL RESEARCH

- Demina T.V., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Savinova Yu.S., Suntsova O.V., Verkhovina M.M., Dzhioev Yu.P., Paramonov A.I., Kiselev D.O., Zlobin V.I.** Definition and comparative analysis of the genomic structure of siberian strains of tick-borne encephalitis virus of the european subtype
- Chernokhaeva L.L., Maikova G.B., Rogova Yu.V., Romanenko V.V., Ankudinova A.V., Kilyachina A.S., Vorovich M.F., Karganova G.G.** Comparison of results obtained by elisa and neutralization test in assessing the protection of population from tick-borne encephalitis
- Rostova N.B., Gudilina N.A.** Criteria of rational pharmacotherapy: evidence from HIV treatment

### BOOK REVIEWS

- Sidorchuk A.A.** Rabies – natural history at the turn of the century, a monograph by V.V. Makarov and A.M. Gulyukin

#### Уважаемые авторы и читатели журнала!

Обращаем Ваше внимание на то, что мы обновили сайт журнала «Вопросы вирусологии».

**Новый адрес сайта:** [www.medlit.ru/journalsview/virology](http://www.medlit.ru/journalsview/virology)

Вы можете подписаться через наш сайт на электронную версию журнала или купить отдельные статьи по издательской цене. Для этого нужно пройти регистрацию на сайте.



## ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018  
УДК 578.84:578.1/5

Львов Д.К.<sup>1</sup>, Сизикова Т.Е.<sup>2</sup>, Лебедев В.Н.<sup>2</sup>, Борисевич С.В.<sup>2</sup>

## ГИГАНТСКИЕ ВИРУСЫ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ, СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад-6

В обзоре рассмотрены происхождение, эволюция, распространение, таксономические, структурно-морфологические и молекулярно-биологические характеристики гигантских вирусов, отнесённых к двум семействам *Mimiviridae* и *Marseilleviridae* и трем негруппированным родам *Pithovirus*, *Pandoravirus* и *Mollivirus*. Гигантские вирусы различимы под световым микроскопом, а количество генов в геноме сопоставимо с таковым у бактерий, что привело к переоценке признаков, отличающих вирусы от других микроорганизмов.

Ключевые слова: обзор; гигантские вирусы; ДНК; вирофаги; виды амёб; эукариоты; мимивирусная респираторная инфекция.

Для цитирования: Львов Д.К., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Гигантские вирусы: происхождение, распространение, таксономические, структурно-морфологические и молекулярно-биологические характеристики. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(1): 5-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-5-10>

Lvov D.K.<sup>1</sup>, Sizikova T.E.<sup>2</sup>, Lebedev V.N.<sup>2</sup>, Borisevich S.V.<sup>2</sup>

## GIANT VIRUSES: ORIGIN, SPREADING, TAXONOMICAL, STRUCTURAL-MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-BIOLOGICAL CHARACTERISTICS

<sup>1</sup>National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation;

<sup>2</sup>48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad-6, 141306, Russian Federation

The brief review is devoted to description of the discovery of giant viruses belonging to the families of *Mimiviridae* and *Marseilleviridae*, as well as unassigned genera *Pithoviruses*, *Pandoravirus*, and *Molliviruses*. The review presents issues of their origin, evolution, and molecular-biological characteristics.

Key words: review; giant viruses; virophages; amoeba species; eukaryotes; light microscopy; mimivirus associated pneumonia.

**For citation:** Lvov D.K., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Giant viruses: origin, spreading, taxonomical, structural-morphological and molecular-biological characteristics. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(2): 5-10. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-5-10>

**For correspondence:** Sergei V. Borisevich, Dr. Biol. Sci., Professor, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Head of the 48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad-6, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru

### Information about authors:

Lvov D.K., <http://orcid.org/0000-0001-8176-6582>; Sizikova T.E., <http://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Lebedev V.N., <http://orcid.org/0000-0002-6552-4599>; Borisevich S.V., <http://orcid.org/0000-0002-5742-3919>

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

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

Received 10 October 2017

Accepted 17 October 2017

Природа вирусов как доклеточной формы жизни оставалась неустановленной с момента их открытия Д.И. Ивановским (1892) до выявления вирусов с помощью электронной микроскопии (1939) [1]. А. Lwoff и P. Tournier [2] сформулировали критерии, отличающие

вирусы от других живых существ: наличие в вирусной частице только одной нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК); в отличие от клеток (и облигатных внутриклеточных паразитов) вирусы не способны к делению, не обладают аппаратом для трансляции белка и не синте-

Для корреспонденции: Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, проф., член-корр. РАН, начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ, 141306, г. Сергиев Посад-6. E-mail: 48cnii@mail.ru

зируют аденозинтрифосфат (АТФ), необходимый для их репликации.

До конца XX века считали, что размеры вирусов не превышают 0,5 мкм, и вирусы могут проникать через стерилизующие фильтры и не могут быть различимы с помощью светового микроскопа. Это положение было пересмотрено в 2003 г. после доказательства вирусной природы мимивируса, впервые описанного в 1992 г. [3—7]. Вирионы *Mimivirus* были сначала ошибочно приняты за бактерии, поскольку при их визуализации с помощью светового микроскопа они напоминали грамположительные кокки. Как вирусы они были идентифицированы только в 2003 г. при электронной микроскопии, позволившей выявить у них икосаэдральный нуклеокапсид. Название «мимивирусы» этимологически происходит от англ. *Mimicking microbe virus*, т. е. вирус, имитирующий бактерию [5—8]. Описан вирофаг Спутник, (SVP — *Sputnic virophage*), паразитирующий на гигантских мимивирусах [5]. Открытие *Mimivirus* способствовало новым дискуссиям по определению и классификации вирусов. Гигантские вирусы различимы под световым микроскопом, количество генов в их геноме сопоставимо с таковым у бактерий. Особенности транскрипции и трансляции некоторых из этих генов предполагают их относительную автономность от клетки-хозяина [8]. *Mimivirus* был выделен с помощью культуральной стратегии, заключающейся в инокуляции образцов на аксеническую амёбную культуру, предназначенную для выращивания микробов. Таким образом, *Mimivirus* был обнаружен бактериологами, а не вирусологами [7].

В настоящее время гигантские вирусы объединены в 2 семейства: *Mimiviridae* (включает 2 рода: *Safeteriavirus* и *Mimivirus*, каждый из которых включает по одному виду) и *Marseilleviridae* (включает род *Marseillevirus* и 2 негруппированных вида) и несколько негруппированных родов *Megavirus*, *Pandoravirus*, *Pithovirus* и *Mollivirus*, которые, однако, еще не утверждены Международным комитетом по таксономии вирусов [9, 10]. Вирусы-гиганты, или гирусы (от *гигантские вирусы*), относят к группе больших цитоплазматических ДНК-вирусов, в которую также входят представители семейств *Phycodnaviridae*, *Poxviridae*, *Iridoviridae*, *Ascoviridae* и *Asfarviridae* (включает 2 рода: *Asfarvirus* и *Faustovirus*). Эту группу вирусов также относят к неформальному (не имеющему таксономического статуса) отряду *Megavirales*, что является отражением как их морфологических характеристик (архитектура и размеры вириона), так и эволюционных связей, определяемых общим набором ряда генов, участвующих в репликации вируса [4, 10]. Все представители неформального отряда *Megavirales* кодируют набор из 5 основных генов: капсидного белка; D5-геликазы; ДНК-полимеразы В; АТФазы; позднего транскрипционного фактора 3. Кроме этого, мегавирусы кодируют более широкий набор из почти 200 близкородственных генов. Предполагается, что эти вирусы имели общего предка, геном которого предположительно содержал около 50 высококонсервативных генов [4].

До открытия гигантских вирусов нуклеоцитоплазматические большие ДНК-содержащие вирусы, инфицирующие клетки эукариот, были сгруппированы в 4 семейства (*Poxviridae*, *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Phycodnaviridae*) [11]. Размер их геномов составлял от  $1,0 \cdot 10^5$  до  $4,0 \cdot 10^5$  пар нуклеотидных оснований (п.н.о.). С 2003 г. данная группа пополнилась за счёт включения

в неё семейства *Mimiviridae* и других гигантских вирусов [1]. Исследования гигантских вирусов получили значительный импульс с развитием технологий метагеномного анализа [12].

Вирусы-гиганты инфицируют различные виды амёб рода *Acanthamoeba*, наиболее распространённых простейших, обитающих в почве и естественных или искусственных водоёмах [1]. Свободноживущие амёбы широко распространены в почве, пыли, морской и питьевой воде, воздухе и других субстратах [13]. Патогенные для человека виды амёбы принадлежат к 4 родам: *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Naegleria* и *Sappinia*. Формирующие цисты амёбы обеспечивают сохранение паразитирующих в них гигантских вирусов и являются для них как хозяевами, так и факторами передачи [13].

Выявлена связь гигантских вирусов с инфекционной патологией человека. В ходе исследования в Брэдфорте (Англия) в 1992 г. во время вспышки пневмонии был обнаружен новый микроорганизм, идентифицированный как вирус *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV) в 2003 г. [7]. APMV вызывает спорадическую заболеваемость и вспышки респираторного заболевания [14, 15]. В серии исследований показана связь вируса у 7,1—9,7% больных с пневмонией [14, 16]. При обследовании в Канаде 376 пациентов с пневмонией антитела к вирусу были обнаружены у 9,7% по сравнению с 2,3% среди 511 здоровых лиц [16, 17]. Острая пневмония, ассоциированная с APMV, была выявлена у медицинского работника в Марселе [18]. В другом исследовании при обследовании проб из верхних отделов респираторного тракта 214 пациентов связь APMV с пневмонией выявить не удалось [19]. Однако все позитивные случаи индикации APMV были получены из нижних отделов респираторного тракта [16]. APMV можно обнаружить в окружающей среде [20, 21]. Заражение возможно при поедании сырой рыбы [22]. Для диагностики и эпидемиологического скрининга используется ПЦР в реальном времени [19]. При экспериментальной инфекции мышей, вызванной *Mimivirus* линии С, были выявлены гистопатологические особенности пневмонии (утолщенные альвеолярные стенки, воспалительные инфильтраты и диффузные альвеолярные повреждения).

### Семейство *Mimiviridae*

Вирион *Mimivirus* представляет собой белковый капсид диаметром 440 нм, характеризующийся икосаэдральной симметрией. Поверхность нуклеокапсида покрыта пептогликаноподобным слоем толщиной 150 нм. Эта оболочка, предположительно определяющая возможность окраски *Mimivirus* по Граму, делает ее максимально устойчивой к воздействию повреждающих факторов внешней среды. Нуклеоид диаметром 320 нм содержит линейную двухцепочечную геномную ДНК размером  $1,26 \cdot 10^6$  п.н.о. и белки, необходимые для инициации инфекционного цикла, в частности ответственные за первые этапы транскрипции генов [1, 5, 6].

У *Mimivirus* выделяют линии А, В, С. В качестве хозяев этих вирусов используют следующие виды амёб: *Acanthamoeba castellanii* (AC), *A. polyphaga* (AP) и *A. griffini* (AG). При анализе проб из лагуны Белу-Оризонти (Бразилия) в 2014 г. выделено 69 вирусов, в том числе 67 *Mimivirus*, 1 *Marseillevirus* и 1 пандоравирус.

Наибольшее количество изолятов вируса выделено в культуре AP (46,38%), в то время как в культуре *Vermamoeba vermiformis* не выделено ни одного изолята [23].

Морфогенез вирионов внутри инфицированных амёб анализировали с помощью различных методов, которые показали, что липидные мембраны формируются из эндоплазматического ретикулума и служат для инициации сборки капсида [24, 25].

Идентифицированы родственные мимивирусам гигантские вирусы, поражающие морские организмы, в том числе фагоцитарные протисты и микроводоросли [4].

Структура частицы является высококонсервативной для всех *Mimivirus* за исключением толщины оболочки, которая может колебаться от  $75 \pm 5$  нм у *Megavirus chilensis* [26] до  $100 \pm 5$  нм у *Moumouvirus* [27]. Эти различия могут определяться углеводными остатками белков оболочки.

Геном *Mimivirus* кодируют уникальные (по отношению к другим вирусам) белки и участвуют в репарации ДНК, свертывании белка, синтезе нуклеотидов, метаболизме аминокислот, модификации белка или метаболизме липидов либо полисахаридов. Кроме того, в капсидах *Mimivirus* обнаружена информационная РНК, и было установлено, что геном кодирует транспортные РНК (тРНК) и содержит поздние и ранние промоторы генов [8, 9, 28].

Геном *Mimivirus* содержит информацию, необходимую для формирования 7 различных синтетаз для тРНК. Мимивирусы кодируют синтетазы для тРНК аргинина (Arg), цистеина (Cys), метионина (Met) и тирозина (Tyr). *Moumouvirus* кодирует также синтетазы для тРНК изолейцина (Ile), *M. chilensis* — синтетазы для тРНК триптофана (Trp) и аспарагина (Asn).

### Семейство *Marseilleviridae*

Семейство получило название по месту географического выделения *Marseillevirus* (Марсель, 2009 г.). Вирус выделен из сточных вод путём культивирования на *A. polyphaga*. Вирион содержит икосаэдрический капсид размером 250 нм. Другими представителями этого нового семейства гигантских вирусов стали вирусы *Losanna*, *Kan-8*, *Senegal*, *Melbournevirus*, *Tunis* и *Insectomimivirus*. Данные вирусы были выделены из различных проб воды.

Для представителей семейства *Marseilleviridae* характерна значительная геномная мозаичность, которая связана с симпатическим образом жизни в амёбах, где гигантские вирусы могут размножаться при контакте с другими бактериями или грибами, и может произойти горизонтальный перенос геномной последовательности. Геном *Marseillevirus* имеет размер  $3,5\text{—}3,8 \cdot 10^5$  п.н.о. с содержанием G + C  $\approx 45\%$  и генами, родственными генам бактерий, архей и эукариот, включая амёбы [4]. У представителей семейства *Marseilleviridae* обнаружены гены, кодирующие гистоноподобные белки и гистоновые дублиеты, т. е. гены, обнаруженные до недавнего времени только в эукариотических геномах.

В геноме *Marseillevirus* были обнаружены большие кластеры генов, кодирующих белки, содержащие домен распознавания бактериальноподобной мембраны (MORN). Более того, геном *Marseillevirus* содержит очень большое количество специфических для данного семейства открытых рамок считывания (ОРС) без избыточной белковой последовательности. Филогенетическая реконструкция, основанная на основных генах отряда *Megavirales*, показала, что семейство *Marseilleviridae* включает 3 отдельные линии [4]. К первой линии относятся *Marseillevirus*, *Kan-8* и *Melbournevirus*. Вирус *Losanna* является единственным представителем второй

линии. Наконец, третья линия состоит из вирусов *Tunis* и *Insectomimivirus*.

### Род *Pandoravirus*

Исследование водной среды на наличие чувствительных к инфицированию *Mimivirus* видов амёб привело к открытию семейства *Pandoraviridae* — гигантских вирусов, которые выявлены в образцах при совместном культивировании с *Acanthamoeba*. В настоящее время выявлено 2 вида пандоравирусов: *Pandoravirus salinus* и *P. dulcis* [1].

После нескольких циклов репликации в амёбах пандоравирусы можно наблюдать в световой микроскоп. Размер вирионов составляет 0,8—1,2 мкм в длину и 0,5 мкм в ширину [1].

Другой пандоравирус *P. inopinatum* выделен от большого амёбным кератитом. Вирионы окружены мембраной толщиной 70 нм, состоящей из 3 различных при электронной микроскопии слоёв — внутреннего толщиной 20 нм, промежуточного и внешнего толщиной 25 нм. В отличие от рода *Mimivirus* у представителей рода *Pandoravirus* отсутствует повышенная электронная плотность в центральном участке вириона, которая обычно свидетельствует о наличии компактного генома [1]. ДНК, экстрагированная из очищенных вирусных частиц, представляет собой двухцепочечную линейную молекулу размером  $2,77 \cdot 10^6$  п.н.о. для *P. salinus*,  $1,93 \cdot 10^6$  п.н.о. для *P. dulcis* и  $2,24 \cdot 10^6$  п.н.о. для *P. inopinatum* [1]. Проведено полногеномное секвенирование пандоравируса, выделенного от большого кератитом, вызванного амёбами [29]. Последовательность содержит 2 243109 п.н.о., содержание G + C составляет 60,66%. Выявлено 902 нуклеотидных последовательности, кодирующих 1339 возможных белков. 93% известных генов пандоравирусов не связаны с определенными функциями. Их ещё предстоит изучить.

Как и у *Mimivirus*, размер частиц *Pandoravirus* препятствовал (в течение 6 лет после их первичного обнаружения) их идентификации как вирусов [30]. Филогенетический анализ *Pandoravirus* и *Phycodnavirus* по консервативным коровым генам показывает их тесное родство.

### Род *Pithovirus*

Прототипный вид, представляющий данный род, — *Pithovirus sibericum*, выделенный из вечной мерзлоты возрастом 30 тыс. лет [31].

Выделен новый *Pithovirus* из пробы сточных вод [32]. Этот гигантский вирус, названный *P. massiliensis*, сравнивали с *P. sibericum*. Сравнение нуклеотидных последовательностей данных вирусов показало, что скорость мутации в пределах данного семейства гигантских вирусов составляет  $3 \cdot 10^{-6}$  мутаций (на сайт) в год. Генетическая стабильность *P. massiliensis* указывает на то, что гигантские вирусы эволюционируют подобно прокариотам, используя классические механизмы эволюции, такие как селекция и стабилизация генов.

Сообщено об открытии *Cedratvirus*, нового представителя гигантских вирусов, являющегося отдаленно родственным *Pithovirus* [33]. Вирус выделен от *A. castellanii* в Алжире из проб окружающей среды.

Вирусная частица амфорообразная, характеризующая наличие 2 выемок в каждом из концов вириона. Размер генома 585 068 п.н., он относительно близок к геномам *P. sibericum* и *P. massiliensis* [31].



### Группа *Mollivirus*

*Mollivirus* были впервые выявлены в световом микроскопе как круглые частицы, размножающиеся в культуре *A. castellani*, полученной из того же образца вечной мерзлоты 30 000-летней давности, что и культура *Pithovirus sibericum* [1]. На вирусных частицах диаметром 600 нм видны 2—4 кольца толщиной  $\approx 20$  нм, указывающие на различную длину. Частицы окружены ворсинками, состоящими из внешнего слоя толщиной 10—12 нм и внутреннего слоя 10—14 нм диаметром. Как и у других неикосаэдральных вирионов, отсутствует электронно-плотная структура, указывающая на способ и место упаковки двухцепочечного ДНК-генома размером  $6,51 \cdot 10^5$  п.н.о. Геном кодирует 523 белка, для 64% которых выявлены ОРС, 16% белков являются близкородственными *Pandoravirus* и 10% — *Acanthamoeba castellani*, вероятно, вследствие горизонтального переноса генов [9].

Выделение гигантских вирусов привело к открытию нового типа вирусов, названных вирофагами по аналогии с бактериофагами [7]. Вирофаги не могут самостоятельно реплицироваться в клетках *Acanthamoeba* spp., но способны к репликации в присутствии мимивирусного хозяина. Вирофаги имеют малые (50 нм в диаметре) вирионы с икосаэдрическим капсидом и геном двухцепочечной ДНК размером  $\approx 18$  тыс. п.н.о., которые кодируют 20—21 белок.

Первый вирофаг, названный «Спутник», был описан как заражающий другого представителя гигантских вирусов *Mamavirus* [7]. Репликация Спутника нарушила нормальный репликативный цикл и морфогенез *Mamavirus*, уменьшая на 70% амёбный лизис и генерируя мимивирусные частицы с аномальными морфологиями. Впоследствии были найдены вирофаг Rio-Negro, который был выделен от мимивируса, выделенного из воды реки Рио-Негро в Бразилии. Дивергентный вирофаг амёбных вирусов, получивший название «Zamilon», был выделен из образца почвы, собранной в Тунисе [4]. Вирофаги были выявлены и у других Mimiviridae, относящихся к родам *CroV* и *PgV*.

Репликативный цикл вирофагов определяется репликативным циклом соответствующего вируса. Из 4 семейств гигантских вирусов Mimiviridae и *Pithovirus* являются цитоплазматическими, *Pandoraviridae* и *Mollivirus* — нуклеоцитоплазматическими.

Вирофаги оказывают выраженное специфическое действие. Так, вирофаг Zamilon инфицирует клетки амёб,

содержащие мимивирусы линий В и С, но не линии А. Вирофаг Спутник поражает *Mimivirus*, бактериофаг OLV-Phycodnavirus [34].

Кроме того, в мимивирусах были обнаружены трансформируемые элементы, которые были названы трансповиронами. Это элементы ДНК длиной  $\sim 7 \cdot 10^3$  п.н.о., которые кодируют 6—8 белков, среди которых два гомологичны генам вирофага. Они накапливаются внутри вирионов, а также в вирофаговых частицах и амёбах [4].

Некоторые структурно-морфологические и молекулярно-биологические характеристики гигантских вирусов, представленные в таблице, указывают на отличительные признаки гигантских вирусов по отношению к другим представителям царства *Virga*:

— гигантские вирусы видимы с помощью светового микроскопа;

— геномы гигантских вирусов кодируют больше белков, чем некоторые бактерии и внутриклеточные паразитарные эукариоты.

Существует 2 различных типа гигантских вирусов, которые инфицируют таких простейших, как амёбы рода *Acanthamoeba*. Для представителей порядка Megavirales свойственен икосаэдральный капсид с повышенным содержанием АТ, в то время как для пандоравирусов свойственен амфороподобный геном и повышенное содержание GC. Их геном размером до  $2,77 \cdot 10^6$  п.н.о. кодирует до 2500 белков. Их репликация задействует клеточные ядра клетки-хозяина [28].

Критической стадией при сборке вирионов является упаковка геномов. Представители отряда Megavirales в этом плане более сходны с прокариотами, чем с другими вирусами, что было установлено при изучении АРМВ. АРМВ также кодирует другие компоненты, в частности 3 сериновых рекомбиназы и топоизомеразу II типа, которые необходимы при сегрегации хромосом в прокариотах [35].

Нуклеоцитоплазматические большие ДНК-вирусы (НБДВ), включающие гигантские вирусы, способны инфицировать животных, простейших и фитопланктон, но не растения, обитающие на суше. Бриофиты *Phycotrella patens* и *Selaginella moellendorffii* содержат ОРС, обладающие высокой степенью гомологии с НБДВ [36]. Всего выявлено до 16 НБДВ-подобных ОРС.

Само появление таких ОРС в процессе эволюции может быть объяснено горизонтальным переносом генов

Структурно-морфологические и молекулярно-биологические характеристики представителей гигантских вирусов порядка Megavirales [1, 4, 10, 31]

Семейство или род вирусов	Прототипный представитель	Форма вириона	Размер вириона, нм	Размер генома, п.н.о	Содержание G + C	Количество генов
<i>Pandoravirus</i>	<i>Pandoravirus salinus</i>	Амфорообразная	1200×500	$2,77 \cdot 10^6$	64	2556
<i>Pithovirus</i>	<i>Pithovirus sibericum</i>	То же	1200×500	$6,10 \cdot 10^5$	36	467
<i>Mollivirus</i>	<i>Mollivirus sibericum</i>	« «	600	$6,51 \cdot 10^5$	60	523
Mimiviridae, группа А	<i>Mimivirus</i>	Икосаэдральная	630	$1,82 \cdot 10^6$	28	1018
Mimiviridae, группа В	<i>Moumouvirus</i>	То же	600	$1,021 \cdot 10^6$	25	915
Mimiviridae, группа С	<i>Megavirus chilensis</i>	« «	610	$1,259 \cdot 10^6$	25	1123
Mimiviridae CroV	<i>CroV</i>	« «	300	$7,3 \cdot 10^5$	23	544
Mimiviridae PgV	<i>PgV</i>	« «	300	$4,6 \cdot 10^5$	32	442
Marseilleviridae	<i>Marseillevirus</i>	« «	300	$3,8 \cdot 10^5$	45	423



при трансфекции близкородственным вирусом, представляющим новое семейство НБДВ.

НБДВ, по данным анализа белка нуклеокапсида, формируют только одну часть группы, которая включает также бактериофаги и вирусы архей [37].

Изучение геного трафика между Acanthamoeba и гигантскими вирусами предполагает наличие еще не открытого семейства гигантских вирусов (кроме *Mollivirus*, *Marseillevirus*, *Pithovirus* и *Mimivirus*) [36, 38].

Эффективная стратегия выделения гигантских вирусов позволила получить большое количество различных гигантских мимивирусов из образцов воды и почвы, а также из проб от людей, взятых в различных регионах земного шара, что предполагает их повсеместное распространение [4].

Широкое распространение гигантских вирусов указывает на то, что они не являются элементами известных клеточных организмов.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что гигантские вирусы представляют собой форму жизни, которую можно рассматривать как промежуточную между вирусами и клеточными организмами [39]. Изучение встраивания ДНК-транспозонов в гигантские вирусы в совокупности с изучением содержания, динамики развития и эволюции последних указывают на лишь несущественные различия по данным показателям по сравнению с клеточными фрагментами [40].

Изучение вирусов, входящих в отряд Megavirales, указывает на их филогенетические отличия от бактерий, архей и эукариот, а также на то, что предки мегавирусов столь же древние, как и предки перечисленных выше форм жизни [4].

Гигантские вирусы видны под световым микроскопом, обладают рядом фенотипических и генотипических особенностей, не встречающихся у других вирусов. В то же время для гигантских вирусов присущи некоторые свойства патогенных микробов. Гигантские вирусы широко распространены в биосфере, а представители семейств Mimiviridae и Marseilleviridae были выделены от больных людей и ассоциированы с заболеваниями человека [4].

До относительно недавнего времени рассматривались три основных гипотезы происхождения вирусов (древнейшая форма жизни, потомки «заблудившихся генов», продукт обратной эволюции микроорганизмов) [2]. Изучение гигантских вирусов дает все основания для предположения о том, что вирусы не являются продуктом обратной эволюции микроорганизмов [41]. Генетический потенциал гигантских вирусов позволяет рассматривать их в качестве возможного источника для спонтанного появления новых патогенных для человека ДНК-содержащих вирусов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 2, 4, 5, 7—14, 16—41 см. REFERENCES)

- Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции*. М.: МИА; 2013: 68—86.
- Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю. Мимивирусы (*Mimiviridae*). В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013: 166.
- Abergel C., Legendre M., Claverie J.M. The rapidly expanding universe of giant viruses: Mimivirus, Pandoravirus, Pithovirus and Mollivirus. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015; 39(6): 779—96.
- Lwoff A., Tournier P. The classification of viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 1966; 20: 45—74.
- L'vov D.K. Ecology of viruses. In: L'vov D.K., ed. *A Guide to Virology. Viruses and Viral Infections [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii]*. Moscow: MIA; 2013: 68—86. (in Russian)
- Aherfi S., Colson P., La Scola B., Raoult D. Giant Viruses of Amoebas: An Update. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 349.
- Claverie J.M., Abergel C. Family Mimiviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Academic Press; 2012: 223—8.
- L'vov D.K., Al'khovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu. Mimiviridae. In: L'vov D.K., ed. *A Guide to Virology. Viruses and Viral Infections [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii]*. Moscow: MIA; 2013: 166. (in Russian)
- La Scola B., Audic S., Robert C., Jungang L., de Lamballerie X., Drancourt M. et al. A giant virus in amoebae. *Science.* 2003; 299(5615): 2033.
- Raoult D., La Scola B., Birtles R. The discovery and characterization of Mimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45(1): 95—102.
- Legendre M., Lartigue A., Bertaux L., Jeudy S., Bartoli J., Lescot M. et al. In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-year-old giant virus infecting Acanthamoeba. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015; 112(38): 5327—35.
- Benamar S., Reteno D.G., Bandalay V., Labas N., Raoult D., La Scola B. Faustoviruses: Comparative Genomics of New Megavirales Family Members. *Front. Microbiol.* 2016; 7(3): 1—9.
- Iyer L.M., Aravind L., Koonin E.V. Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. *J. Virol.* 2001; 75(23): 11720—34.
- Verneau J., Lévassieur A., Raoult D., La Scola B., Colson P. MG-Digger: An Automated Pipeline to Search for Giant Virus-Related Sequences in Metagenomes. *Front. Microbiol.* 2016; 7(428): 1—11.
- Balczun C., Scheid P.L. Free-Living Amoebae as Hosts for and Vectors of Intracellular Microorganisms with Public Health Significance. *Viruses.* 2017; 9(4): 1—18.
- Berger P., Papazian L., Drancourt M., La Scola B., Auffray J.P., Raoult D. Ameba-associated microorganisms and diagnosis of nosocomial pneumonia. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(2): 248—55.
- L'vov D.K. Mimivirus respiratory infection. In: L'vov D.K., ed. *A Guide to Virology. Viruses and Viral Infections [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii]*. Moscow: MIA; 2013: 598—9. (in Russian)
- La Scola B., Marrie T.J., Auffray J.P., Raoult D. Mimivirus in pneumonia patients. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(3): 449—52.
- Raoult D., La Scola B., Birtles R. The discovery and characterization of Mimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45(1): 95—102.
- Raoult D., Renesto P., Brouqui P. Laboratory infection of a technician by mimivirus. *Ann. Intern. Med.* 2006; 144(9): 702—3.
- Dare R.K., Chittaganpitch M., Erdman D.D. Screening pneumonia patients for mimivirus. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(3): 465—7.
- Monier A., Claverie J.M., Ogata H. Taxonomic distribution of large DNA viruses in the sea. *Genome Biol.* 2008; 9(7): R106.
- Pelletier N., Raoult D., La Scola B. Specific recognition of the major capsid protein of Acanthamoeba polyphaga mimivirus by sera of patients infected by Francisella tularensis. *FEMS Microbiol. Lett.* 2009; 297(1): 117—23.
- Parola P., Renouise A., Botelho-Nevers E., La Scola B., Desnues C., Raoult D. Acanthamoeba polyphaga mimivirus virophage seroconversion in travelers returning from Laos. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(9): 1500—2.
- Dornas F.P., Khalil J.Y.B., Pagnier I., Didier R., Abrahao J., La Scola B. Isolation of new Brazilian giant viruses from environmental

- samples using a panel of protozoa. *Front. Microbiol.* 2015; 6(1086): 1—9.
24. Klose T., Kuznetsov Y.G., Xiao C., Sun S., McPherson A., Rossmann M.G. The three-dimensional structure of Mimivirus. *Intervirology.* 2010; 53(5): 268—73.
  25. Sinclair R.M., Ravanti J.J., Bamford D.H. Nucleic and Amino Acid Sequences Support Structure-Based Viral Classification. *J. Virol.* 2017; 91(8): 1—13.
  26. Arslan D., Legendre M., Seltzer V., Abergel C., Claverie J.M. Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(42): 17486—91.
  27. Yoosuf N., Yutin N., Colson P., Shabalina S.A., Pagnier I., Robert C. et al. Related giant viruses in distant locations and different habitats: Acanthamoeba polyphaga moutoumavirus represents a third lineage of the Mimiviridae that is close to the megavirus lineage. *Genome Biol. Evol.* 2012; 4(12): 1324—30.
  28. Legendre M., Bartoli J., Shmakova L., Jeudy S., Labadie K., Adrait A. et al. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(11): 4274—9.
  29. Antwerpen M.H., Georgi E., Zoeller L., Woelfel R., Stoecker K., Scheid P. Whole-Genome Sequencing of a Pandoravirus Isolated from Keratitis-Inducing *Acanthamoeba*. *Genome Announc.* 2015; 3(2): 1—2.
  30. Claverie J.M., Abergel C. From extraordinary endocytobionts to pandoraviruses. Comment on Scheid et al.: Some secrets are revealed: parasitic keratitis amoebae as vectors of the scarcely described pandoraviruses to humans. *Parasitol. Res.* 2015; 114(4): 1625—7.
  31. Abergel C., Claverie J.M. Pithovirus sibericum: réveil d'un virus géant de plus de 30 000 ans. *Médecine/sciences.* 2014; 30(3): 329—31.
  32. Levasseur A., Andreani J., Delerce J., Bou Khalil J., Robert C., La Scola B. et al. Comparison of a Modern and Fossil Pithovirus Reveals Its Genetic Conservation and Evolution. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(8): 2333—9.
  33. Andreani J., Aherfi S., Bou Khalil J.Y., Di Pinto F., Bitam I., Raoult D. et al. Cedratvirus, a Double-Cork Structured Giant Virus, is a Distant Relative of Pithoviruses. *Viruses.* 2016; 8(300): 1—11.
  34. Bekliz M., Verneau J., Benamar S., Raoult D., La Scola B., Colson P.A. New Zamilon-like Virophage Partial Genome Assembled from a Bioreactor Metagenome. *Front. Microbiol.* 2015; 6(1308): 1—12.
  35. Chelikani V., Ranjan T., Zade A., Shukla A., Kondabagil K. Genome segregation and packaging machinery in *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus is reminiscent of bacterial apparatus. *J. Virol.* 2014; 88(11): 6069—75.
  36. Maumus F., Epert A., Nogué F., Blanc G. Plant genomes enclose footprints of past infections by giant virus relatives. *Nat. Commun.* 2014; 5(4268): 1—10.
  37. Suárez C., Welsch S., Chlanda P., Hagen W., Hoppe S., Kolovou A. et al. Open membranes are the precursors for assembly of large DNA viruses. *Cell. Microbiol.* 2013; 15(11): 1883—95.
  38. Maumus F., Blanc G. Study of Gene Trafficking between *Acanthamoeba* and Giant Viruses Suggests an Undiscovered Family of Amoeba-Infecting Viruses. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(11): 3351—63.
  39. Sharma V., Colson P., Chabrol O., Scheid P., Pontarotti P., Raoult D. Welcome to pandoraviruses at the 'Fourth TRUC' club. *Front. Microbiol.* 2015; 6(423): 1—11.
  40. Sun C., Feschotte C., Wu Z., Mueller R.L. DNA transposons have colonized the genome of the giant virus Pandoravirussalinus. *BMC Biol.* 2015; 13(38): 1—12.
  41. Claverie J.M., Abergel C. Giant viruses: The difficult breaking of multiple epistemological barriers. *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 2016; 59: 89—99.

Поступила 10.10.17

Принята в печать 17.10.17

© ЕРШОВ Ф.И., НАРОВЛЯНСКИЙ А.Н., 2018  
УДК 578.245.2/4

Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н.

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНОВ: К 60-ЛЕТИЮ ОТКРЫТИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Обзор содержит краткий анализ 60-летней истории открытия, изучения и медицинского применения интерферонов — новой группы замечательных белков, нашедших широкое применение в терапии вирусологических, онкологических, неврологических, офтальмологических и иных форм патологии. Приводятся современные данные о классификации интерферонов и механизмах их действия. Особое внимание уделено клиническому применению лекарственных препаратов интерферона и его индукторов.

Ключевые слова: обзор; вирусы; иммунитет; интерфероны; индукторы интерферонов; терапия инфекционных заболеваний.

Для цитирования: Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Теоретические и прикладные аспекты системы интерферонов: к 60-летию открытия интерферонов. *Вопросы вирусологии.* 2018; 63(1): 10-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18>

Ershov F.I., Narovlyansky A.N.

### THEORETICAL AND APPLIED ASPECTS OF THE INTERFERON SYSTEM: TO THE 60TH ANNIVERSARY OF THE DISCOVERY OF INTERFERONS

National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation

Для корреспонденции: Ершов Феликс Иванович, академик РАН, д-р мед. наук, проф., зав. отделом интерферонов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва. E-mail: felixershov@gmail.com

The review contains a brief analysis of the 60-year history of the discovery, study and medical application of interferons, a new group of remarkable proteins that have found wide medical application in the therapy of virological, oncological, neurological, ophthalmic and other pathologies. Modern data on the classification of interferons and the mechanisms of their action are given. Particular attention is paid to the clinical use of medications of interferon and its inducers.

**Key words:** review; viruses; immunity; interferons; interferon inducers; therapy of infectious diseases.

**For citation:** Ershov F.I., Narovlyansky A.N. Theoretical and applied aspects of the interferon system: to the 60th anniversary of the discovery of interferons. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(1): 10-18. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18>

**For correspondence:** Felix I. Ershov, Academician of the Russian Academy of Sciences, M.D., Chief of Interferon Department, N. F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, 123098. Russian Federation. E-mail: [felixershov@gmail.com](mailto:felixershov@gmail.com)

**Information about authors:**

Narovlyansky A.N., <http://orcid.org/0000-0003-0601-7148>

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

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

Received 12 June 2017  
Accepted 22 June 2017

## Введение

Открытие интерферонов стало одним из великих событий в вирусологии XX века, которое, как оказалось в дальнейшем, далеко вышло за рамки собственно вирусологии.

В 20-е годы прошлого столетия был обнаружен необычный феномен — невосприимчивость животных к вирусам, если ранее они были инфицированы вирусами другого типа. Механизмы этого явления в то время были совершенно непонятны. Однако возможность использования такого феномена в противовес вакцинации для защиты от особо опасных вирусов интриговала многих исследователей. Справедливости ради стоит отметить, что ингибирование одной вирусной инфекцией инфекционности других вирусов впервые наблюдал Эдвард Дженнер в 1804 г. [1], который сообщил, что герпетическая инфекция может предотвращать развитие повреждений, вызываемых коревой оспой. Это наблюдение, по-видимому, было первым документальным описанием явления, впоследствии получившего название «вирусная интерференция». Для вирусов растений это явление было подробно описано R.N. Salaman в 1933 г. [2], для бактериофагов это сделал P.B. White в 1937 г. [3] и для животных вирусов — M. Hoskins в 1935 г. [4]. В 1950 г. A. Isaacs и M. Edney [5] обнаружили интерференцию между инактивированным и активным вирусами гриппа в экспериментах с куриными эмбрионами. В 1954 г. Y. Nagano и Y. Kojima [6] сообщили об ингибции вирусного размножения в коже кроликов, которым ранее вводили УФ-инактивированный вирус коревой оспы. Только в 1957 г. в Великобритании все тот же A. Isaacs и его стажер (аспирант) J. Lindenmann [7] открыли механизм вирусной интерференции: была доказана связь этого феномена с уникальным антивирусным белком «интерфероном» (ИФН). Открытие ИФН было настолько эпохальным событием, что вот уже более 60 лет возбуждает неугасающий интерес исследователей всего мира. Путь от простого феноменологического наблюдения до всестороннего изучения явления и создания лекарственных препаратов был пройден в рекордно короткий срок и уже через 10 лет первый препарат человеческого лейкоцитарного интерферона был выпущен в Институте Гамалеи (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН СССР) и применялся для профилактики острых респираторных вирусных инфекций. Интерфероны стали широко исследоваться и применяться при вирусных инфекциях, для лечения злокачественных опухо-

лей, а также при гематологических, офтальмологических, неврологических, дерматологических заболеваниях.

Как оказалось, система ИФН не имеет ни специализированных клеток, ни тем более органов, она существует в каждой клетке, так как каждая клетка может быть заражена вирусом и должна иметь систему распознавания и элиминации чужеродной генетической информации. За время после открытия ИФН получены данные о строении и свойствах его молекулы, показана его биологическая активность, выявлены и изучены основные элементы системы ИФН, секвенирована нуклеотидная и аминокислотная последовательности генов и белков ИФН различных типов и субтипов. Последнее десятилетие ознаменовалось новыми успехами: расшифрованы основные молекулярные механизмы индукции, продукции и действия различных типов ИФН, обнаружены целые семейства патогенраспознающих рецепторов, которые триггируют запуск интерферонного ответа, установлены пути, по которым передается интерфероновый сигнал, его взаимосвязь с не-ИФН-механизмами иммунного ответа. За эти годы было доказано, что синтез и функционирование ИФН является важным механизмом врождённого и приобретённого иммунитета. ИФН участвует в провоспалительном и противовоспалительном каскаде цитокинов и выполняет важную роль в иммунологическом надзоре за злокачественными клетками.

На основании полученных данных нами было предложено следующее определение: «*Интерфероны относятся к цитокинам (медиаторам иммунитета) и представлены семейством белков, обладающих антивирусной, иммуномодулирующей, противоопухолевой и другими видами активности, и относятся к важнейшим факторам врождённого иммунитета, полифункциональным биорегуляторам широкого спектра действия и гомеостатическим агентам*» [8].

Эволюционно система ИФН появилась у позвоночных более 500 млн лет назад. Согласно гипотезе Ф.И. Эршова и В.М. Жданова, высказанной около 30 лет назад [9], «образование ИФН является первым ответом на проникновение чужеродных нуклеиновых кислот. При этом основной функцией ИФН является распознавание, деградация и элиминация чужеродной информации, в первую очередь вирусной». Проведённые в последующие годы исследования полностью подтвердили правильность предложенной гипотезы.

Историю исследования ИФН можно условно подраз-



делить на три 20-летних периода. В первом «феноменологическом» периоде была установлена универсальность биологической продукции и действия ИФН как антивирусного белка. Прикладным результатом этого периода явилось создание лекарственных препаратов лейкоцитарного человеческого ИФН и доказательство их эффективности. Однако сравнительно незначительное количество получаемого ИФН из лейкоцитов человеческой крови и дороговизна исходного сырья долго ограничивали возможности интерферонотерапии.

Революционным событием второго, или «биотехнологического», периода стало создание целого семейства рекомбинантных ИФН, что сделало возможным нарабатывать субстанции генно-инженерных ИФН в неограниченном количестве и тем самым решить проблему источников сырья для биологических макромолекул — кандидатов на лекарство. Таким образом, ИФН стали первыми рекомбинантными молекулами будущего нового поколения лекарственных биопрепаратов. Большие надежды в это время возлагали на использование ИФН в онкологии, что способствовало так называемому интерфероновому буму. Объем информации об ИФН возрастал в геометрической прогрессии и на пике ежемесячно публиковалось около 2000 научных статей. Именно это событие стимулировало ряд крупных фармацевтических фирм к разработке медицинских препаратов ИФН.

Третий, или «иммунологический», период совпал с началом XXI века, и ИФН занял достойное место среди иммунорегуляторных биомолекул, обладающих широким спектром биологической активности, а лекарственные препараты ИФН нашли применение в лечении вирусных и невирусных заболеваний.

Ниже кратко приводятся данные о современном состоянии проблемы.

### Классификация

Семейство ИФН человека состоит из трёх основных классов — ИФН I, II и III типов [10—12]. ИФН I типа включают ИФН- $\alpha$ , которые подразделяются на 13 различных субтипов. Эти белки имеют молекулярную массу 19—26 кДа и состоят из 156—166 или 172 аминокислот. Все субтипы ИФН- $\alpha$  обладают общими консервативными последовательностями между позициями аминокислот 115—161, в то же время аминотерминальные концы вариативны. Многие субтипы ИФН- $\alpha$  отличаются друг от друга только одной или двумя позициями аминокислот. К I типу ИФН относится также ИФН- $\beta$ , который представляет собой гликопротеин (20 кДа), состоит из 166 аминокислот и представлен единичным геном. Кроме того, к I типу семейства ИФН человека также принадлежат ИФН- $\epsilon$ , ИФН- $\kappa$  и ИФН- $\omega$ , при этом имеются данные, что некоторые ИФН, описанные у животных, имеют человеческие аналоги [13, 14]. Недавно обнаружено, что ИФН- $\epsilon$  в отличие от других ИФН конститутивно экспрессируется в легких, мозге, тонкой кишке и тканях репродуктивного тракта [15, 16].

Гены, кодирующие ИФН I типа, локализируются на 9-й хромосоме человека. Для всех ИФН этого типа на поверхности клеток существует общий рецептор (IFNAR). В отличие от множества вариантов ИФН I типа известен только один ИФН II типа — ИФН- $\gamma$ . Ген ИФН- $\gamma$  локализуется у человека на 12-й хромосоме. ИФН- $\gamma$  не имеет заметной структурной гомологии с ИФН I типа и связывается с другими клеточными поверхностными рецепторами, которые известны как рецепторы для ИФН II типа (IFNGR) [13—16].

В начале XXI века был обнаружен новый класс ИФН — ИФН- $\lambda$ , который представлен ИФН- $\lambda$ 1, ИФН- $\lambda$ 2 и ИФН- $\lambda$ 3. Эти ИФН были описаны ранее как цитокины ИЛ-29, ИЛ-28А и ИЛ-28В соответственно. Они имеют антивирусные свойства, но отличаются от ИФН I и II типов и связываются с другими клеточными рецепторами. Совсем недавно была открыта еще одна форма — ИФН- $\lambda$ 4. Этот ИФН экспрессируется в малых дозах, и его экспрессия происходит в результате сдвига рамки считывания в гене ИФН- $\lambda$ 3. Молекулы ИФН- $\lambda$  в настоящее время классифицированы и обозначаются как ИФН III типа [17, 18].

По сравнению с одним или несколькими генными локусами ИФН II или III типов, которые занимают 5—50 kb на хромосоме, генный кластер ИФН I типа может включать до 50 безинтронных генов для ИФН каждого вида и занимать 0,4—1 Mb на одной или двух хромосомах. Именно «безинтронность» генов ИФН I типа определяет высокую скорость включения механизмов врожденного иммунитета.

### Функционирование системы ИФН

Система ИФН относится к числу быстрореагирующих и включается на общий сигнал клеточного стресса, в том числе на повреждение ДНК, и запускает различные молекулярные пути для восстановления клеточного гомеостаза. ИФН играют важную роль в механизмах естественного иммунного ответа. Вирусологи и иммунологи [12, 19, 20] выделяют 4 основных звена функционирования системы ИФН.

- **Индукция, или включение, системы**, приводящей к депрессии генов ИФН, транскрипции их информационных РНК с их последующей трансляцией. Индукция — достаточно быстрый этап взаимодействия внешних сигналов с клеткой. Сигнальная система передачи организована таким образом, что уже в течение 30—40 мин регистрируются признаки ответа клеточного генома.

- **Продукция** — синтез клетками ИФН альфа-, бета-, гамма- и лямбда-типов и секреция их в окружающую среду. Продукция ИФН наблюдается сразу после завершения стадии индукции. Уже через 2—3 ч в периферической крови наблюдается накопление функционально активных ИФН. Через 6—8 ч концентрация ИФН в периферической крови достигает максимума.

- **Действие** — защита окружающих клеток от чужеродной информации (вирусы, бактерии и т. д.) вновь образованными ИФН.

- **Эффекты** — антивирусные, иммуномодулирующие, антитуморогенные, радиопротективные.

За прошедшее время установлено более 300 эффектов ИФН. Эти эффекты имеют громадное значение и обосновывают клиническую значимость ИФН [7, 15, 21—23]. К основным биологическим эффектам ИФН относятся:

- подавление размножения внутриклеточных инфекционных агентов вирусной и невирусной природы (хламидии, риккетсии, бактерии, простейшие);
- антипролиферативная активность;
- антитуморогенный эффект;
- антимутогенный эффект;
- антиоксическое действие;
- радиопротективный эффект;
- регуляция продукции антител;
- стимуляция макрофагов, усиление фагоцитоза;
- усиление цитотоксического действия сенсibilизированных лимфоцитов, направленного на клетки-мишени;



- активация естественных киллерных клеток;
- стимуляция высвобождения гистамина базофилами;
- индукция синтеза простагландинов;
- стимуляция формирования антигенов главного комплекса гистосовместимости;
- стимуляция или ингибирование активности ряда клеточных ферментов;
- повышение цитотоксической активности двухнитевых РНК;
- подавление гиперчувствительности замедленного типа;
- многочисленные изменения клеточных мембран;
- стимуляция выработки факторов и молекул адгезии;
- индукция процессов дифференцировки и пролиферации лимфоцитов и макрофагов.

К настоящему времени установлена основная сигнальная схема передачи информации от ИФН-рецепторов до генома клетки, где и происходит активация генов, экспрессия которых обеспечивает противовирусный и противобактериальный эффект [15, 16, 24—26].

ИФН действует на клеточный геном через мембранные рецепторы, т. е. дистанционно через каскад вторичных мессенджеров. Образующийся в инфицированных клетках ИФН уже не может защитить их от гибели, но предохраняет окружающие здоровые клетки от вирусной инфекции.

### Механизмы действия ИФН

Несмотря на разнообразие генетического материала вирусов, *универсальной мишенью для ИФН в цикле репродукции вирусов является остановка трансляции вирусных РНК на рибосомах инфицированных клеток* [8, 26—29]. Для генерирования ответов на ИФН требуется координация и кооперация множества различных сигнальных каскадов. Доказано, что, прикрепляясь к клеточным рецепторам, ИФН индуцируют синтез вторичных мессенджеров, которые в свою очередь могут подавлять практически любой этап размножения вирусов (транскрипцию — трансляцию — сборку — выход вирионов потомства). ИФН I типа в качестве лиганда связывается с гетеродимерным трансмембранным рецептором клеточной поверхности, состоящим из субъединиц IFNAR1 и IFNAR2. Рецепторы ИФН I типа конститутивно экспрессируются во всех клетках, в то время как синтез различных ИФН I типа значительно различается во всех клеточных типах. ИФН II типа представлен единственным членом, ИФН- $\gamma$ , который первично продуцируется антигенактивированными Т- и НК-клетками; макрофаги секретируют этот цитокин только в определённых ситуациях. Рецептор для ИФН- $\gamma$  образуется из двух полипептидов IFNGR1 и IFNGR2, которые экспрессируются во всех клеточных типах. ИФН III типа экспрессируются только в определённых эпителиальных клетках и связывают различные рецепторы, образованные из субъединиц IFNLR1 и IL-10R2 [13, 14].

Несмотря на различия в рецепторах, ИФН I и III типов индуцируют сходные целевые гены. В отличие от них ИФН II типа индуцирует свой набор целевых генов. Связанные с лигандом ИФН-рецепторы активируют генную экспрессию через Янус-тирозинкиназу (JAK) пути сигнального трансдуктора и активатора транскрипции (STAT). Рецепторам для ИФН I и III типов для передачи сигнала в человеческих клетках необходимы TYK2 и JAK1. IFNGR для сигнальной трансдукции требуются JAK1 и JAK2. Фосфорилированные STAT дис-

социируют от рецепторов, формируют димеры и входят в ядро. Комплекс STAT1—STAT2—IRF9, известный как ISGF3, связывается с ИФН-стимулированным элементом (ISRE), представленным в промоторных регионах многих генов. Гомодимеры STAT1 связываются с гамма-ИФН-активированным сайтом (GAS), представленным в промоторных регионах некоторых генов. Активация STAT в ответ на ИФН заканчивается при индукции JAK ингибирующих белков, белков-супрессоров цитокинового сигнала (SOCS), гены которых индуцируются STAT [10, 12, 15, 16, 18, 22, 25, 27].

ИФН I, II, и III типов обеспечивают быструю защиту в ранних стадиях вирусных, бактериальных или патогенных инфекций. Именно в фазе амплификации ИФН- $\alpha/\beta$  индуцирует большинство ИФН-стимулированных генов (ISG), экспрессия которых ограничивает репликацию и распространение вирусов. ИФН аутокринно и паракринно стимулируют сотни генов, вовлекаемых в антивирусную защиту различных типов клеток, а также влияют на различные процессы жизнедеятельности клеток, включая клеточную миграцию, метаболическое репрограммирование, восстановление тканей, и регуляцию адаптивного иммунитета. Эти гены координированно и одновременно регулируются через дифференциальную экспрессию и посттрансляционную модификацию относительно небольшого числа транскрипционных факторов, которые действуют вместе с транскрипционными корегуляторами и хроматинмодифицирующими комплексами внутри стимулированных клеток [12, 15, 16].

Один из основных хорошо описанных путей действия ИФН связан с запуском синтеза протеинкиназы R (PKR), что приводит к фосфорилированию нескольких иницирующих факторов трансляции (eIF-2) и запрету на образование иницирующего комплекса. Параллельно происходит индукция 2'-5'-олигоденилатсинтетазы (OAS), синтезируются 2'-5'-олигоденилаты, активируются латентные эндонуклеазы, которые дезинтегрируют свободные вирусные иРНК. В результате не связанные с рибосомами вирусные РНК разрушаются нуклеазами. Блокирование стадии инициации трансляции и разрушение иРНК вируса определяют универсальный механизм действия ИФН при вирусных инфекциях [21, 22, 25, 26].

Таким образом, ИФН представляют важные факторы естественного (врождённого) иммунитета и осуществляют распознавание и элиминацию носителей чужеродной генетической информации [8, 11, 12, 26, 28, 29]. Платой за это распознавание служит приостановка общей трансляции в клетке, которой объясняется антипролиферативный эффект ИФН.

### Препараты ИФН

На современном фармацевтическом рынке имеются десятки созданных к настоящему времени препаратов *экзогенных ИФН* (табл. 1). В клинической практике используются 3 основных ИФН человека: I типа — ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\beta$ , II типа — ИФН- $\gamma$  [8, 28, 29].

*Альфафероны (ИФН- $\alpha$ )*. До настоящего времени в практике используются только ИФН- $\alpha$ 2. Другие 12 субтипов ИФН- $\alpha$  до сих пор как лекарственные препараты не разработаны. Применяемые в лечебной практике ИФН- $\alpha$  отличаются большим многообразием лекарственных форм (препараты для местного или парентерального применения, свечи, мази, линименты и другие), а также показаниями к клиническому применению,

Таблица 1

## Основные медицинские препараты ИФН

Типы ИФН	Препараты
Природные ИФН (1-е поколение)	
Альфа	Альфаинтерферон®, Вэллферон®, Интерферон лейкоцитарный, Сверофор®, Эгиферон®
Бета	Ферон®, Фрон®
Рекомбинантные ИФН (2-е поколение)	
Альфа	Альфарона®, Берофор®, Виферон®, Генферон®, Гриппферон®, Интераль®, Интерген®, Интрон А®, Кипферон®, Липинт®, Липоферон®, Реаферон®, Реальдирон®, Реколин®, Роферон А®,
ПЭГ-интерфероны*	
Бета	Авонекс®, Бетаферон®, Генфаксон®, Ребиф®, Рометал®, Ронбетал®
Гамма	Ингарон®, Имукин®

Примечание. \* — ПЭГ-интерфероны — рекомбинантные препараты ИФН- $\alpha$ , модифицированные полиэтиленгликолем, что повышает длительность циркуляции ИФН в периферической крови.

дозами и схемами использования. ИФН- $\alpha$  — наиболее изученный и широко применяемый в клинике цитокин. Лекарственные препараты на основе ИФН- $\alpha 2$  с выраженным противовирусным, иммуномодулирующим и противоопухолевым действием используются для лечения ряда вирусных инфекций, особенно у иммунокомпрометированных больных, и при злокачественных новообразованиях.

**Бетафероны (ИФН- $\beta$ ).** Препараты на основе ИФН- $\beta$  успешно применяются при лечении рассеянного склероза, а также онкологических заболеваний (меланомы и глиомы).

**Гамма-интерфероны.** Создание препаратов ИФН- $\gamma$  (Имукин®, Актиммун®) позволило начать лечение больных с такими редкими наследственными болезнями, как злокачественный остеопетроз и хронический гранулематоз. Однако ИФН II типа является одним из важнейших регуляторных факторов клеточного иммунитета. С появлением нового российского лекарственного препарата ИФН- $\gamma$  — Ингарона® стало возможным также повысить эффективность интерферонотерапии, особенно в отношении вирусных инфекций, для профилактики и лечения которых давно применяются ИФН I типа (см. табл. 1).

Кроме препаратов ИФН с одной действующей молекулой (моновалентные), в последнее время получили распространение комбинированные препараты, которые помимо ИФН содержат дополнительные компоненты для повышения биодоступности, эффективности и пролонгации действия [8, 12, 19, 20, 30]. Например, лекарственный препарат *Виферон*® в качестве активных фармацевтических ингредиентов содержит человеческий рекомбинантный ИФН- $\alpha 2b$ , аскорбиновую кислоту и альфа-токоферола ацетат. Применяется ректально в виде суппозитория при ОРВИ, инфекционно-воспалительных заболеваниях, хронических вирусных гепатитах В, С, D, а также при первичной и рецидивирующей герпетической инфекции. Лекарственный препарат *Гиаферон* вместе с человеческим рекомбинантным ИФН- $\alpha 2b$  содержит биополимер — гиалуронат натрия в терапевти-

ческой дозировке. Применяется ректально в виде свечей для лечения пациентов с генитальной и орофациальной формой герпетической инфекции. Еще один комбинированный препарат на основе ИФН - *Гриппферон*® с лоратином содержит ИФН- $\alpha 2b$  и лоратидин и оказывает иммуномодулирующее, противовирусное и антигистаминное действие. Применяется интраназально для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ. Таким образом, на основе ИФН- $\alpha 2b$  был создан целый ряд комбинированных препаратов: *Аллергоферон*® (с лоратином), *Аллергоферон-бета*® (с бетаметазоном), *Офтальмоферон*® (с дифенилгидрамино), *Герпферон*® (с ацикловиром и лидокаином), *Вагиферон*® (с метронидазолом и флуконазолом), *Генферон*® (с бензокаином и таурином) и *Генферон*®-лайт (с таурином) и др.

Однако для адекватного применения и контроля эффективности этой группы препаратов необходимо контролировать состояние системы ИФН. Поэтому еще в 1986 г. [31] был разработан и предложен комплекс методов для оценки системы ИФН, который в скором времени был назван «интерфероновый статус». Определения проводили в цельной крови *in situ* микрометодом и выявляли суммарное содержание ИФН в сыворотке или плазме крови, а также активность ИФН I и II типов, продуцируемых клетками крови под воздействием соответствующего индуктора [32]. На основании полученных данных сделано заключение о необходимости адекватной коррекции в случае обнаружения у больного сниженных показателей ИФН-продуцирующей способности клеток крови, что свидетельствовало о врожденном или приобретенном ИФН-дефиците. Такое состояние часто возникало при острых и рецидивирующих вирусных инфекциях [28]. Позднее в понятие ИФН-статуса вошло определение показателей не только интерфероногенеза, но и клеточной ИФН-чувствительности или резистентности [33—35], что позволило охарактеризовать эффекторную сторону системы ИФН [36—38] и в последующем разработать различные способы определения индивидуальной чувствительности клеток организма человека к лекарственным препаратам (ИФН, цитокины, индукторы ИФН, иммуномодуляторы и другие) [32, 35—40]. Таким образом, ИФН-статус используется как интегральный показатель функционального состояния системы ИФН и эффективности проводимого лечения. В настоящее время исследование ИФН-статуса широко проводится в практике лабораторной диагностики для определения нарушений интерфероногенеза, ассоциированных не только с вирусными, но и с аллергическими, аутоиммунными, онкологическими и другими иммуноопосредованными заболеваниями, а также используется практическими врачами для индивидуализации лечения и коррекции нарушений интерфероногенеза.

### Клиническое использование ИФН

На рисунке представлена классическая схема основных этапов развития интерфероновой и иммунной ответа при остром вирусном инфицировании.

Как видно из рисунка, ИФН занимают ключевое место в формировании двух основных уровней защиты от вирусных инфекций. Первый уровень обеспечивают ИФН I типа (альфа и бета), второй — ИФН II типа (гамма) и NK-клетки. Стимуляция ИФН-гамма и T-клеточного иммунитета происходит в более поздних стадиях развития инфекции. При легком течении заболевания первого уровня защиты достаточно для подавления инфекцион-

Эффективность клинического использования препаратов ИФН при вирусных инфекциях

Нозологическая форма	Эффективность использования
Грипп и другие ОРВИ	Для экстренной профилактики ОРВИ, особенно в группах риска (дети, лица пожилого возраста), при респираторно-синцитиальных инфекциях у детей раннего возраста с лечебной целью
Герпес генитальный, опоясывающий лишай	Заметное сокращение сроков рецидива, уменьшение болей, увеличение межрецидивных периодов. У больных, получающих иммунодепрессанты, на фоне интерферонотерапии опоясывающий лишай наблюдается в 3 раза реже
Кератиты и кератоконъюнктивиты (герпетические и аденовирусные)	Местное назначение препаратов ИФН снижает тяжесть и сокращает длительность заболевания
Цитомегаловирусная инфекция при СПИДе и после трансплантации почек и костного мозга	Для профилактики цитомегаловирусных пневмоний и гепатитов
Вирусные гепатиты (острые и хронические формы гепатитов В, С)	Выраженный клинический эффект. В тяжелых случаях — уменьшение интенсивности и продолжительности интоксикации. Снижение частоты летальных исходов до 60%, исчезновение маркеров вирусной репликации HBs- и HBe-антигенов, специфической ДНК-полимеразы и др., нормализация показателей активности сывороточных трансаминаз
ВИЧ-инфекция	Нормализация иммунологических параметров, снижение остроты течения инфекции более чем в 50% случаев, исчезновение сывороточных маркеров заболевания. Эффект в отношении саркомы Капоши, ассоциированной со СПИДом, достигает 32—50%. Показана комбинированная терапия с анти-ВИЧ-препаратами

ного процесса. При тяжёлых формах инфекций «прорыв» в первом уровне защиты организма компенсируется активацией второго уровня защиты.

Спектр заболеваний, чувствительных к ИФН, чрезвычайно широк. Условно его можно разделить на 3 большие группы: вирусные инфекции, онкологические заболевания и другие виды патологии. В табл. 2 рассматривается эффективность препаратов ИФН при наиболее распространённых и социально значимых вирусных инфекциях [8, 12, 20].

Как следует из табл. 2, препараты ИФН используются при наиболее распространённых острых и хронических вирусных инфекциях; гриппе и других ОРВИ, различных герпетических заболеваниях (кератиты и кератоконъюнк-

тивиты, опоясывающий лишай, цитомегаловирусная инфекция и другие); вирусных гепатитах и ВИЧ-инфекции.

Показана эффективность ИФН при папилломавирусных инфекциях (остроконечные кондиломы, ювенильный папилломатоз гортани, бородавки и другие) и бешенстве. Получены положительные результаты применения ИФН при вирусных осложнениях после пересадки органов, гнойно-септических заболеваниях новорождённых, постнатально приобретённой цитомегаловирусной инфекции, эпидемическом паротите, рассеянном склерозе и различных бактериальных заболеваниях [23, 27, 41, 42].

Помимо описанных выше показаний препараты ИФН-α оказались перспективными для профилактики и лечения ряда детских инфекций. Клиническая эффективность выражается в уменьшении или прекращении инфекционного токсикоза, увеличении массы тела, уменьшении лейкоцитоза и нейтрофилеза, купировании acidотического синдрома.

В.В. Малиновской и соавт. [8, 20] проведено изучение состояния системы ИФН у детей до 1 года жизни, что позволило объяснить причину повышенной чувствительности детей к большинству заболеваний вирусной и бактериальной природы. Сравнительное определение ИФН-статуса у взрослых и детей продемонстрировало существенно меньшую способность лейкоцитов и лимфоцитов детей к продукции ИФН-α и ИФН-γ. При этом чем меньше гестационный возраст новорожденного, тем в большей степени снижены эти показатели. Полученные результаты позволили сделать вывод о незрелости и несовершенстве систем иммунитета и ИФН в ранний период жизни и о необходимости их возрастной регуляции. Это обстоятельство делает препараты Виферона® значимой составляющей комплексной терапии ряда детских инфекций. Кроме гриппа, препараты Виферона® рекомендуются использовать для экстренной профилактики рино-, корона-, аденовирусных инфекций, кори, паротита и других заболеваний. У больных детей, получавших ИФН, отмечено сокращение длительности лихорадочного периода, а также синдромов ларингита, трахеита, бронхита по сравнению с больными, получавшими обычную терапию.

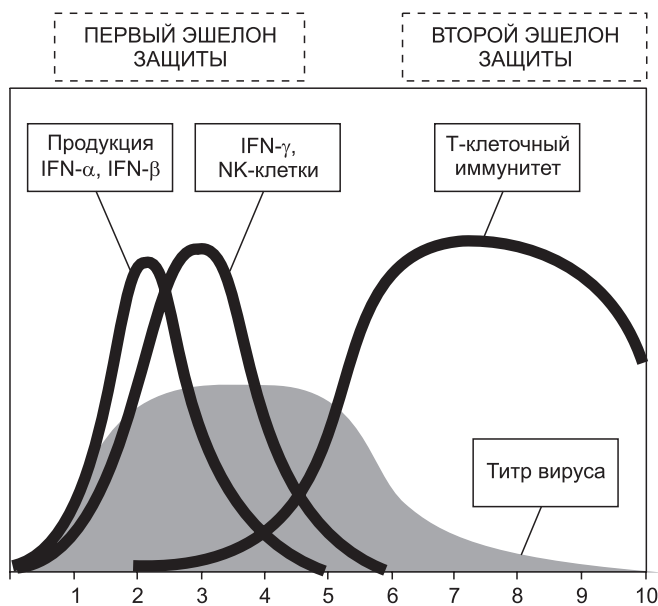


Схема основных этапов развития интерферонного и иммунного ответа при остром вирусном инфицировании.

По оси абсцисс — дни после инфекции, по оси ординат — уровень интерферонного и иммунного ответа.



Таблица 3

## Классификация ИИ

Химическая природа	Лекарственные препараты
А. Синтетические соединения	
Низкомолекулярные:	
флуореноны, акриданоны	Амиксин®, Циклоферон®, Неовир®
Полимеры — дсРНК:	
поли(И), поли(С), поли(А), поли(У)	Полудан®
Б. Природные соединения	
Полифенолы	Мегосин®, Кагоцел®, Гозалидон®
Полимеры — природные дсРНК	Ларифан®, Ридостин®

В качестве средств неспецифической профилактики и лечебных средств в первые часы заболевания клинический эффект дали другие препараты ИФН (реаферон, реальдирон, роферон А, интрон А, вэллферон, человеческий лейкоцитарный ИФН). Препараты применяются интраназально, внутримышечно, а также в виде аэрозолей.

В целом положительный опыт использования ИФН с конца 60-х годов прошлого века открыл дорогу новому поколению цитокиновых препаратов и позволил оценить их эффективность. Однако по мере увеличения спектра заболеваний, при которых использовались ИФН, разработок новых высокодозовых многомесячных схем стали накапливаться сведения о недостатках и побочных эффектах применения препаратов ИФН (хронические вирусные гепатиты В и С, онкологические и неврологические заболевания). Такие высокодозовые схемы приводили к гриппоподобному синдрому, снижению массы тела, выпадению волос, заболеваниям щитовидной железы, психическим расстройствам, раздражительности и депрессии, супрессии кроветворения, заболеваниям сердечно-сосудистой системы, отслоению сетчатки, импотенции, сахарному диабету и другим. Кроме того, фиксировалось появление антител к ИФН, что приводило к ограничению интерферонотерапии. К тому же высокодозовые схемы применения ИФН вызывали усиление эволюционного отбора вирусных вариантов, повышающего способность вирусов «обходить» эффекты ИФН [9].

## Индукторы ИФН

Грандиозным достижением отечественной интерферонологии стала разработка нового поколения интерфероноактивных препаратов — индукторов ИФН (ИИ). Эти препараты, действуя через патогенраспознающие рецепторы и интерферонрегулирующие факторы, активировали механизмы врожденного иммунитета через индукцию интерфероновых генов. Далее включался синтез собственного эндогенного ИФН и других цитокинов, что приводило к запуску ранних цитокиновых реакций (РЦР) [43], приводящих к формированию противовирусной резистентности и в последующем к включению механизмов адаптивного иммунитета.

Известно, что проникновение вирусов в организм не всегда приводит к развитию инфекции. Именно образование ИФН запрещает вирусную репродукцию. Иными

словами, сами вирусы являются первыми природными индукторами ИФН.

Разработка ИИ и применение их в клинической практике значительно расширило возможности интерферонотерапии и предоставило врачу более широкий выбор лекарственных препаратов для формирования противовирусного иммунитета.

Согласно классификации, предложенной Ф.И. Ершовым [8, 12, 19, 20] «ИИ представляют собой весьма «пёстрое» по составу семейство высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, имеющих высокий химиотерапевтический индекс и пригодных для профилактики и лечения вирусных инфекций и ряда других заболеваний» (табл. 3).

Для правильного использования ИИ врачу необходимо учитывать их бифункциональность, поскольку они одновременно дают антивирусный и иммуномодулирующий эффект. Являясь агонистами различных патогенраспознающих рецепторов, они могут иметь различия в скорости и типе индуцируемых ИФН в различных клетках-мишенях (иммуноциты, гепатоциты, фибробласты, нервные клетки, клетки соединительной ткани, эндотелиальные клетки и другие). Так, препараты Амиксин® и Циклоферон® из-за небольшой молекулярной массы оказались способными проходить через гематоэнцефалический барьер, поэтому их используют при вирусных энцефалитах и рассеянном склерозе. Для ИИ характерен достаточно длительный противовирусный эффект, низкая токсичность и высокая биодоступность. Показано, что ИИ можно успешно использовать при комплексной химиотерапии с препаратами различных групп, в том числе ИФН, иммуномодуляторами, антибиотиками и другими [8, 19, 20, 42, 44, 45]. Двадцатилетний клинический опыт использования ИИ доказывает их эффективность в профилактике и лечении различных вирусных заболеваний, а именно:

- гриппа и респираторных инфекций;
- герпетических поражений глаз, кожи, половых органов;
- вирусных гепатитов;
- кори, паротита, бешенства;
- вирусных энцефалитов, лихорадки денге;
- папилломатоза;
- саркомы Капоши у ВИЧ-инфицированных.

Как легко заметить, спектры противовирусной активности ИФН и ИИ практически совпадают, т. е. эти препараты могут быть взаимозаменяемыми.

В рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях среди ИИ выявлено 2 препарата — Циклоферон® и Кагоцел®, которые наиболее эффективны и клинически пригодны для профилактики и терапии гриппа и других ОРВИ, а также различных форм герпетических заболеваний.

## Заключение

На современном этапе установлена и доказана роль ИФН и их индукторов в профилактике и терапии значительного числа вирусных и других инфекций. Поскольку ИФН являются одновременно корректорами иммунитета, их используют также для лечения рецидивирующих вирусных заболеваний. Особенно важно подчеркнуть, что препараты ИФН и ИИ не вызывают формирования резистентности вирусов.

Следует учесть, что многие ИФН и ИИ являются взаимозаменяемыми и дают близкие, а иногда сходные



антивирусные эффекты. Это дает врачам возможность выбора того или иного препарата. Определяющими при этом являются такие факторы, как индивидуальная переносимость применяемых препаратов, степень чувствительности к ним вирусов, сроки начала терапии, острота заболевания, возраст пациента и состояние его врожденной резистентности (системы ИФН, комплемента, киллерных клеток, цитокинов,  $\beta$ -ингибиторов и т. д.) и приобретенного иммунитета (клеточные и гуморальные факторы).

В целом знание существующего арсенала препаратов ИФН и их индукторов значительно расширяют возможности профилактики и терапии вирусных инфекций.

В Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи еще в 1963 г. через 6 лет после открытия ИФН под руководством академика РАМН В.Д. Соловьёва начались исследования этих молекул, и впоследствии был организован Отдел интерферонов, который стал признанным центром изучения ИФН в нашей стране. Отдел с 1980 г. являлся национальным отделением Международного общества исследователей интерферонов и цитокинов (International Society for Interferon and Cytokine Research, сейчас — International Cytokine and Interferon Society). Все прошедшие годы основные исследования отдела были посвящены фундаментальным и прикладным (медицинским) аспектам проблемы ИФН. Сотрудниками отдела опубликованы десятки монографий, сотни статей и защищены диссертации, посвящённые различным аспектам учения об ИФН. Первые отечественные монографии, посвящённые ИФН и их индукторам, были опубликованы около 40 лет назад [30, 46].

В отделе созданы хорошо себя зарекомендовавшие лекарственные препараты ИФН (человеческий лейкоцитарный интерферон (ЧЛИ), Лейкинферон®, Виферон®) и практически все индукторы ИФН, которые успешно применяются в клинике.

В заключение следует подчеркнуть, что открытие ИФН стало одним из великих событий вирусологии XX века, которое, как оказалось в дальнейшем, далеко вышло за рамки собственно вирусологии. Анализ истории изучения ИФН позволяет буквально по годам проследить стремительный путь от первоначального простого экспериментального наблюдения к научному объяснению этого феномена и его последующему познанию. Причиной столь быстрого прогресса была острая потребность в эффективном препарате с широким спектром антивирусного этиотропного действия. Именно это обстоятельство стимулировало интенсивные научные разработки. Однако была и другая причина. Сам объект исследования — созданный природой универсальный механизм врожденного иммунитета — представлял постоянный интерес для теории. Это замечательное семейство белков давно превратилось в удобный междисциплинарный объект для широкого круга естественных наук — вирусологии, иммунологии, онкологии, молекулярной биологии и биотехнологии. К тому же для медицины в целом это важнейший механизм защиты клеток организма от проникновения и функционирования чужеродной информации, а также надзора за злокачественными клетками, клеточной дифференцировкой, аутоиммунитетом и поддержанием клеточного гомеостаза.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—7, 10, 13—18, 21—27, 35, 36 см. REFERENCES)

8. Ершов Ф.И., Киселёв О.И. *Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2005.
9. Ершов Ф.И., Жданов В.М. Интерферон и гомеостаз. *Вестник Академии медицинских наук СССР*. 1985; (7): 35—40.
11. Наровлянский А.Н. Классификация и механизмы действия интерферонов. В кн.: Ершов Ф.И., ред. *Юбилейный сборник «Интерферону — 50 лет»*. М.; 2007: 44—50.
12. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Интерфероны и индукторы интерферонов. В кн.: Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И., ред. *Иммунотерапия (Руководство для врачей)*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011: 80—98.
19. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., ред. *Интерферон-2011. Сборник научных статей*. М.; 2012.
20. Ершов Ф.И. *Антивирусные препараты*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006.
28. Ершов Ф.И. *Система интерферона в норме и при патологии*. М.: Медицина; 1996.
29. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Использование индукторов интерферона при вирусных инфекциях. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 5—10.
30. Баринский И.Ф., Алимбарова Л.М., Тищенко А.Л. Противовирусный препарат для лечения герпесвирусных инфекций Гиаферон. В кн.: Баринский И.Ф., Мордвинцев Ю.И., ред. *Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций: Сборник научных публикаций*. М.: РУДН; 2016: 18—46.
31. Ершов Ф.И., Готовцева Е.Л., Носик Н.Н. Интерфероновый статус в норме. *Иммунология*. 1986; (3): 52—4.
32. Григорян С.С., Майоров И.А., Иванова А.М., Ершов Ф.И. Оценка интерферонового статуса людей по пробам цельной крови. *Вопросы вирусологии*. 1988; (4): 433—6.
33. Наровлянский А.Н., Амченкова А.М., Парфенов В.В. Механизмы клеточной резистентности к ИФН и возможные пути её преодоления. В кн.: Ершов Ф.И. *Система ИФН в норме и при патологии*. М.: Медицина; 1996: 53—70.
34. Наровлянский А.Н. Клеточная резистентность к интерферону. *Биологические науки*. 1991; (9): 5—26.
37. Ершов Ф.И., Мезенцева М.В., Васильев А.Н., Щербенко В.Э., Наровлянский А.Н. Методические указания по определению индивидуальной чувствительности организма к интерферонам, другим цитокинам и индукторам интерферона. *Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств*. 2002; (1): 22—6.
38. Ершов Ф.И., Мезенцева М.В., Васильев А.Н., Щербенко В.Э., Наровлянский А.Н. Методические указания по проведению доклинических исследований цитокин-индуцирующей активности антивирусных препаратов. *Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств*. 2002; (1): 26—9.
39. Григорян С.С. *Индукторы интерферона: действие на интерфероновый статус в норме и патологии*: Автореф. дисс.... д-ра мед. наук. М.; 1992.
40. Оспельникова Т.П. Выявление и коррекция интерферонодефицитов. В кн.: Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., ред. *Интерферон-2011. Сборник научных статей*. М.; 2012: 107—28.
41. Ершов Ф.И., Романцов М.Г. *Антивирусные препараты в педиатрии*. М.: Русский врач; 2005.
42. Романцов М.Г., Ершов Ф.И. *Часто болеющие дети: современная фармакотерапия*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006.
43. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., Мезенцева М.В. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3(1): 3—6.
44. Садыков А.С., Ершов Ф.И., Новохатский А.С., Асланов Х.А., Ауелбеков С.А. *Индукторы интерферона*. Ташкент: Фан; 1978.
45. Ершов Ф.И., Тагулахова Э.Б. Индукторы интерферона — новое поколение иммуномодуляторов. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 1999; (4): 52—66.
46. Соловьёв В.Д., Бектемиров Т.А. *Интерфероны в теории и практике медицины*. М.; 1981.

## REFERENCES

1. Jenner E. Letter to the Editor. *Med. Phys. J.* 1804; (12): 97—102.
2. Salaman R.N. Protective inoculation against a plant virus. *Nature.* 1933; 131: 468.
3. White P.B. Lysogenic strains of *V. cholerae* and the influence of lysozyme on cholera phage activity. *J. Pathol. Bacteriol.* 1937; 44: 276—8.
4. Hoskins M. A protective action of neurotropic against viscerotropic yellow fever virus in *Macacus rhesus*. *Am. J. Trop. Med.* 1935; (15): 675—80.
5. Isaacs A., Edney M. Interference between inactive and active influenza viruses in the chick embryo. I. Quantitative aspects of interference. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1950; (28): 219—30.
6. Nagano Y., Kojima Y. Pouvoir immunisant du virus vaccinal inactiver par des rayons ultraviolets. *C.R. Seances. Soc. Biol. Fil;* 1954; 148(19—20): 1700—2.
7. Isaacs A., Lindenmann J. Virus interference: 1. The interferon. *Proc. R. Soc. Lond.* 1957; 147(927): 258—73.
8. Ershov F.I., Kiselev O.I. *Interferons and Their Inducers (From Molecules to Medicines) [Interferony i ikh induktory (ot molekul do lekarstv)]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2005. (in Russian)
9. Ershov F.I., Zhdanov V.M. Interferon and homeostasis. *Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR.* 1985; (7): 35—40. (in Russian)
10. Der S.D., Zhou A., Bryan R.G., Williams R.G., Silverman R.H. Identification of genes differentially regulated by interferon alpha, beta, or gamma using oligonucleotide arrays. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(26): 15623—8.
11. Narovlyanskiy A.N. Classification and mechanisms of interferon actions. In: Ershov F.I., ed. *Jubilee Collection «Interferon — 50 years» [Yubileynyy sbornik «Interferonu — 50 let»]*. Moscow; 2007: 44—50. (in Russian)
12. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N. Interferons and interferon inducers. In: Khaïtov R.M., Ataulkhanov R.I., ed. *Immunotherapy (Handbook for doctors) [Immunoterapiya (Rukovodstvo dlya vrachey)]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2011: 80—98. (in Russian)
13. Pestka S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(28): 20047—51.
14. Pestka S., Krause C.D., Walter M.R. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol. Rev.* 2004; 202: 8—32.
15. Nallar S.C., Kalvakolanu D.V. Interferons, signal transduction pathways, and the central nervous system. *J. Interferon Cytokine Res.* 2014; 34(8): 559—76.
16. Schneider W.M., Chevllote M.D., Rice C.M. Interferon-stimulated genes: a complex Web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol.* 2014; 32: 513—45.
17. Kotenko S.V., Sacconi S., Izotova L.S., Mirochnitchenko O.I., Pestka S. Human cytomegalovirus harbors its own unique IL-10 homolog (cmv IL-10). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97(4): 1695—700.
18. Plataniias L.C. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nature Rev. Immunol.* 2005; 5(5): 375—86.
19. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N., ed. *Interferon-2011. Collection of Scientific Articles [Interferon-2011. Sbornik nauchnykh statey]*. Moscow; 2012. (in Russian)
20. Ershov F.I. *Antiviral Preparations [Antivirusnye preparaty]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (in Russian)
21. Bedsaul J.R., Zaritsky L.A., Zoon K.C. Type I interferon-mediated induction of antiviral genes and proteins fails to protect cells from the cytopathic effects of sendai virus infection. *J. Interferon Cytokine Res.* 2016; 36(11): 652—65.
22. Marsili G., Perrotti E., Remoli A.L., Acchioni Ch., Sgarbanti M., Battistini A. IFN Regulatory Factors and Antiviral Innate Immunity: How Viruses Can Get Better. *J. Interferon Cytokine Res.* 2016; 36(7): 414—32.
23. González-Navajas J.M., Jongdae L., David M.I., Raz E. Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nature Rev. Immunol.* 2012; (12): 125—35.
24. Reid E., Charleston B. Type I and III interferon production in response to RNA viruses. *J. Interferon Cytokine Res.* 2014; 34(9): 649—59.
25. Liu S-Y., Sanchez D.J., Cheng G. New developments in the induction and antiviral effectors of type I interferon. *Curr. Opin. Immunol.* 2011; 23(1): 57—64.
26. Sen G.C. Viruses and interferons. *Annu. Rev. Microbiol.* 2001; 55: 255—81.
27. Honda K., Taniguchi T. IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6(9): 644—58.
28. Ershov F.I. *The Interferon System in Norm and During Pathology [Sistema interferona v norme i pri patologii]*. Moscow: Meditsina; 1996. (in Russian)
29. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N. Use of interferon inducers in viral infections. *Voprosy virusologii.* 2015; 60(2): 5—10. (in Russian)
30. Barinskiy I.F., Alimbarova L.M., Tishchenko A.L. Antiviral drug for the treatment of herpesvirus infections. Hyaferrone. In: Barinskiy I.F., Mordvintsev Yu.I., eds. *Actual Problems of Herpesvirus Infections: Collection of Scientific Publications [Aktual'nye problemy herpesvirusnykh infektsiy: Sbornik nauchnykh publikatsiy]*. Moscow: RUDN; 2016: 18—46. (in Russian)
31. Ershov F.I., Gotovtseva E.L., Nosik N.N. The interferon status in norm. *Immunologiya.* 1986; (3): 52—4. (in Russian)
32. Grigoryan S.S., Mayorov I.A., Ivanova A.M., Ershov F.I. Evaluation of the treatment of herpesvirus infections. Hyaferrone. In: Barinskiy I.F., Mordvintsev Yu.I., eds. *Actual Problems of Herpesvirus Infections: Collection of Scientific Publications [Aktual'nye problemy herpesvirusnykh infektsiy: Sbornik nauchnykh publikatsiy]*. Moscow: RUDN; 2016: 18—46. (in Russian)
33. Narovlyanskiy A.N., Amchenkova A.M., Parfenov V.V. Mechanisms of cellular resistance to IFN and possible ways to overcome it. In: Ershov F.I. *The Interferon System in Norm and During Pathology [Sistema interferona v norme i pri patologii]*. Moscow: Meditsina; 1996: 53—70. (in Russian)
34. Narovlyanskiy A.N. Cell resistance to interferon. *Biologicheskie nauki.* 1991; (9): 5—26. (in Russian)
35. Narovlyanskiy A.N., Amchenkova A.M., Mezentseva M.V., Ershov F.I. Analysis of interferon's sensitivity of human being: the clinical test with interferon-priming effect. *Eur. Cytokine Netw.* 1996; 7(3): 646.
36. Mezentseva M.V., Narovlyanskiy A.N., Amchenkova A.M., Ershov F.I. Clinical analysis of IFN-producing and IFN-effected systems. *Eur. Cytokine Netw.* 1996; 7(3): 650.
37. Ershov F.I., Mezentseva M.V., Vasil'ev A.N., Shcherbenko V.E., Narovlyanskiy A.N. Methodical instructions by definition the individual sensitivity of an organism to interferons, to other cytokines and interferon inducers. *Vedomosti nauchnogo tsentra ekspertizy i gosudarstvennogo kontrolya lekarstvennykh sredstv.* 2002; (1): 22—6. (in Russian)
38. Ershov F.I., Mezentseva M.V., Vasil'ev A.N., Shcherbenko V.E., Narovlyanskiy A.N. Methodical instructions for conducting preclinical studies of the cytokine-inducing activity of antiviral drugs. *Vedomosti nauchnogo tsentra ekspertizy i gosudarstvennogo kontrolya lekarstvennykh sredstv.* 2002; (1): 26—9. (in Russian)
39. Grigoryan S.S. *Interferon inducers: the effect on interferon status in norm and during pathology*: Diss. Moscow; 1992. (in Russian)
40. Ospel'nikova T.P. Identification and correction of interferon-deficiencies In: Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N., eds. *Interferon-2011. Collection of Scientific Articles [Interferon-2011. Sbornik nauchnykh statey]*. Moscow; 2012: 107—28. (in Russian)
41. Ershov F.I., Romantsov M.G. *Antiviral Drugs in Pediatrics [Antivirusnye preparaty v pediatrii]*. Moscow: Russkiy vrach; 2005. (in Russian)
42. Romantsov M.G., Ershov F.I. *Frequently Ill Children: Modern Pharmacotherapy [Chasto boleyushchie deti: sovremennaya farmakoterapiya]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (in Russian)
43. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N., Mezentseva M.V. Early cytokine reactions in viral infections. *Tsitokiny i vospalenie.* 2004; 3(1): 3—6. (in Russian)
44. Sadykov A.S., Ershov F.I., Novokhatsky A.S., Aslanov Kh.A., Auelbekov S.A. *Interferon Inducers [Induktory interferona]*. Tashkent: Fan; 1978. (in Russian)
45. Ershov F.I., Tazulakhova E.B. Interferon inducers are a new generation of immunomodulators. *Vestnik Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk.* 1999; (4): 52—66. (in Russian)
46. Soloviev V.D., Bektemirov T.A. *Interferons in the Theory and Practice of Medicine [Interferony v teorii i praktike meditsiny]*. Moscow; 1981. (in Russian)

Получено 12.06.17

Принята в печать 22.06.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018  
УДК 616.36-002.2-022:578.891]-092

Костюшев Д.С.<sup>1</sup>, Зуева А.П.<sup>1,2</sup>, Брезгин С.А.<sup>1,3</sup>, Липатников А.Д.<sup>1,4</sup>, Волчкова Е.В.<sup>3</sup>, Малеев В.В.<sup>1</sup>, Чуланов В.П.<sup>1,3</sup>

## РОЛЬ ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ В ЖИЗНЕННОМ ЦИКЛЕ ВИРУСА ГЕПАТИТА В И ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В

<sup>1</sup>ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, г. Москва;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, г. Москва;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВПО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», 125047, г. Москва

Хронизация гепатита В связана с образованием вирусом гепатита В (HBV) персистентной формы вируса, кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК (ккзДНК). Стабильность ккзДНК связана с внутриядерной локализацией и образованием мини-хромосомы, регулируемой эпигенетическими механизмами. Одним из основных механизмов эпигенетической регуляции является метилирование ДНК по CpG-островкам. При хроническом гепатите В уровни экспрессии ДНК-метилтрансфераз значительно повышены. Тем не менее роль ДНК-метилтрансфераз в жизненном цикле HBV и их действие на клетку остаются малоизученными. В этом обзоре представлены передовые достижения в изучении роли ДНК-метилтрансфераз при хроническом гепатите В и на моделях HBV *in vitro*.

Ключевые слова: обзор; вирус гепатита В; хронический гепатит В; ДНК-метилтрансферазы; транскрипция; метилирование; генотипы.

Для цитирования: Костюшев Д.С., Зуева А.П., Брезгин С.А., Липатников А.Д., Волчкова Е.В., Малеев В.В., Чуланов В.П. Роль ДНК-метилтрансфераз в жизненном цикле вируса гепатита В и патогенезе хронического гепатита В. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(1): 19-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-19-29>

Kostyushev D.S.<sup>1</sup>, Zueva A.P.<sup>1,2</sup>, Brezgin S.A.<sup>1,3</sup>, Lipatnikov A.D.<sup>1,4</sup>, Volchkova E.V.<sup>3</sup>, Maleyev V.V.<sup>1</sup>, Chulanov V.P.<sup>1,3</sup>

## THE ROLE OF DNA-METHYLTRANSFERASES IN THE LIFE CYCLE OF HEPATITIS B VIRUS AND PATHOGENESIS OF CHRONIC HEPATITIS B

<sup>1</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, 111123, Russian Federation;

<sup>2</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991, Russian Federation;

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First State Medical University, Moscow, 119048, Russian Federation;

<sup>4</sup>D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125047, Russian Federation

Chronic hepatitis B is caused by a persistent form of hepatitis B virus, covalently closed circular DNA (cccDNA). Stability of cccDNA is associated with intracellular localization of cccDNA and formation of minichromosome, regulated by epigenetic mechanisms. One of the key mechanisms in epigenetics is methylation of DNA on CpG islands. Expression levels of DNA-methyltransferases (DNMTs) in chronic hepatitis B patients were shown to be upregulated. Nevertheless, the role of DNMTs in the life cycle of HBV and their effects on the cell remain elusive. In this review, we discuss latest achievements on the role of DNMTs in chronic hepatitis B and HBV *in vitro* models.

Keywords: hepatitis B virus; chronic hepatitis B; DNA-methyltransferases;  $\gamma$ -H2AX; transcription; HBsAg; methylation; genotypes.

For citation: Kostyushev D.S., Zueva A.P., Brezgin S.A., Lipatnikov A.D., Volchkova E.V., Maleyev V.V., Chulanov V.P. The role of DNA-methyltransferases in the life cycle of hepatitis B virus and pathogenesis of chronic hepatitis B. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(1): 19-29. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-19-29>

For correspondence: Dmitry S. Kostyushev, junior scientist, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: [dk@rcvh.ru](mailto:dk@rcvh.ru)

### Information about authors:

Kostyushev D.S., <http://orcid.org/0000-0002-1851-7441>; Volchkova E.V., <http://orcid.org/0000-0003-4581-4510>;

Maleyev V.V., <http://orcid.org/0000-0002-8508-4367>; Chulanov V.P., <http://orcid.org/0000-0001-6303-9293>

**Acknowledgment.** This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 16-15-10426).

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

Received 16 April 2017  
Accepted 20 June 2017

## Введение

Гепатит В — тяжелое заболевание, вызываемое вирусом гепатита В (HBV). HBV относится к семейству He-

padnaviridae, род *Orthohepadnaviridae*, и характеризуется высокой ткане- и видоспецифичностью, уникальной организацией генома и механизмом репликации. Суще-

Для корреспонденции: Костюшев Дмитрий Сергеевич, мл. науч. сотр., ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва. E-mail: [dk@rcvh.ru](mailto:dk@rcvh.ru)



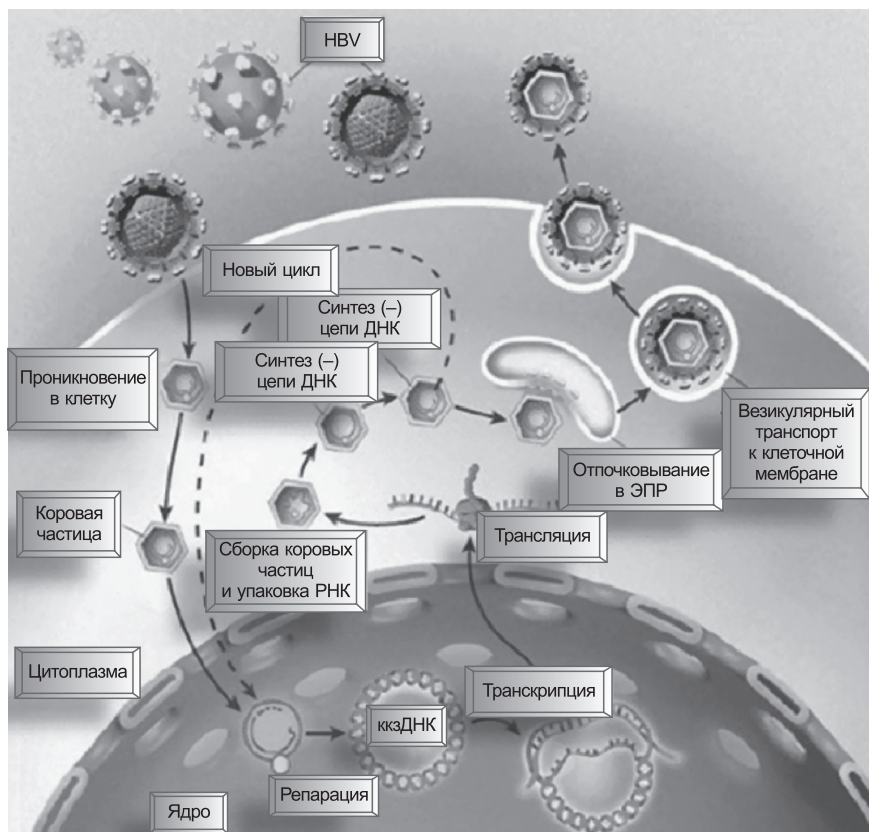


Рис. 1. Жизненный цикл HBV. ккзДНК является матрицей для транскрипции всех РНК HBV, включая пРНК. ЭПР — эндоплазматический ретикулум.

ствует 9 генотипов HBV (А — I), различие в нуклеотидных последовательностях между разными генотипами составляет около 8% [1].

По всему миру более 350 млн человек страдают от хронического гепатита В (ХГВ), который является причиной гибели более 1 млн человек ежегодно, что связано с исходами заболевания, такими как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома [2]. Несмотря на наличие эффективных программ вакцинации, ни один из современных методов терапии не приводит к полному излечению пациентов с ХГВ. Непосредственной причиной хронической инфекции и персистенции вируса в клетке является особая форма генома HBV, кольцевая ковалентно-замкнутая ДНК HBV (ккзДНК) (рис. 1) [3]. Матрицы ккзДНК способны в течение неограниченного срока находиться в ядре гепатоцитов и поддерживать репликацию вируса. ккзДНК существует в виде минихромосомы в комплексе с белками вируса, гистоновыми и негистоновыми белками клетки (рис. 2) [4].

ДНК-метилтрансферазы (ДНМТ) гиперэкспрессируются при инфицировании клеток HBV *in vitro* [5] и *in vivo* в гепатоцитах пациентов с ХГВ [6]. Увеличение уровней продукции ДНМТ обычно связывают с неспецифическим противовирусным ответом клетки. Действительно, ДНМТ могут метилировать ДНК HBV, подавлять транскрипцию вирусных мРНК и репликацию HBV [7, 8]. Длительная активация ДНМТ приводит к высокой частоте метилирования генома клеток, а также дисрегуляции многочисленных внутриклеточных процессов, связанных с трансформацией клеток и развитием рака.

В этом обзоре мы рассматриваем последние данные о механизмах активации ДНМТ, влиянии ДНМТ на жизненный цикл вируса, различиях в профилях метилирования ккзДНК среди разных генотипов HBV, действии ДНМТ и HBV на генетическую стабильность клеток и перспективах применения результатов исследований, касающихся метилирования ккзДНК, в разработке методов лечения ХГВ. В обзоре использованы как данные наиболее значимых работ, посвященных HBV, так и наши экспериментальные данные.

### Жизненный цикл и структура HBV

HBV — ДНК-содержащий вирус млекопитающих. Основная форма генома представляет собой релаксированную кольцевую частично двухцепочечную ДНК (кчдДНК), размер которой составляет примерно 3,2 кб (см. рис. 2). Цепи ДНК асимметричны, что является уникальной особенностью гепаднавирусов: цепь с негативной полярностью является полноразмерной, положительная цепь ДНК HBV имеет размер 1100—2600 нуклеотидов (нт). Незавершенная плюс-цепь всегда содержит одинаковый 5'-конец, в то время как 3'-конец обычно вариателен и может иметь разную длину. 5'-концы обеих цепей содержат прямые повторы

и регионы коротких повторяющихся последовательностей, которые являются ключевыми для репликации вирусного генома.

Минус-цепь незамкнута, содержит небольшой избыточный регион длиной 8—10 нт, к которому прикреплена субъединица полимеразы. Плюс-цепь кэпирована олигорибонуклеотидом на 5'-конце [9].

### Образование ккзДНК

Точный механизм синтеза ккзДНК пока изучен недостаточно. Для конверсии кчдДНК в ккзДНК необходима разборка нуклеокапсида и транспорт кчдДНК в ядро. Депротенинизированная форма кчдДНК является функциональным предшественником ккзДНК. Завершение синтеза плюс-цепи ДНК — важный шаг, ведущий к депротенинизации генома и структурным изменениям нуклеокапсида (табл. 1).

Таблица 1

Этапы конверсии кчдДНК в ккзДНК

Этапы	События в процессе конверсии кчдДНК в ккзДНК
1	Удаление Р-белка с 5'-конца минус-цепи ДНК
2	Удаление короткого РНК-олигомера, используемого для синтеза плюс-цепи ДНК
3	Удаление части минус-цепи ДНК с концевой избыточностью
4	Лигирование цепей ДНК



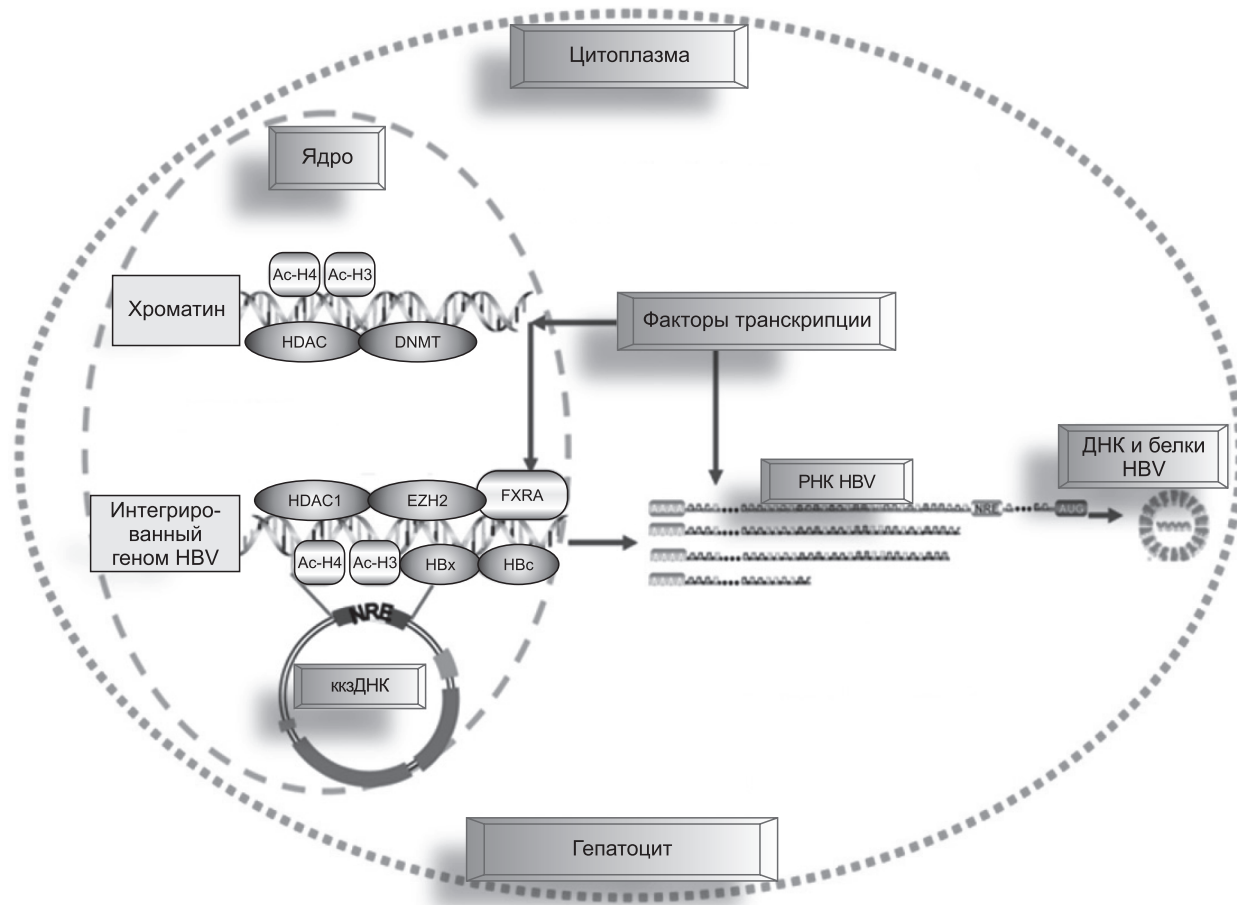


Рис. 2. Эпигенетическая регуляция активности ккзДНК HBV.

ДНК вируса гепатита В может интегрироваться в геном гепатоцитов и формировать минихромосомы ккзДНК в ядре. ккзДНК служит матрицей для вирусной транскрипции, образования ДНК и продукции белков вируса. Активность ккзДНК и интегрированной формы ДНК вируса гепатита В регулируется эпигенетическими механизмами клетки (HDAC1, DNMT) и белками вируса (HBx, HBc).

Сигналы ядерной локализации (NLS) на С-концах HBc-белка обеспечивают взаимодействие капсида с клеточными кариоферинами и способствуют импорту депротенизированной формы ккзДНК в ядро для образования ккзДНК [4]. Синтезированная *de novo* ккзДНК ассоциируется с гистонами и существует в виде минихромосомы. Обычно в ядре гепатоцита находится до 50 копий ккзДНК, в то время как число копий ккзДНК на моделях HBV в культурах клеток человека *in vitro*, обычно используемых для изучения цикла и действия противовирусных препаратов, оказывается значительно ниже [10].

Геном эукариот представляет собой плотно упакованный хроматин, единицей строения которого является нуклеосома. Каждая нуклеосома состоит из гистоновых белков (по 2 копии каждого из 4 гистонов: H2A, H2B, H3 и H4 в одной нуклеосоме) и 200 пар оснований ДНК. ккзДНК также имеет нуклеосомную организацию и ассоциирована с гистоновыми и негистоновыми белками. Она формирует в ядре типичную структуру «бусин на нитке» и существует в виде минихромосомы. Известно, что в структуру минихромосомы входят HBc и HBx [11] (см. рис. 2). Также подтверждено наличие факторов транскрипции клетки CREB, YY1, STAT1 и STAT2, а также хроматинре моделирующих факторов PCAF, p300/

CBP, HDAC1, SIRT1 и EZH2 [12]. HBc в структуре минихромосомы связывается с двухцепочечной ДНК вируса, что приводит к уменьшению расстояния между нуклеопротеиновыми комплексами на 10%. Как и в хроматине клетки, характер модификации гистонов и расположение нуклеосом играют важную роль в регуляции транскрипции [13].

### Регуляция активности ккзДНК

Поскольку ккзДНК существует в виде минихромосомы, ее транскрипционная активность регулируется эпигенетическими механизмами. Гистоновые и негистоновые белки напрямую или за счет белок-белковых взаимодействий связываются с ДНК вируса (рис. 3). Как и в ДНК клетки, ацетилирование гистонов может регулировать транскрипционную активность ккзДНК. Т. Pollicino и соавт. [11] подтвердили справедливость этого утверждения как на модельных системах *in vitro*, так и *in vivo* в печени хронически инфицированных пациентов, используя технологию ChIP и антитела к ацетилированным формам H3 и H4. Высокая активность ацетилтрансфераз PCAF и p300/CBP форсирует вирусную репликацию, в то время как привлечение гистондеацетилазы HDAC1 к ккзДНК, напротив, обеспечивает низкий уровень репликации *in vitro*. Чтобы экспериментально

подтвердить это, были использованы ингибиторы гистоновых деацетилаз I и III класса — трихостатин А и никотинамид соответственно. Обработка этими факторами приводит к ацетилированию гистона H4 и повышению уровня репликации HBV. Таким образом, было высказано предположение, что подавление репликации вируса происходит по уже известным механизмам ремоделирования хроматина.

Помимо посттрансляционных модификаций гистонов, ДНК HBV и, в частности, ккзДНК может регулироваться метилированием по CpG-островкам. Механизмы активации ДНМТ и особенности метилирования генома HBV будут рассмотрены ниже. Отметим, что функционально активация экспрессии ДНМТ при инфицировании HBV может быть связана с неспецифическим противовирусным ответом инфицированных клеток на проникновение вируса. ккзДНК, единственная матрица для считывания РНК HBV, гиперметируется по CpG-островкам, при этом подавляется транскрипция и репликация. Помимо этого, неблагоприятным исходом активации ДНМТ является метилирование генома гепатоцитов пациентов с ХГВ, что может негативно влиять на экспрессию функционально значимых генов, приводить к дисрегуляции клеточной деятельности, а также способствовать повреждению ДНК клетки. В целом кумулятивный эффект факторов HBV *per se* и активации ДНМТ, в частности, усугубляет повреждение генома клеток и ускоряет процессы, связанные с развитием фиброза и гепатоцеллюлярной карциномы. Кроме того, метилирование ккзДНК может рассматриваться как один из механизмов формирования эпигенетически репрессированных молекул ккзДНК. Таким образом, ДНМТ могут участвовать в персистенции вирусной инфекции.

### HBV стимулирует экспрессию ДНМТ

Процессы конденсации хроматина ккзДНК имеют ключевое значение в регуляции экспрессии вирусных РНК и продукции вирусных белков. Степень компактизации ккзДНК определяется эпигенетическими модификациями ккзДНК и связанных с ней белков. Именно она определяет доступность ккзДНК для регуляторных факторов транскрипции.

Метилирование — распространённый механизм защиты клеток эукариот в ответ на проникновение чужерод-

ной ДНК и вирусных геномов. Многие промоторы генов в геноме клеток и вирусов богаты CpG-динуклеотидами или группами CpG-динуклеотидов, так называемыми CpG-островками. Метилирование цитидина в островках CpG подавляет экспрессию генов и способствует гетерохроматизации.

ДНК-метилирование происходит за счет действия ДНМТ, непосредственных эффекторов, которые осуществляют ферментативное присоединение метильных групп к цитидину, и метил-CpG-связывающих белков, роль которых сводится к распознаванию паттернов метилирования [14]. Семейство ДНМТ состоит из ДНМТ1, ДНМТ2, ДНМТ3А, ДНМТ3В и ДНМТ3L. ДНМТ1 относится к поддерживающим ДНК-метилтрансферазам. В процессе деления клеток ДНМТ1 метилирует гемиметилированные островки CpG. ДНМТ3А и ДНМТ3В являются *de novo* ДНК-метилтрансферазами, они могут метилировать как неметилированные, так и гемиметилированные островки CpG. ДНМТ2 и ДНМТ3L не способны к метилированию ДНК, но выполняют другие важные функции [15].

Ранее было установлено, что инфицирование клеток HBV стимулирует экспрессию ДНМТ, в особенности ДНМТ3А/В и ДНМТ1. Более высокие уровни экспрессии ДНМТ детектируются в гепатоцитах пациентов с ХГВ в сравнении с контрольной группой [16]. Последние исследования убедительно показали, что профиль метилирования островков CpG в ккзДНК и, следовательно, активность вирусного цикла связаны с репликацией вируса и активностью ДНМТ. Метилированные геномы HBV обнаружены в сыворотке и биоптатах печени пациентов с ХГВ. Все больше сведений указывает на то, что увеличение экспрессии ДНМТ может быть частью неспецифического анти-HBV ответа клетки хозяина, т. е. частью внутриклеточной иммунной системы. Предыдущие работы показали, что метилирование ДНК HBV снижает вирусную мРНК, продукцию вирусного белка и прегеномной РНК (пгРНК) [17]. На клетках гепатомы человека HepG2 *in vitro* было показано, что через 2—4 сут после инфицирования HBV в клетках наблюдается увеличение уровней экспрессии ДНМТ [18]. В наших работах также было показано, что на модели клеток HepG2, трансфицированных плазмидой с геномом 1.1merHBV, HBV индуцирует экспрессию ДНМТ1

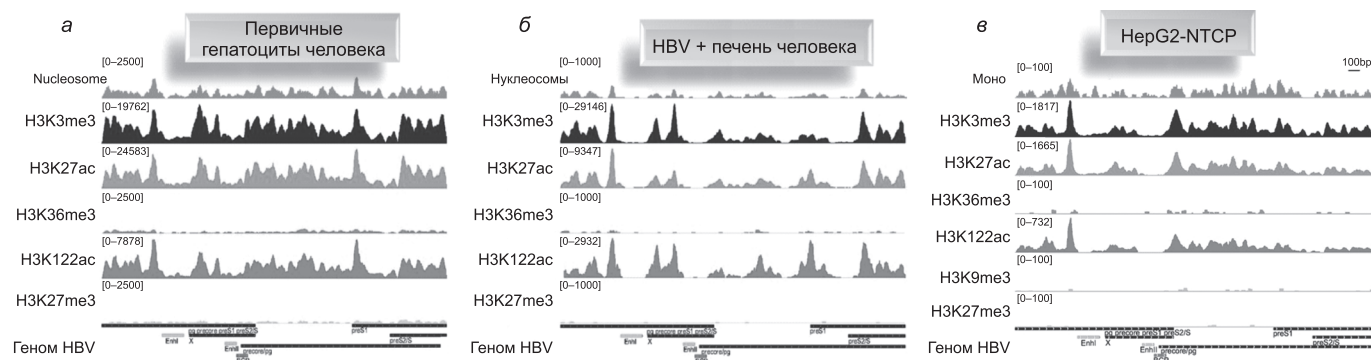


Рис. 3. Посттрансляционные модификации гистонов в ккзДНК HBV. ChIP-Seq-анализ ккзДНК с маркерами эухроматина (H3K4me3, H3K27ac, H3K36me3, H3K122ac) и гетерохроматина (H3K9me3, H3K27me3) на первичных гепатоцитах пациента с HBV (а), инфицированной HBV печени человека (б) и клетках HepG2-NTCP с HBV (в).

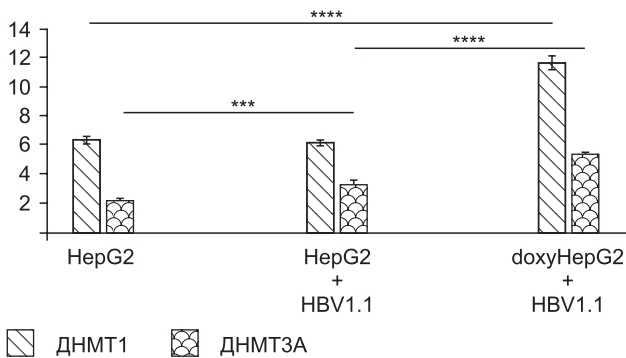


Рис. 4. Повышение уровней экспрессии генов ДНМТ1 и ДНМТ3А при репликации HBV. HepG2: клетки гепатомы; HepG2 + HBV1.1: клетки HepG2, трансфицированные геномом HBV1.1; doxyHepG2 + HBV1.1: клетки HepG2, трансфицированные геномом HBV1.1 с активным промотором tet-on.

и ДНМТ3А в различной степени и с разной динамикой (рис. 4) [19]. Белок HBx HBV участвует в многочисленных внутриклеточных процессах, а именно в регуляции транскрипции HBV, контроле за степенью гетерохроматизации ккзДНК. Отмечена роль HBx-белка в трансформации клеток, регуляции клеточного цикла, апоптоза и пр. Продукция HBx в клетках *per se*, т. е. без активной инфекции HBV на модели трансфекции, стимулирует продукцию ДНМТ и усиливает метилирование CpG-островков в геноме клеток [19]. При этом белок HBx может как напрямую активировать экспрессию ДНМТ1 и ДНМТ3А/В [20], так и действовать на процессы ДНК-метилирования опосредованно, за счет привлечения ДНМТ к промоторам генов [21]. Y. Zhu и соавт. [22] показали, что трансфекция клеток HepG2 плазмидой, кодирующей HBx, приводит к 1,5- и 1,7-кратному повышению экспрессии ДНМТ1 и ДНМТ3А соответственно.

На нашей модели HepG2-1.1merHBV, трансфицированной HBx, при активации цикла HBV происходит 2,5-кратная ( $p < 0,01$ ) индукция экспрессии ДНМТ1. Экспрессия ДНМТ3А также усиливается, но не достигает статистической значимости. Следовательно, результаты наших и других исследований продемонстрировали, что экспрессия ДНМТ1 и ДНМТ3А усиливается в клетках, инфицированных HBV. Ключевым фактором гиперэкспрессии ДНМТ является HBx-белок HBV [6].

### Метилирование ДНК HBV

Метилирование CpG-островков ДНК HBV способствует уменьшению продукции вирусных белков. Гиперметилирование островков CpG ДНК HBV подавляет синтез HBsAg [23] и снижает уровень экспрессии HBeAg [24]. Трансфекция метилированной формы ДНК HBV в клетки HepG2 приводит к снижению уровня экспрессии мРНК вируса, а также образования HBsAg

и HBcAg [25]. Котрансфекция ДНК HBV с ДНМТ3А (ДНК-метилтрансферазой) ассоциирована со снижением продукции HBsAg и HBeAg [18].

HBx может подавлять транскрипцию HBV, в том числе привлекая к минихромосоме белки ДНМТ1, ДНМТ3А1 и ДНМТ3А2. Доказано, что HBx вызывает эпигенетические изменения, включая изменения в метилировании ДНК, модификацию гистонов, а также экспрессию микроРНК [19]. HBx может снижать экспрессию ДНМТ3А, индуцируя образование miR-101 [26]. Таким образом, HBx обеспечивает эпигенетический контроль ккзДНК, регулируя взаимодействие хроматин-ремоделирующих белков с ДНК HBV.

Метилирование последовательностей ДНК HBV, интегрированных в геном клеток, было впервые описано более 20 лет назад в работах R. Miller и W. Robinson [27]. Кроме того, анализ статуса метилирования эписомальных форм генома HBV показал, что неинтегрированные формы также могут метилироваться в гепатоцитах пациентов и на моделях HBV *in vitro* [28]. Важно, что метилированию подвергается ккзДНК HBV. Таким образом, регулируется образование всех видов мРНК HBV, включая пгРНК.

В целом метилирование ДНК является CpG-специфичным, поэтому плотность и расположение CpG-динуклеотидов и CpG-островков может напрямую влиять на возможность и степень метилирования генома HBV. Как показано ранее, большинство изолятов HBV содержат 3 CpG-богатых региона. Островок I перекрывается с областью начала S-гена, островок II охватывает регионы энхансера I и промотора X-гена, а островок III находит-

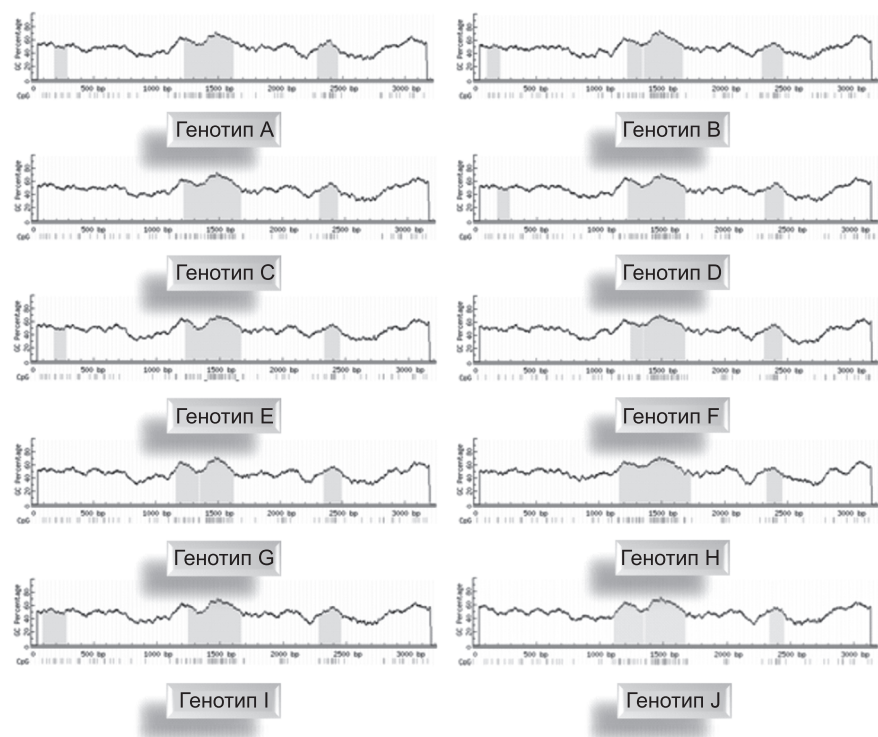


Рис. 5. Распределение CpG-островков в геноме HBV различных генотипов. Вертикальная ось соответствует процентной доле GC, горизонтальная относится к нуклеотидной последовательности генома HBV. CpG-островки I, II и III выделены серым цветом. Отдельные вертикальные линии обозначают CpG-динуклеотиды [32 с модификациями].



Таблица 2

Расположение и размер трёх традиционных и новых островков CpG в нуклеотидных последовательностях HBV различных генотипов

Гено-тип	CpG-островок I		CpG-островок II		CpG-островок III		Новые CpG-островки	
	локализация, нт	средний размер, нт	локализация, нт	средний размер, нт	локализация, нт	средний размер, нт	локализация, нт	средний размер, нт
A	94—303	151	1215—1671	424	2276—2460	149	—	—
B	109—289	121	1175—1679	444	2298—2462	146	300—633; 1926—2043	109
C	60—626	124	1035—1732	442	2121—2458	162	2874—2989	105
D	94—288	110	1205—1671	419	2250—2458	150	467—589	122
E	184—577	102	1223—1673	409	2334—2456	122	—	—
F	—	—	1202—1672	347	2257—2462	153	1921—2038	111
G	186—297	111	1663—1906	466	2341—2494	145	—	—
H	332—436	105	1106—1728	518	2336—2464	120	1933—2035	103
I	98—283	138	1248—1678	422	2252—2456	186	—	—
J	—	—	1111—1671	561	2335—2446	112	—	—

ся в регионе промотора Sp1 и старт-кодона P-гена [29, 30]. Роль островков I и III в регуляции HBV остается не совсем ясной. Низкая плотность CpG в островке I обуславливает слабое влияние метилирования островка на регуляцию вирусного цикла. Значительных корреляций между состоянием метилирования островка III и циклом HBV также выявлено не было. Напротив, метилирование островка II подавляет транскрипцию S-гена и коррелирует с низким уровнем продукции или отсутствием HBeAg. Предполагается, что гиперметилирование островка II может также подавлять транскрипцию *pre-C/C*-гена и снижать продукцию HBeAg [24].

Работы двух групп исследователей, изучавших образцы от пациентов с ХГВ из Азии, подтвердили, что метилирование ккзДНК происходит в большинстве клинических образцов и негативно влияет на репликацию HBV. В отличие от этого изучение статуса метилирования ДНК

HBV с образцами из Франции показало, что геном HBV редко становится мишенью ДНК-метилтрансфераз в образцах печени от пациентов с ХГВ [31]. Только 14% метилирования происходит по островку I, 0,6% — по островку II и 3,7% — по островку III. Причиной противоречивых результатов может быть высокая генетическая гетерогенность геномов HBV и как следствие неоднородное распространение CpG-островков у пациентов из разных регионов (рис. 5). Известно, что в Азии преобладают генотипы B и C HBV, в то время как во Франции — генотипы A и D, более типичные для остальной части Европы [1].

На основании допущения, что степень метилирования ккзДНК может сильно варьировать среди разных генотипов HBV, Y. Zhang и соавт. [31] методом компьютерного анализа изучили различия в плотности CpG-динуклеотидов среди генотипов HBV (табл. 2; рис. 6). В результате оказалось, что 45% последовательностей HBV содержат 3 традиционных CpG-островка, тогда как 47% последовательностей HBV содержат только 2 островка (II и III). Предположительно низкая плотность CpG-динуклеотидов в некоторых генотипах оказывается слишком низкой в островке I. В отличие от островка I области островков II и III более консервативны среди генотипов. Помимо этого Y. Zhang и соавт. обнаружили 3 новых островка CpG, названные IV, V и VI соответственно. Островок IV обнаружен в геноме HBV генотипов B, C и D, он расположен между островками I и II, перекрывается с S- и P-генами. Островок V выявлен в геноме HBV генотипов B, H и F, расположен между энхансером II и кор-промотором и sp1, перекрываясь с С-геном. Островок VI идентифицирован в геноме HBV генотипа C, располагается в sp2, перекрывается с *preS1* и P-генами. Вероятно, эти островки также могут являться мишенями для метилирования ДНК, однако их роль в регуляции цикла HBV остается неизученной. Возможно, гиперметилирование островка V может блокировать инициацию транскрипции С-гена, а метилирование островка VI подавлять экспрессию мРНК 2.1 [31].

Распределение CpG-островков различается между генотипами HBV. Это говорит о том, что метилирование ДНК может регулировать транскрипцию HBV в различной степени у различных генотипов. Данным открытием можно объяснить противоречивые результаты различ-

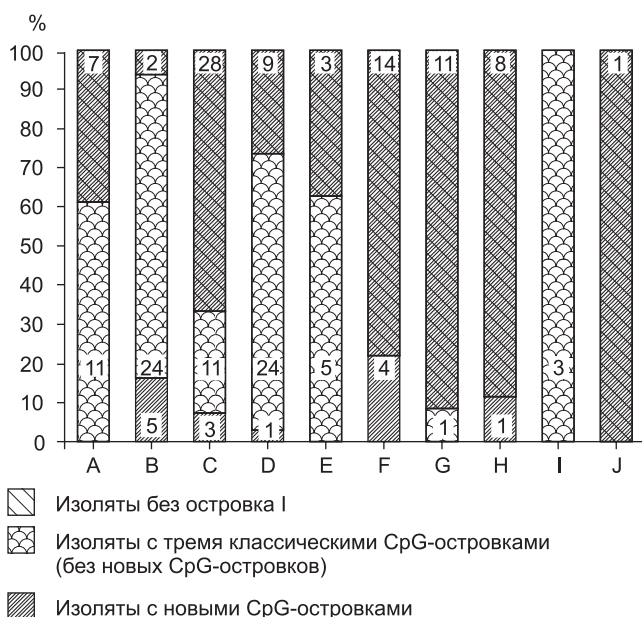


Рис. 6. Доля геномов HBV А—J без CpG-островка I, с тремя традиционными CpG-островками, с новыми CpG-островками.

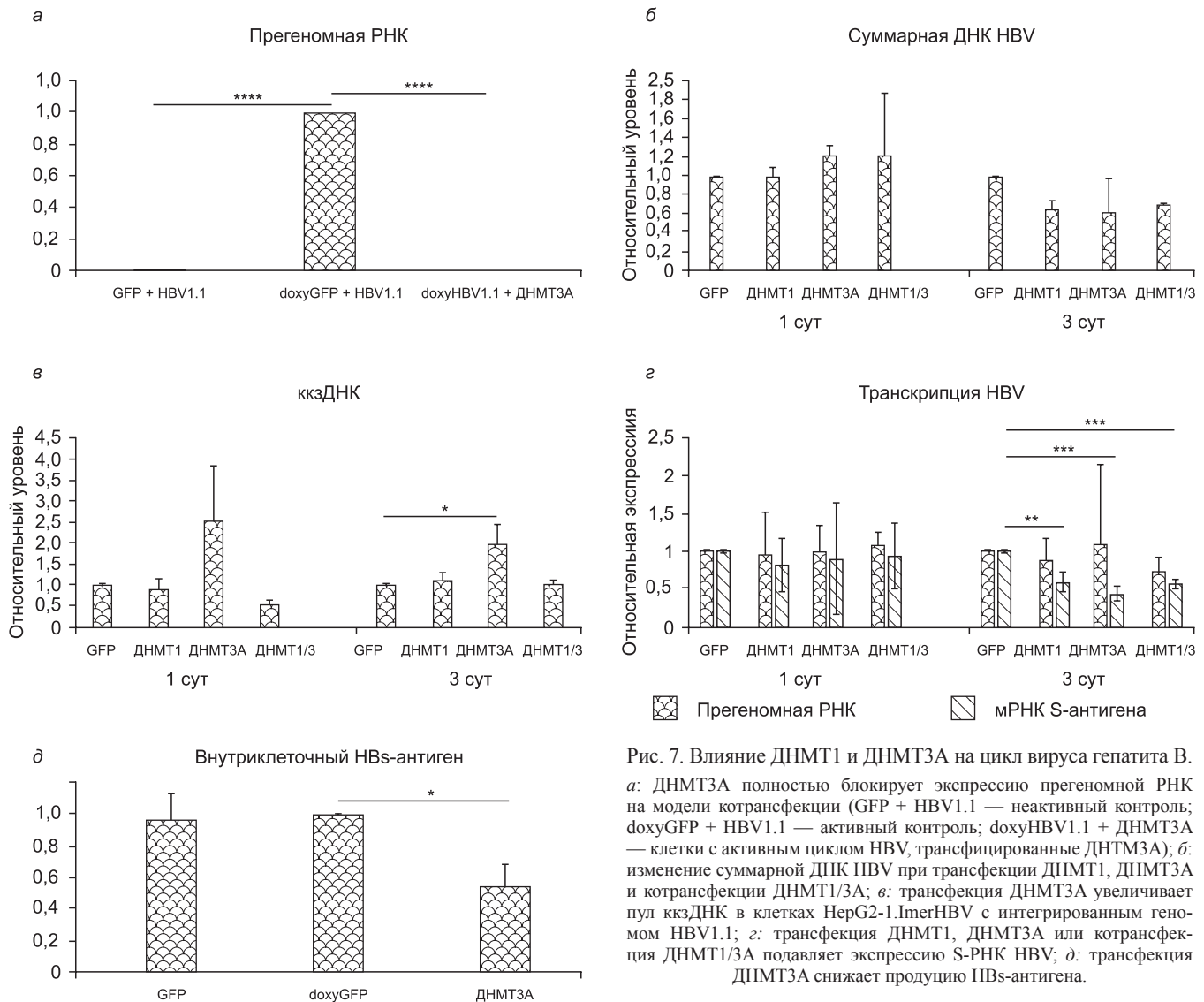


Рис. 7. Влияние DNMT1 и DNMT3A на цикл вируса гепатита В. *а*: DNMT3A полностью блокирует экспрессию прегеномной РНК на модели котранфекции (GFP + HBV1.1 — неактивный контроль; doxyGFP + HBV1.1 — активный контроль; doxyHBV1.1 + DNMT3A — клетки с активным циклом HBV, трансфицированные DNMT3A); *б*: изменение суммарной ДНК HBV при трансфекции DNMT1, DNMT3A и котранфекции DNMT1/3A; *в*: трансфекция DNMT3A увеличивает пул ккзДНК в клетках HepG2-1.1merHBV с интегрированным геномом HBV1.1; *г*: трансфекция DNMT1, DNMT3A или котранфекция DNMT1/3A подавляет экспрессию S-РНК HBV; *д*: трансфекция DNMT3A снижает продукцию HBs-антигена.

ных исследований, в которых анализировали метилирование HBV ДНК на HBV различных генотипов.

### Влияние метилирования генома HBV на жизненный цикл вируса

DNMT3A/B и DNMT1 могут напрямую связываться с ккзДНК. Метод анализа ChIP-ПЦР показал, что количество ккзДНК, связавшееся с DNMT, значительно возрастает к 3—4-м суткам после инфицирования клеток Huh7 в культуре [32]. Следовательно, HBV стимулирует продукцию DNMT, которые в свою очередь связываются с матрицами ккзДНК, метилируют геном HBV по CpG-островкам и подавляют транскрипцию.

Хотя влияние трансфекции DNMT3A на транскрипцию HBV было изучено ранее [18], мы впервые показали, что трансфекция DNMT1, DNMT3A и котранфекция DNMT1/DNMT3A ингибируют продукцию ДНК HBV и влияют на размер пула ккзДНК. К 3-м суткам после трансфекции клеток HepG2-1.1merHBV плазмидами, кодирующими соответствующие DNMT, уровень ДНК HBV снижался примерно на 40% ( $p < 0,05$ ) во всех вариантах трансфекции, при этом транскрипция S-РНК

снижалась наиболее заметно, сокращаясь на 40—50% ( $p < 0,01$ ). Экспрессия пгРНК снижалась не так существенно, примерно на 25%, но статистически недостоверно. Из этого следует, что DNMT1, DNMT3A и котранфекция DNMT1/DNMT3A подавляют транскрипцию и репликацию HBV (рис. 7).

В свою очередь при более детальном исследовании влияния гиперэкспрессии DNMT на уровни ккзДНК на модели HepG2-1.1merHBV с помощью высокочувствительного метода детекции ккзДНК после обработки ферментом Plasmid-Safe DNase [19] было установлено, что DNMT1 не влияет на размер пула ккзДНК, однако DNMT3A, напротив, значительно увеличивает пул ккзДНК. Трансфекция клеток HepG2-1.1merHBV плазмидой, кодирующей DNMT3A, вызывает примерно 2,5-кратное увеличение пула ккзДНК уже в 1-е сутки после трансфекции. Возрастание пула ккзДНК сохраняется на 3-и сутки после трансфекции (увеличение примерно в 2 раза) ( $p < 0,005$ ).

В своих работах мы показали, что трансфекция DNMT1 и DNMT3A значительно подавляет не только уровни экспрессии S-РНК, но также уровни ДНК HBV, и вместе с этим трансфекция DNMT3A удваивает пул ккзДНК в

Таблица 3

**Эффекты пролонгированной гиперэкспрессии ДНМТ при ХГВ**

Позитивные эффекты	Негативные эффекты
<p>Подавление транскрипции и репликации HBV</p>	<p>Образование персистентного пула ккзДНК:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• метилирование CpG-островков ккзДНК стимулирует модификацию гистонов мини-хромосом и усиление компактизации ккзДНК.</li> </ul> <p>Повреждение генома и риск трансформации клеток:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• дизрегуляция экспрессии генов, многие из которых участвуют в развитии гепатоцеллюлярной карциномы;</li> <li>• повреждение генома клеток (индукция разрывов хромосом).</li> </ul> <p>Метилирование промоторов генов в геноме гепатоцитов:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• затрудняет регенерацию печени;</li> <li>• увеличивает повреждение гепатоцитов, связанное с HBV;</li> <li>• способствует развитию цирроза.</li> </ul>

сравнении с контролем. Как было сказано выше, метилирование островков CpG в геноме ккзДНК может служить одним из механизмов, ответственных за персистентность HBV. Мы предполагаем, что длительная гиперэкспрессия ДНМТ3А может играть определенную роль в образовании персистентного пула ккзДНК и участвовать в хронической инфекции HBV.

**Метилирование генома клетки при инфекции HBV**

Как было сказано выше, HBx-белок HBV индуцирует экспрессию ДНМТ1, ДНМТ3А/В и других ДНК-метилтрансфераз. Поскольку ДНМТ не действуют на ДНК HBV селективно, увеличение уровней продукции ДНМТ приводит к метилированию генома инфицированных клеток, в частности промоторов некоторых генов-супрессоров опухолей [18]. Вместе с этим ДНМТ могут метилировать промотор uPA, ключевого регулятора HGF. Метилирование промотора uPA наблюдается в 99,7% случаев у пациентов с ХГВ. Гипоактивация HGF затрудняет регенерацию печени и способствует развитию фиброза [34]. Другой механизм действия HBx заключается в связывании ДНМТ3А напрямую. В норме ДНМТ3А связана с регионами генов IGFBP3 и CDH6. В присутствии HBx ДНМТ3А диссоциирует с промотором этих генов, повышая экспрессию IGFBP3 и CDH6 [21].

**Нестабильность генома при инфекции HBV: действие HBx и ДНМТ**

Нестабильность генома играет ключевую роль в злокачественной транс-

формации клеток и развитии рака. Гепатоцеллюлярная карцинома, одно из самых тяжелых и распространенных последствий ХГВ, характеризуется большой нестабильностью генома в некоторых участках хромосом [35]. Известно, что HBx-белок играет важную роль в канцерогенезе при хронической инфекции HBV. Этот белок относится к многофункциональным трансактиваторам, его влияние распространяется на репликацию вируса, регуляцию транскрипции как ккзДНК, так и многих генов клетки, прогрессирование клеточного цикла, репарацию ДНК, апоптоз (может служить как проапоптотическим, так и антиапоптотическим фактором) и стабильность генома [36]. HBx-белок участвует в дупликации центросом, вызывает aberrантное формирование веретена деления, неправильную агрегацию хромосом при митозе и повышает риски анеуплоидии. Цитоплазматический HBx-белок индуцирует окислительный стресс, продукцию активных форм кислорода (АФК) и повреждение генома клеток. Так, в экспериментах *in vitro* с белком HBx с сигналом ядерной локализации образования АФК не происходит (рис. 8). Напротив, HBx-белок с сигналом ядерного экспорта вызывает значительное образование АФК и индуцирует образование  $\gamma$ -H2AX-фокусов (фокусов фосфорилированного гистона H2AX, ассоциированного с двухцепочечными разрывами генома) [35]. Позитивные и негативные аспекты гиперэкспрессии ДНМТ представлены в табл. 3.

Недавно в масштабном исследовании с использованием ядерно-магнитно-резонансной метаболомики было впервые изучено действие HBx на метаболизм клеток HepG2 и SK-HEP-1. Эписомальная продукция HBx в клетках нарушает метаболизм глюкозы, липидов, аминок-

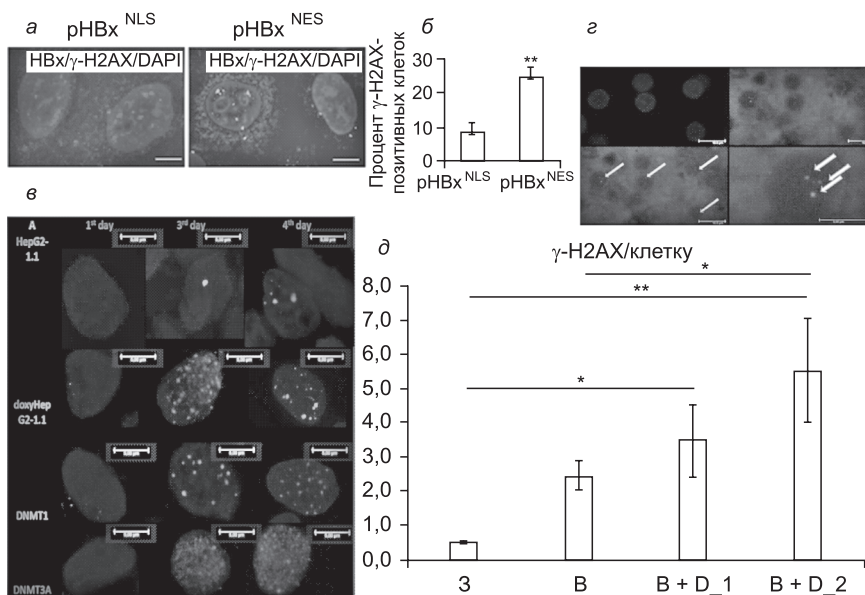


Рис. 8. Вирус гепатита В вызывает образование фокусов гистона  $\gamma$ -H2AX, ассоциированного с двухцепочечными разрывами ДНК.

*а*: только цитоплазматический белок HBx, но не внутриядерный HBx (HBx-NLS) вызывает образование фокусов  $\gamma$ -H2AX (ярко-белые фокусы в ядре) [36 с модификациями]; *б*: процентная доля клеток с  $\gamma$ -H2AX-фокусами, трансфицированными HBx-NES и HBx-NLS [36 с модификациями]; *в*: образование фокусов  $\gamma$ -H2AX в клетках HepG2-1. ImeHBV с активным циклом HBV, трансфицированных ДНМТ1 или ДНМТ3А; *г*: окрашивание гепатоцитов пациента с хроническим гепатитом В на  $\gamma$ -H2AX гистон (стрелками указаны фокусы  $\gamma$ -H2AX); *д*: среднее число фокусов на клетку в гепатоцитах человека без заболеваний печени (3), пациента с ХГВ (В) и пациентов с ХГВ и коинфекцией вирусом гепатита дельта (В + D).



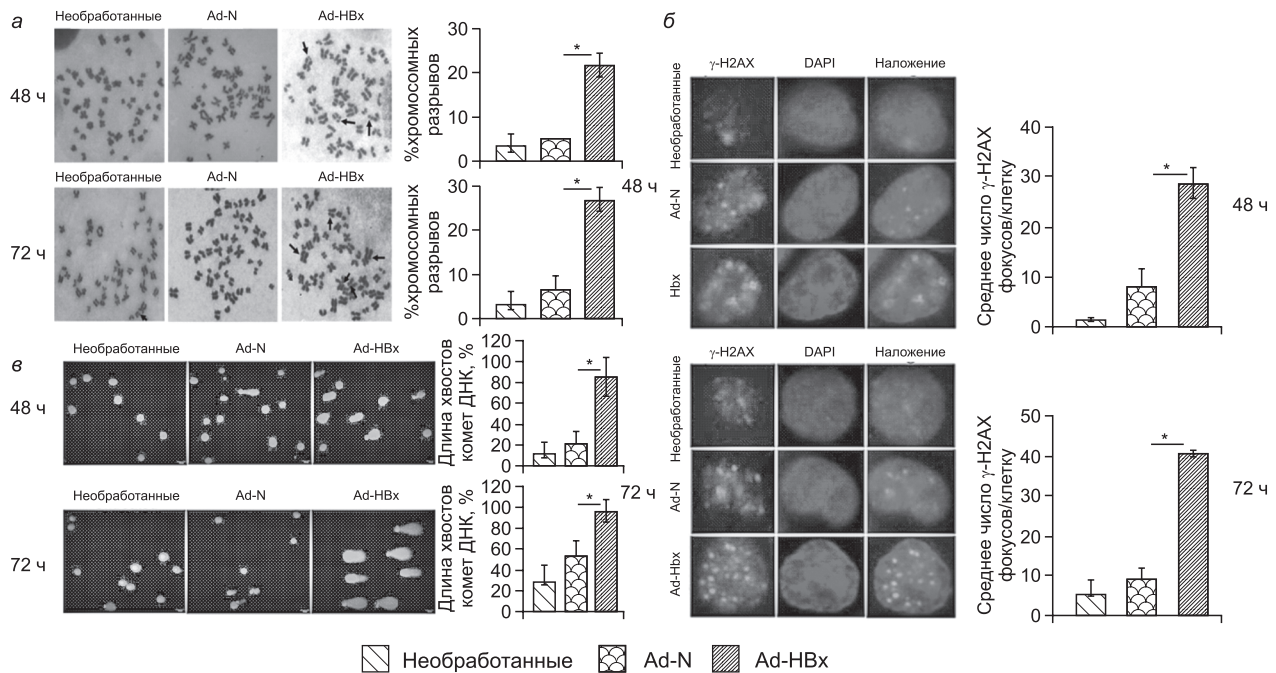


Рис. 9. Генотоксическое действие HBx-белка HBV.

а: хромосомные разрывы в клетках HepG2, инфицированных плазмидами с Ad-HBx и контролем Ad-N. Слева представлены изображения метафазных хромосом. Стрелки указывают на разрывы в хромосомах. Справа приведены процентные доли хромосомных разрывов; б: повреждение ДНК в клетках HepG2 по длине ДНК-комет. Слева представлены изображения ДНК-комет, справа — длина хвостов ДНК в процентах; в: результаты вестерн-блоттинга HBx, H2AX и γ-H2AX в клетках HepG2 после обработки Ad-HBx и Ad-N. Слева представлены флуоресцентные изображения, справа — расчёт среднего числа фокусов γ-H2AX на клетку.

кислот и особенно нуклеиновых кислот и синтез ДНК. Установлено, что значительные изменения происходят в экспрессии 966 генов, экспрессия 381 усилена более чем в 2 раза, а экспрессия еще 585 генов снижается примерно в 2 раза в сравнении с контролем. В той же работе продукция HBx-белка индуцирует масштабные хромосомные aberrации (рис. 9). Доля клеток с разрывами хромосом в метафазе составила  $21,67 \pm 2,89$  и  $26,67 \pm 2,89\%$  через 48 ч после трансдукции HepG2 и SK-HEP-1 соответственно. Через 72 ч после трансдукции эти значения составляли  $15,00 \pm 5,00$  и  $16,67 \pm 5,77\%$ . Кроме того, увеличивается как общее повреждение ДНК, продемонстрированное с помощью оценки длины хвостов комет (comet assay), так и число двухцепочечных разрывов по окраске на фосфорилированный гистон у H2AX. Фосфорилированная форма гистона H2AX (γ-H2AX) участвует в регуляции репарации ДНК и часто используется для оценки повреждения ДНК. Ранее было показано, что число фокусов γ-H2AX и уровень белка γ-H2AX значительно повышены у пациентов с диспластическими узлами, гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) и в неопухолевых тканях пациентов с ГЦК. Некоторые авторы предлагают использовать γ-H2AX для оценки рисков развития ГЦК [37].

В наших работах установлено, что активация HBV на модели клеток HepG2-1.imerHBV с регулируемым tet-оп-промотором вызывает образование многочисленных фокусов γ-H2AX. Кроме того, ряд факторов, включая гиперэкспрессию HBx-белка, ДНМТ3А и ДНМТ1, могут усиливать повреждение генома, вызывать образование многочисленных γ-H2AX-фокусов и изменять экспрессию генов, ассоциированных с DDR (MRE11, DNA-PKcs) [38]. Мы обнаружили, что многочисленные фокусы γ-H2AX генерируются в активных клетках уже на 3-и

сутки эксперимента. Количество спонтанных фокусов γ-H2AX также немного увеличивается, но остается значительно меньшим по сравнению с клетками с активной инфекцией HBV (2—6 фокусов на клетку против 13—16 фокусов на клетку;  $p < 0,001$ ). Трансфекция ДНМТ1 и ДНМТ3А вызывает значительное увеличение числа фокусов γ-H2AX к 4-м суткам, что сравнимо с клетками, гиперэкспрессирующими HBx.

Роль ДНМТ в сигнальных каскадах DDR может заключаться в гиперметилировании DDR-кодирующих генов и тем самым в нарушении клеточного ответа на повреждение ДНК. В физиологических условиях DDR действует через несколько реакций, включая детекцию поврежденной ДНК, репарацию ДНК и процессы, регулирующие остановку клеточного цикла или гибель клетки. Например, ДНМТ1 может метилировать гемиметилированные локусы генов и таким образом ингибировать транскрипцию либо напрямую участвовать в DDR [39]. Индукция оксидативного стресса при обработке пероксидом водорода приводит к привлечению ДНМТ1 к поврежденному хроматину и, возможно, к aberrантному метилированию ДНК и подавлению транскрипции [40]. Тип повреждения ДНК генома при инфекции HBV (по крайней мере частично) сходен с обработкой пероксидом, наблюдаемой в работе S. Kim и соавт. [35]. Это говорит о том, что продукция АФК в ответ на цитоплазматический HBx может вызывать HBV-связанное повреждение генома хозяина.

Впервые мы продемонстрировали, что трансфекция ДНМТ1 и ДНМТ3А при активной инфекции HBV стимулирует значительное увеличение формирования фокусов γ-H2AX к 4-м суткам. Среднее количество фокусов γ-H2AX варьирует от  $24,8 \pm 1,25$  для ДНМТ1 до  $26,2 \pm 1,27$  для ДНМТ3А. Эти количества сравнимы с таковыми

ми HBx-трансфекции (27,1 ± 1,64). Помимо этого мы показали, что  $\gamma$ -H2AX-фокусы детектируются у пациентов с ХГВ, причем число этих фокусов значительно выше у пациентов с коинфекцией вируса гепатита дельта.

Следовательно, HBx дизрегулирует многочисленные процессы клеток и индуцирует повреждение генома; стимулирует продукцию ДНМТ, которые оказывают аддитивное негативное действие на репарацию двухцепочечных разрывов. Усиленное повреждение генома клеток у пациентов с коинфекцией HBV пока остаётся неизученным, но скорее всего оно связано с ДНК-повреждающим действием самого дельта-агента.

### Заключение

Ранее было высказано предположение, что гиперэкспрессия ДНМТ может участвовать в персистенции ккзДНК, поддержании и контроле пула ккзДНК [40]. Однако влияние ДНМТ на размер пула ккзДНК впервые было описано нами на модели клеток HepG2-1.1merHBV после трансфекции ДНМТ3А. Кроме того, метилирование CpG-островков в ккзДНК может дополнительно служить сигналом для привлечения гистонмодифицирующих и хроматинремоделлирующих комплексов и метилирования гистонов, связанных с ккзДНК. Метилирование гистонов еще больше снижает транскрипцию мишени и усиливает степень компактизации ккзДНК. Высокая стабильность и низкая доступность ккзДНК даже для экспериментальных воздействий, таких как технологии АРОВЕС-дезаминаз [41] и сайт-специфических нуклеаз [42], остаются главной проблемой на пути разработки эффективного метода лечения ХГВ и элиминации ккзДНК. Релаксирование генома ккзДНК при помощи факторов эпигенетического ремоделирования может способствовать достижению более высоких показателей нуклеолитического расщепления HBV и разработкам селективных и эффективных препаратов для лечения ХГВ.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке гранта РФ №16-15-10426.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(18): 5427—34.
- Ganem D., Prince A.M. Hepatitis B virus infection — natural history and clinical consequences. *New Engl. J. Med.* 2004; 350(11): 1118—29.
- Zoulim F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. *J. Hepatol.* 2005; 42(3): 302—8.
- Zhang X., Hou J., Lu M. Regulation of hepatitis B virus replication by epigenetic mechanisms and microRNAs. *Front. Genet.* 2013; 4: 202.
- Liu X., Xu Q., Chen W., Cao H., Zheng R., Li G. Hepatitis B virus DNA-induced carcinogenesis of human normal liver cells by virtue of nonmethylated CpG DNA. *Oncol. Rep.* 2009; 21(4): 941—7.
- Li H., Yang F., Gao B., Yu Z., Liu X., Xie F. et al. Hepatitis B virus infection in hepatocellular carcinoma tissues upregulates expression of DNA methyltransferases. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8(3): 4175—85.
- Guo Y.H., Li Y.N., Zhao J.R., Zhang J., Yan Z. Hbc binds to the CpG islands of HBV cccDNA and promotes an epigenetic permissive state. *Epigenetics.* 2011; 6(6): 720—6.
- Koumbi L., Karayiannis P. The epigenetic control of hepatitis B virus modulates the outcome of infection. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 1491.
- Haines K.M., Loeb D.D. The sequence of the RNA primer and the DNA template influence the initiation of plus-strand DNA synthesis in hepatitis B virus. *J. Mol. Biol.* 2007; 370(3): 471—80.
- Wong D.K., Yuen M.F., Yuan H., Sum S.S., Hui C.K., Hall J. et al. Quantitation of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B patients. *Hepatology.* 2004; 40(3): 727—37.
- Pollicino T., Belloni L., Raffa G., Pediconi N., Squadrito G., Raimondo G. et al. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology.* 2006; 130(3): 823—37.
- Belloni L., Pollicino T., De Nicola F., Guerrieri F., Raffa G., Fanciulli M. et al. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106(47): 19975—9.
- Bock C.T., Schwinn S., Locarnini S., Fyfe J., Manns M.P., Trautwein C. et al. Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *J. Mol. Biol.* 2001; 307(1): 183—96.
- Egger G., Liang G., Aparicio A., Jones P.A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature.* 2004; 429(6990): 457—63.
- Jurkowska R., Jeltsch A. Silencing of gene expression by targeted DNA methylation: concepts and approaches. *Methods Mol. Biol.* 2010; 649: 149—61.
- Saito Y., Kanai Y., Sakamoto M., Saito H., Ishii H., Hirohashi S. Expression of mRNA for DNA methyltransferases and methyl-CpG-binding proteins and DNA methylation status on CpG islands and pericentromeric satellite regions during human hepatocarcinogenesis. *Hepatology.* 2001; 33(3): 561—8.
- Vivekanandan P., Thomas D., Torbenson M. Methylation regulates hepatitis B viral protein expression. *J. Infect. Dis.* 2009; 199(9): 1286—91.
- Vivekanandan P., Daniel H.D., Kannangai R., Martinez-Murillo F., Torbenson M. Hepatitis B virus replication induces methylation of both host and viral DNA. *J. Virol.* 2010; 84(9): 4321—9.
- Tian Y., Yang W., Song J., Wu Y., Ni B. Hepatitis B virus X protein-induced aberrant epigenetic modifications contributing to human hepatocellular carcinoma pathogenesis. *Mol. Cell. Biol.* 2013; 33(15): 2810—6.
- Zhu Y.Z., Zhu R., Fan J., Pan Q., Li H., Chen Q. et al. Hepatitis B virus X protein induces hypermethylation of p16(INK4A) promoter via DNA methyltransferases in the early stage of HBV-associated hepatocarcinogenesis. *J. Viral. Hepat.* 2010; 17(2): 98—107.
- Zheng D.L., Zhang L., Cheng N., Xu X., Deng Q., Teng X.M. et al. Epigenetic modification induced by hepatitis B virus X protein via interaction with de novo DNA methyltransferase DNMT3A. *J. Hepatol.* 2009; 50(2): 377—87.
- Zhu Y.Z., Zhu R., Shi L.G., Mao Y., Zheng G.J., Chen Q. et al. Hepatitis B virus X protein promotes hypermethylation of p16(INK4A) promoter through upregulation of DNA methyltransferases in hepatocarcinogenesis. *Exp. Mol. Pathol.* 2010; 89(3): 268—75.
- Vivekanandan P., Kannangai R., Ray S.C., Thomas D.L., Torbenson M. Comprehensive genetic and epigenetic analysis of occult hepatitis B from liver tissue samples. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(8): 1227—36.
- Guo Y., Li Y., Mu S., Zhang J., Yan Z. Evidence that methylation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in liver tissues of patients with chronic hepatitis B modulates HBV replication. *J. Med. Virol.* 2009; 81(7): 1177—83.
- Vivekanandan P., Thomas D., Torbenson M. Methylation regulates hepatitis B viral protein expression. *J. Infect. Dis.* 2009; 199(9): 1286—91.
- Wei X., Xiang T., Ren G., Tan C., Liu R., Xu X. et al. miR-101 is down-regulated by the hepatitis B virus x protein and induces aberrant DNA methylation by targeting DNA methyltransferase 3A. *Cell. Signal.* 2013; 25(2): 439—46.
- Miller R.H., Robinson W.S. Integrated hepatitis B virus DNA sequences specifying the major viral core polypeptide are methylated in PLC/PRF/5 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1983; 80(9): 2534—8.
- Vivekanandan P., Thomas D., Torbenson M. Hepatitis B viral DNA is methylated in liver tissues. *J. Viral. Hepat.* 2008; 15(2): 103—7.
- Kaur P., Paliwal A., Durantel D., Hainaut P., Scoazec J.Y., Zoulim F. et al. DNA methylation of hepatitis B virus (HBV) genome associated with the development of hepatocellular carcinoma and occult HBV infection. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(5): 700—4.
- Kim J.W., Lee S.H., Park Y.S., Hwang J.H., Jeong S.H. et al. Replicative activity of hepatitis B virus is negatively associated with methylation of covalently closed circular DNA in advanced hepatitis B virus infection. *Intervirology.* 2011; 54(6): 316—25.
- Zhang Y., Li C., Zhang Y., Zhu H., Kang Y., Liu H. et al. Comparative Analysis of CpG Islands among HBV Genotypes. *PLoS ONE.* 2013; 8(2): e56711.
- Lin S.C. Hepatitis B Virus Covalently Closed Circular DNA Is Associated with Methylated Histones H3 and H4 and Heterochromatin

- Complex Proteins: Implication of Their Roles in Viral Replication (Thesis)*. Hong Kong; 2017.
33. Hughes D.J., Marendy E.M., Dickerson C.A., Yetming K.D., Sample C.E., Sample J.T. Contributions of CTCF and DNA methyltransferases DNMT1 and DNMT3B to Epstein-Barr virus restricted latency. *J. Virol.* 2012; 86(2): 1034–45.
  34. Park E.S., Park Y.K., Shin C.Y., Park S.H., Ahn S.H., Kim D.H. et al. Hepatitis B virus inhibits liver regeneration via epigenetic regulation of urokinase-type plasminogen activator. *Hepatology*. 2013; 58(2): 762–76.
  35. Kim S., Lee H.S., Ji J.H., Cho M.Y., Yoo Y.S., Park Y.Y. et al. Hepatitis B virus X protein activates the ATM-Chk2 pathway and delays cell cycle progression. *J. Gen. Virol.* 2015; 96(8): 2242–51.
  36. Zhu M., Guo J., Li W., Lu Y., Fu S., Xie X. et al. Hepatitis B virus X protein induces expression of alpha-fetoprotein and activates PI3K/mTOR signaling pathway in liver cells. *Oncotarget*. 2015; 6(14): 12196–208.
  37. Matsuda Y., Wakai T., Kubota M., Osawa M., Takamura M., Yamagawa S. et al. DNA Damage Sensor  $\gamma$ -H2AX Is Increased in Preneoplastic Lesions of Hepatocellular Carcinoma. *ScientificWorld Journal*. 2013; 2013: 597095.
  38. Ha K., Lee G.E., Pali S.S., Brown K.D., Takeda Y., Liu K. et al. Rapid and transient recruitment of DNMT1 to DNA double-strand breaks is mediated by its interaction with multiple components of the DNA damage response machinery. *Hum. Mol. Genet.* 2011; 20(1): 126–40.
  39. O'Hagan H.M., Wang W., Sen S., Destefano Shields C., Lee S.S., Zhang Y.W. et al. Oxidative damage targets complexes containing DNA methyltransferases, SIRT1 and polycomb members to promoter CpG islands. *Cancer Cell*. 2011; 20(5): 606–19.
  40. Jin B., Robertson K.D. DNA Methyltransferases (DNMTs), DNA Damage Repair, and Cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 754: 3–29.
  41. Lucifora J., Xia Y., Reisinger F., Zhang K., Stadler D., Cheng X. et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science*. 2014; 343(6176): 1221–8.
  42. Ran F.A., Hsu P.D., Wright J., Agarwala V., Scott D.A., Zhang F. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nat. Protoc.* 2013; 8(11): 2281–308.

Поступила 16.04.17  
Принята в печать 20.06.17

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 578.833.26:578.53

Дёмина Т.В.<sup>1</sup>, Козлова И.В.<sup>2,3</sup>, Ткачёв С.Е.<sup>4</sup>, Дорощенко Е.К.<sup>2</sup>, Лисак О.В.<sup>2</sup>, Савинова Ю.С.<sup>2</sup>, Сунцова О.В.<sup>2</sup>,  
Верхозина М.М.<sup>5</sup>, Джиоев Ю.П.<sup>3</sup>, Парамонов А.И.<sup>2</sup>, Киселёв Д.О.<sup>3</sup>, Злобин В.И.<sup>3</sup>

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМНОЙ СТРУКТУРЫ СИБИРСКИХ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ЕВРОПЕЙСКОГО СУБТИПА

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», 664038, г. Иркутск;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет», 664003, г. Иркутск

<sup>4</sup>ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, г. Новосибирск;

<sup>5</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», 664047, г. Иркутск

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ, TBEV) делится на 3 субтипа: дальневосточный (ВКЭ-ДВС, TBEV-FE), европейский (ВКЭ-Евр, TBEV-Eur) и сибирский (ВКЭ-Сиб, TBEV-Sib). В России их также принято называть соответственно генотипами 1, 2 и 3. Географически ВКЭ-Евр доминирует в Центральной и Северной Европе, но его представители встречаются и восточнее — по южной части лесной зоны внетропической Евразии вплоть до Восточной Сибири и Южной Кореи. Однако штаммы, изолированные за пределами Европы, остаются малоизученными. В предлагаемом исследовании определено 8 и сопоставлено 13 полных геномов сибирских изолятов ВКЭ-Евр. Анализ 152 депонированных в GenBank полногеномных последовательностей ВКЭ показал, что ВКЭ-Евр на территории всего евроазиатского ареала обладает более высокой степенью стабильности кодирующей части генома (3,1% различий) по сравнению с ВКЭ-ДВС (6,6%) и ВКЭ-Сиб (7,8%). При этом максимальные показатели различий отмечаются не между европейскими и сибирскими штаммами, как можно было бы ожидать, а между представителями из Европы. Это штаммы Mandl-2009 из Норвегии и Нург из Чешской Республики. Исследованные штаммы из Сибири входят в состав компактного генетического кластера из 42 штаммов ВКЭ-Евр и подразделяются на 2 субкластера — западносибирский и восточносибирский варианты. Эти варианты отличаются по сочетаниям аминокислотных замен во всех белках, кроме NS2B. Западносибирский вариант в основном циркулирует на территории Алтая, а ближайшим родственником его представителей является штамм Absettarov из европейской части России. Штаммы, аналогичные восточносибирскому варианту европейского субтипа, зафиксированы на Алтае (штамм 84.2, 2007) и в Беларуси (N256, предположительно 1940).

Ключевые слова: клещевой энцефалит; вирус клещевого энцефалита; генотип; субтип; генетическая вариативность; полипротеин; аминокислотные замены.

**Для цитирования:** Дёмина Т.В., Козлова И.В., Ткачёв С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Савинова Ю.С., Сунцова О.В., Верхозина М.М., Джиоев Ю.П., Парамонов А.И., Киселёв Д.О., Злобин В.И. Определение и сравнительный анализ геномной структуры сибирских штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(1): 29-36. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-29-36>

**Для корреспонденции:** Дёмина Татьяна Васильевна, д-р биол. наук, проф. каф. фак. биотехнологии и ветеринарной медицины при ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», 664038, г. Иркутск. E-mail: demina2006@mail.ru



Demina T.V.<sup>1</sup>, Kozlova I.V.<sup>2,3</sup>, Tkachev S.E.<sup>4</sup>, Doroshchenko E.K.<sup>2</sup>, Lisak O.V.<sup>2</sup>, Savinova Yu.S.<sup>2</sup>, Suntsova O.V.<sup>2</sup>, Verkhovzina M.M.<sup>5</sup>, Dzhioev Yu.P.<sup>3</sup>, Paramonov A.I.<sup>2</sup>, Kiselev D.O.<sup>3</sup>, Zlobin V.I.<sup>3</sup>

### DEFINITION AND COMPARATIVE ANALYSIS OF THE GENOMIC STRUCTURE OF SIBERIAN STRAINS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS OF THE EUROPEAN SUBTYPE

<sup>1</sup> Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, Irkutsk, 664038, Russian Federation;

<sup>2</sup> Science Center of Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk, 664003, Russian Federation;

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk, 664003, Russian Federation;

<sup>4</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, 630090, Russian Federation;

<sup>5</sup> Center of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk region, Irkutsk, 664047, Russian Federation

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is classified into three subtypes: Far Eastern (TBEV-FE), European (TBEV-EU) and Siberian (TBEV-SIB). In Russia, these are also called genotypes 1, 2 and 3, respectively. Geographically, TBEV-EU dominates in Central and Northern Europe, but its representatives are also found to the east – along the southern part of the forest zone of extratropical Eurasia – up to Eastern Siberia and South Korea. However, the strains isolated outside Europe remain poorly investigated. In the proposed study, eight full genomes of the Siberian isolates of TBEV-EU were determined and 13 complete genomes were compared. The analysis of 152 full-genome TBEV sequences showed that the TBEV-EU has a higher degree of stability of the genome-coding region in the entire Eurasian area (3.1% of differences) compared to TBEV-FE (6.6%) and TBEV-SIB (7.8%). At the same time, the maximum differences are observed not between European and Siberian strains, as one could expect, but between the representatives from Europe – TBEV strains Mandl-2009 from Norway and Hypr from the Czech Republic. The studied strains from Siberia form the compact genetic cluster of 42 TBEV-EU strains and are divided into two subclusters – West Siberian and East Siberian variants. These variants differ in the combinations of amino acid substitutions in all proteins except NS2B. The West Siberian variant mostly circulates in the territory of Altai, and the closest relative of its representatives is Absettarov strain from the European part of Russia. The strains similar to the East Siberian variant of the European subtype were recorded in the Altai (strain 84.2, 2007) and in Belarus (N256, about 1940).

**Key words:** TBE; TBEV; genotype; subtype; genetic variability; polyprotein; amino acids substitutions.

**For citation:** Demina T.V., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Savinova Yu.S., Suntsova O.V., Verkhovzina M.M., Dzhioev Yu.P., Paramonov A.I., Kiselev D.O., Zlobin V.I. Definition and comparative analysis of the genomic structure of siberian strains of tick-borne encephalitis virus of the european subtype. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(1): 29-36. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-29-36>

**For correspondence:** Tatyana V. Demina, Dr. Sci. Biol., Professor of the Department of Biotechnology and Veterinary Medicine, Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, Irkutsk, 664038, Russian Federation. E-mail: [demina2006@mail.ru](mailto:demina2006@mail.ru)

#### Information about authors:

Demina T.V., <http://0000-0003-2459-888X>; Kozlova I.V., <http://0000-0002-6324-8746>;

Lisak O.V., <http://0000-0003-3909-7551>; Suntsova O.V., <http://0000-0003-4057-2890>;

Paramonov A.I., <http://0000-0002-7156-4036>

**Acknowledgment.** This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 15-00615).

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

Received 13 July 2017

Accepted 17 October 2017

## Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) — природно-очаговая ней-инфекция, возбудителем которой является вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*. В последние годы в мире расширяются эндемичные области распространения вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и растет заболеваемость КЭ [1]. В России регистрация заболевания введена в 1944 г. С сентября 2012 г. КЭ официально подлежит регистрации в Европейском Союзе [2]. В каталоге Международного комитета по таксономии вирусов ВКЭ подразделяется на 3 субтипа: дальневосточный (ВКЭ-ДВС, TBEV-FE), европейский (ВКЭ-Евр, TBEV-EU) и сибирский (ВКЭ-Сиб, TBEV-Sib) [3, 4], которые в России принято также называть соответственно генотипами 1, 2 и 3. Кроме того, показано, что в Байкальском регионе России циркулируют представители еще двух предполагаемых генотипов, прототипами которых являются штаммы 178-79 (генотип 4) и 886-84 (генотип 5) [5—7]. ВКЭ-ДВС, чаще других вызывающий тяжелые симптомы КЭ, в незначительной пропорции встречается на большей части всего ареала ВКЭ, но преобладает на Дальнем Востоке, обнаружен в Китае и Японии. ВКЭ-Евр доминирует в очагах Центральной и Восточной Европы, является минорным на территории РФ, исключая Алтай, и пока не

выявлен на Дальнем Востоке. Кроме того, ВКЭ-Евр зафиксирован в Южной Корее [8]. ВКЭ-Сиб (или генотип 3) наиболее широко распространён по всему ареалу ВКЭ, доминирует на территории РФ, был изолирован в Казахстане (штамм Алма-Арасан [4]), но информация о его наличии в большинстве европейских стран, а также в Корее и Японии отсутствует. В Иркутской области и Республике Бурятия все три основных субтипа (генотипа) ВКЭ вовлечены в этиологию КЭ [5, 6], и недавно появились первые данные о полногеномных структурах штаммов ВКЭ из Сибири [9—11]. Предлагаемое исследование также посвящено этому вопросу, а именно определению и анализу полногеномной структуры представителей ВКЭ-Евр (или генотипа 2), изолированных на территории Алтая (Западная Сибирь) и Иркутской области (Восточная Сибирь). Среди изолятов ВКЭ, идентифицированных в качестве представителей ВКЭ-Евр, есть штамм 1G-98, полученный на территории Иркутской области в 1998 г. от больного лихорадочной формой КЭ, пострадавшего от укуса клеща в очаге, где штаммы, выделенные от клещей, стабильно определяются как представители ВКЭ-Сиб. Генотипическая принадлежность данного штамма была подтверждена путем секвенирования фрагмента генома (GenBank, KP666097).

Цель данной работы — анализ генетической структуры

Таблица 1

## Сибирские штаммы ВКЭ европейского субтипа с известными полногеномными структурами

Штамм	Год изоляции	Источник изоляции	Инв. № GenBank
Западная Сибирь (Алтайский край)			
Zmeinogorsk-1*	1986	<i>Ixodes persulcatus</i>	KY069124 (JN936370)
Zmeinogorsk-5*	1986	<i>persulcatus</i>	KY069125 (JN936373)
Zmeinogorsk-9*	1986	<i>persulcatus</i>	KY069126 (JN936375)
84.2	2007	<i>persulcatus</i>	NM120875
Восточная Сибирь (Иркутская область)			
1G-98*	1998	Человек	KY069119
118-71*	1971	<i>Spermophilus undulatus</i>	KY069120 (KT895091)
126-71*	1971	<i>I. persulcatus</i>	KY069123 (JN936333)
163-74*	1974	<i>persulcatus</i>	KY069121 (JN936334)
262-74*	1974	<i>persulcatus</i>	KY069122 (JN936338)
Sorex 18-10	2010	<i>Sorex spp.</i>	KP938507
IrkutskBR1456	2009	<i>persulcatus</i>	KP331443
IrkutskBR1434	2009	<i>persulcatus</i>	KP331442
IrkutskBR99	2008	<i>persulcatus</i>	KP331441

Примечание. \* — штаммы, геномы которых были расшифрованы в ходе данного исследования.

штаммов европейского субтипа ВКЭ, изолированных на территории Сибири, по результатам сопоставления фрагментов генома и полногеномных последовательностей.

## Материал и методы

**Штаммы ВКЭ.** В работе использовали штаммы ВКЭ из музейной коллекции Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека Иркутска (табл. 1). Штаммы выделяли путем внутримозгового заражения 1—3-дневных мышей-сосунков вирусной суспензией и после 2—3 пассажей на мышях хранили в лиофилизированном виде. Перед началом исследований их восстанавливали путем внутримозгового заражения белых мышей массой 5—6 г. Содержание животных и их умерщвление осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

**Нуклеотидные последовательности геномов штаммов ВКЭ** для сравнительного анализа были определены нами в ходе настоящей работы или взяты из международной компьютерной базы данных GenBank.

**Выделение РНК** осуществляли с помощью набора РИБО-преп («ИнтерЛабСервис», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

**Амплификация ДНК.** Обратную транскрипцию проводили с использованием набора Reverta L-100 («АмплиСенс», Россия), содержащего случайные гексаолигонуклеотиды. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли в 20 мкл реакционной смеси в соответствии с инструкциями производителя («БиоСан», Россия) с применением 3 мкл кДНК в качестве матрицы и пары соответствующих праймеров (табл. 2).

**Секвенирование ДНК.** Нуклеотидные последовательности продуктов ПЦР, очищенных на GFX-колонках («Amersham Biosciences», США) были определены с использованием автоматического секвенатора ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США).

**Анализ последовательностей ВКЭ** проведен с помощью программы MEGA 6.0 [12].

## Результаты

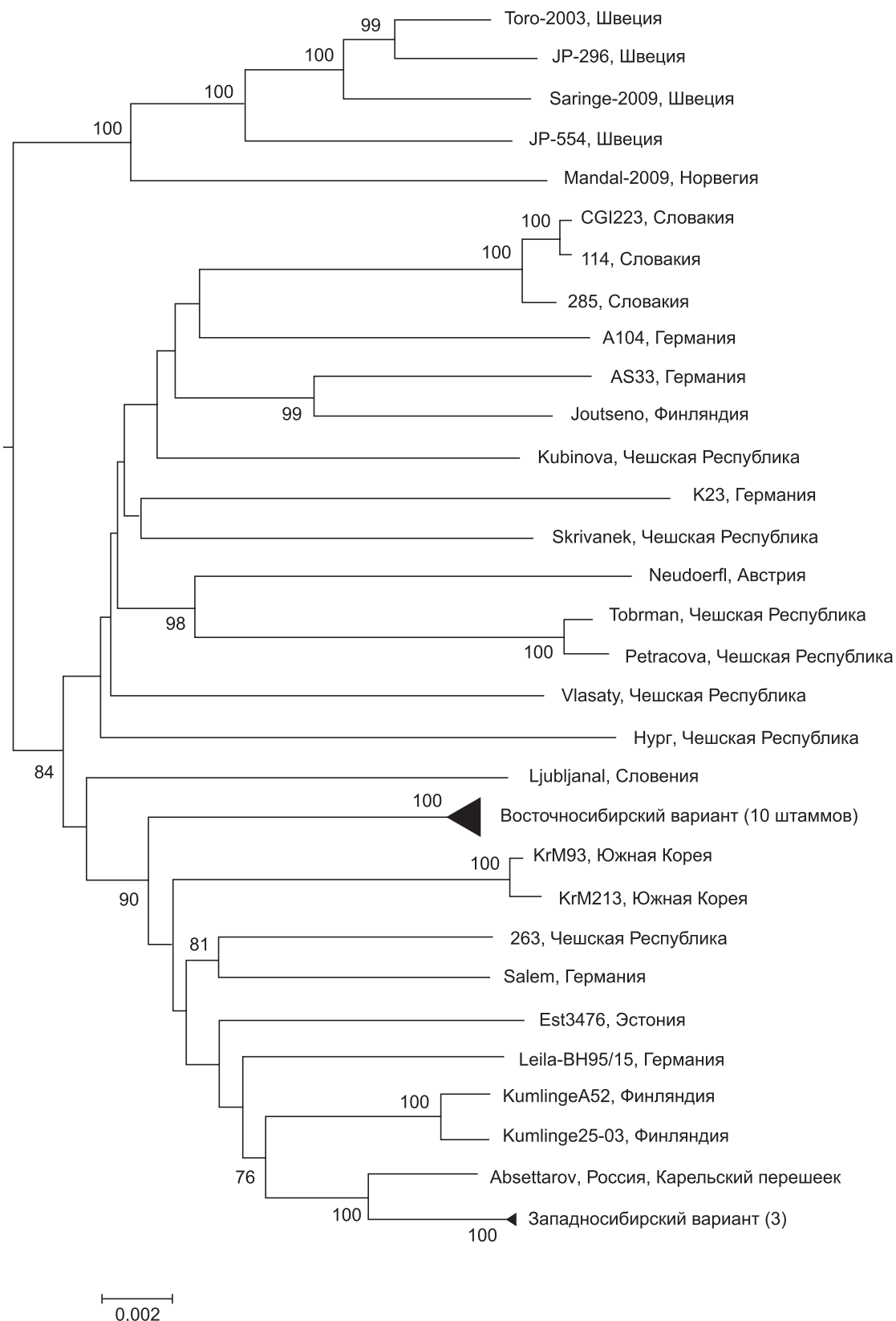
Расшифровано 8 полногеномных последовательностей штаммов, изолированных на территории Сибири (см. табл. 1), генотипическая принадлежность которых к ВКЭ-Евр предварительно была подтверждена с помощью методов молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК) [7] и секвенирования фрагментов генома (см. номера депонентов GenBank в табл. 1, указанные в скобках). Проанализированы полногеномные последовательности всех 152 штаммов ВКЭ, депонированных в GenBank (табл. 3). При филогенетическом сопоставлении этих последовательностей исследуемые штаммы из музейной коллекции, как и ожидалось, вошли в состав группы ВКЭ-Евр (см. рисунок). Всего в этой группе было 42 представителя, 13 из которых изолированы на территории Сибири (см. табл. 1).

При сравнении как кодирующей области генома, так и соответствующей ей последовательности полипротеина среди групп штаммов трёх основных генотипов различия между штаммами европейского генотипа оказались минимальными (3,1 и 1,5% соответственно) по сравнению с дальневосточным и сибирским генотипами. Это свидетельствует о более высокой степени их генетической однородности, чем у штаммов дальневосточного

(6,6 и 2,9%) и сибирского (7,8 и 4,2%) генотипов. При этом наименее тесные филогенетические отношения выявляются между представителями ВКЭ скандинавского полуострова (Швеция и Норвегия) и штаммами, изолированными в очагах всего остального ареала, включая территории других европейских стран, а также России и Южной Кореи. Максимальные показатели различий выявлены между штаммами Mandl-2009 из Норвегии и штаммом Нург из Чешской Республики.

При сопоставлении вновь расшифрованных последовательностей друг с другом оказалось, что сибирские штаммы образуют 2 группы, соответствующие географическому положению мест их изоляции. Длина генома у алтайских штаммов составляет 10 825 нуклеотидных оснований (н.о.), а у восточносибирских — 10 905 н.о. Как и у других известных представителей ВКЭ-Евр, геномы исследуемых штаммов содержат по 132 нуклеотида в 5'-некодирующей области (100% гомологии в обеих группах и 3% различий между группами) и по 10 242 н.о. в области, кодирующей полипротеин-предшественник 3 структурных и 7 неструктурных вирусных белков (более 99,9% гомологии внутри групп и 99,9% гомологии между группами). 3' — нетранслируемый участок исследуемых геномов сопоставим по протяженности и структуре с аналогичной областью штамма Нург (461 н.о.) и составляет для штаммов, выделенных на Алтае, 451 н.о., а для штаммов из Восточной Сибири — 531 н.о.

По итогам сравнения полной кодирующей области у 42 штаммов ВКЭ-Евр, изолированных из разных частей обширного ареала, установлено, что штаммы восточносибирского варианта сибирской популяции имеют по 97,4% гомологии с прототипным штаммом Neudoerfl, а представители западносибирского варианта — по 97,6%. В состав восточносибирского варианта вошли 9



Группа ВКЭ-Евр, сформированная в результате сопоставления кодирующей области 152 полногеномных последовательностей ВКЭ с помощью компьютерной программы MEGA 6.0 [12] методом объединения ближайших соседей с использованием двухпараметрической модели Кимуры.



Таблица 2

**Олигонуклеотидные праймеры, использованные для амплификации и секвенирования**

ПЦР-фрагмент	Праймер	Последовательность (5'—3')	Позиции в геноме ВКЭ (штамм Neudoerfl (U27495))
1	E23	AGATTTTCTTGCACGTGC	1—18
	E25R	CCTGGTCTATGGTCACACACTC	625—646
2	E27	ACTGTGATCAGGGCTGAAGG	511—530
	E27R	GGAGCCAGGCAGAGGAGCAC	943—962
3	E29	TGACCGTGGAAAGTGTGG	902—919
	E24	CTCTTCAGCCAAAGTGGC	1210—1227
4	E3	TCAATGGATGTGTGGCTTGA	1090—1109
	E5R	TGCACAACAAGGACACATCTCC	1510—1531
5	Ef1	GAGGAAGACGGCATCCTTCAC	1449—1469
	Er1	CATCAATGTGCGCCACAGGAAC	1783—1804
6	E31	CTGGTTGAATTTGGAGCTCC	1693—1712
	E31R	GGTGTATCAGCATGGCCAC	2032—2051
7	E33	CCCAGTGGGGCAGTGGCAC	1992—2011
	E4	CTCATGTTTCAGCCCAACCA	2368—2387
8	E7	GGCATAGAAAGGCTGACAGTG	2197—2217
	E10	GATACCTCTCTCCACACAACCAG	2515—2537
9	E35	TGGTTGGGCCTGAACATGAG	2368—2387
	E35R	CGTGTGTTGGTTCCTGTCTG	2973—2992
10	E12F	TTTGGAGTTGGCCTGAGAAC	2935—2954
	E12	CACCTTGCCACTCTCTGTGG	3365—3384
11	E13	ACAGGTGAAAGGACCATGGAAG	3249—3270
	E13RS	GTCACCATCTCTCGGACAGTG	3819—3839
12	E14F	TGTGTTTGAGCTGAGGGTGG	3765—3784
	E14	TCCACACAGCCACTCCATTC	4363—4382
13	E15-W	AGACGATCTTTCAGTGAACCAC	4201—4222
	E15R	CTGCACTGTCTCACCTTTCC	4874—4893
14	E16F	TGTCCTGCACACGATGTGGC	4740—4759
	E16	CAGGCGTCTGTTGACATAGG	5408—5427
15	E17	GGAAGACCCACAGAGTCCTC	5210—5229
	E17R	CTGGAGTAGTTCCTTCTCAAAGG	5783—5804
16	E18FS	GATGTTTGACTGGATCAC	5653—5672
	E18RS	CAATGAGTGAGAAGGTGTCG	6205—6224
17	E19	AGGACAAGATGCCAGAGGTGG	6143—6163
	E19RS	AGGGAGGCCAGCAGTACCAG	6715—6734
18	E20FS	CATCTGGTGCTTCGTTGTCC	6663—6682
	E20	GTCCAGACACCACAATGGCC	7272—7291
19	E21F	GTTCACACCATACATATCCACC	7059—7081
	E21RS	AGCCAGAGTCGGTGCCCAAG	7624—7643
20	E22F-W	AGGCCGGAGGCTGACACACTGTG	7537—7559
	E22R-W	CTCACCTCCACAGCGCATCTG	8120—8142
21	E23F	TGAAACTCCAAAGATGGTGACAAG	7995—8018
	E23R	GCGTTCCATGGCCAGCTGAG	8650—8669
22	NS5-1F	GACATGGCAGTATTGGGGCAG	8571—8591
	NS5-1R	GCTCCCCAGCCACATGTACC	9092—9111
23	NS5-2F	GCAGCTCGTGGATGAAGAGAGAG	8964—8986
	NS5-2RS	CCACTGACGAGCATTTCTTCC	9634—9653
24	NS5-3F	CACCCTCACCAACATAAAGG	9501—9520
	NS5-3R	TGCATGAAGGGGTTGTCC	10 125—10 142
25	NS5-4F	GGAGCCTGGATGACCACAG	10 069—10 087
	NS5-4R	TCCAGGTTTTGCTCAGTCAC	10 387—10 406
26	3UTR-1F	GCCAAGAACATTTGGGGAGC	10 246—10 265
	3UTR-1R	CTTCCCTCCTCCCGGAAGC	10 968—10 986
27	3UTR-2F	CAGTGAGAGTGGCGACGGG	10 844—10 862
	3UTR-2R	AGCGGGTGTTTTTCCGAGTC	11 122—11 141

штаммов из Иркутской области и штамм 84.2 с Алтая. Различия по кодирующей части генома в этой группе из 10 штаммов не превышают 0,5%. Алтайские штаммы Zmeinogorsk-1, Zmeinogorsk-5 и Zmeinogorsk-9 составили группу западносибирского варианта (более 99,9%). Наиболее близким к ним по уровню гомологии оказался российский штамм Absettarov, изолированный в 1951 г. от больного КЭ человека, инфицированного в природном очаге, расположенном на Карельском перешейке (99,3% гомологии по кодирующей части генома со штаммами из Змеиногорска и 97,7% — со штаммом Neudoerfl).

В результате анализа всех представленных в GenBank нуклеотидных последовательностей (фрагментов генома в том числе) установлено, что сибирская популяция ВКЭ-Евр оказалась представлена двумя группами штаммов, обозначенными нами как восточносибирский и западносибирский варианты. Циркуляция восточносибирского варианта подтверждена в период с 1971 по 2010 г. в Восточной Сибири (9 штаммов из Иркутской области), в 2007 г. — в Алтайском крае (штамм 84.2, изолированный из *I. persulcatus*) и Беларуси (штамм № 256 из *I. ricinus*) предположительно в 1940 г. Западносибирский вариант европейского субтипа зарегистрирован на территории Алтая в 1986 г. (3 штамма из Змеиногорска) и в 2007 г. (Altay-103). Наиболее близкий по степени гомологии к этой группе штамм Absettarov был изолирован в европейской части ареала.

При сопоставлении 42 полипротеиновых последовательностей ВКЭ-Евр по 3414 аминокислотных остатков каждая вне зависимости от источника выделения восточносибирский и западносибирский варианты расходятся по сочетаниям аминокислотных замен в 29 позициях у 9 из 10 белков вируса (табл. 4), причём в белке Е присутствует всего одна такая позиция (Е-246). В то же время по двум другим позициям этого белка — Е-21 и Е-335 — наблюдается дивергенция восточносибирского варианта сибирской популяции ВКЭ-Евр (см. табл. 4; 5). Ни одной замены не было обнаружено в белке NS2B.

При сравнении известных транслированных фрагментов генома ВКЭ оказалось, что замена А→S (Е-47) у восточносибирского штамма Sorex18-10 характерна не только для представителей ВКЭ-ДВС и ВКЭ-Сиб (см. табл. 5), но имеется также у штамма 886-84 — прототипа предполагаемого генотипа 5 и еще у двух штаммов ВКЭ-Евр. Это изоляты РНК из клещей *I. ricinus* — Bul\_175\_10 (инвентарный номер KC154175; выделен в 2010 г.) в Германии и LU\_Dagmarsellen3

Таблица 3

Территориальная и генотипическая принадлежность штаммов ВКЭ с расшифрованными полногеномными последовательностями (на июнь 2017 г.)

Страны	Генотип					Итого
	1	2	3	4	5	
Россия	76	14	16	1	1	110
Азия						
Киргизия	—	—	1	—	—	
Монголия	—	—	3	—	—	
Китай	6	—	1	—	—	15
Южная Корея	—	2	—	—	—	
Япония	2	—	—	—	—	
Европа						
Австрия, Чешская Республика, Германия,						
Словения, Словакия	—	17	—	—	—	
Эстония	—	1	2	—	—	27
Латвия	—	—	1	—	—	
Норвегия, Швеция, Финляндия	—	8	—	—	—	
Всего...	84	42	24	1	1	152

(HM468144; 2009 г.) — в Швейцарии. Кроме того, замена А→V в позиции E-246 у штаммов из Змеиногорска обнаружена у изолята 2201 (KC292217), полученного из пула клещей, собранных в Германии. Вид клещей и год изоляции геномной РНК авторами не указаны.

### Обсуждение

Известно, что очаги КЭ на территории Сибири формируются под действием сурового резко-континентального климата и существенно отличаются по ландшафтным особенностям, составу переносчиков и резервуарных хозяев как друг от друга, так и от очагов на территории Европы, которая, являясь зоной доминирования ВКЭ европейского субтипа, расположена в умеренном климатическом поясе. Тем не менее все известные штаммы ВКЭ-Евр, изолированные на территориях от крайних западных (Норвегия, Германия) до крайних восточных границ ареала (Южная Корея), отличаются более высокой степенью гомологии друг от друга, чем штаммы внутри групп, соответствующих ВКЭ-ДВС и ВКЭ-Сиб. Следовательно, можно заключить, что ВКЭ европейского субтипа на территории Евразии обладает высокой степенью стабильности генома, хотя существует в условиях значительно различающихся очаговых экосистем.

Сибирские штаммы по итогам сравнения нуклеотидных последовательностей (полных геномов и их фрагментов) распределились по двум группам — западносибирскому и восточносибирскому вариантам ВКЭ-Евр. Западносибирский вариант ВКЭ-Евр демонстрирует устойчивую циркуляцию на Алтае. Судя по представленным здесь данным и сообщению В.В. Якименко и соавт. [13], к западносибирскому варианту ВКЭ-Евр относятся не только штаммы из Змеиногорска и Altay-103 (см. раздел «Результаты»), но также штаммы из Кош-Агачского района Республики Алтай и из Республики

Таблица 4

Аминокислотные замены, характерные для сибирских штаммов ВКЭ-Евр, выявленные при сопоставлении 42 полипротеиновых структур

Белок	Позиция по белку	Штаммы			другие регионы
		западносибирский вариант	восточносибирский вариант		
			1971—2007 гг.	2008—2010 гг.	
С	31	A	V		V, A
	77	K			K
prM	147	L			L
	159	A	V		V
E	21	V	V	I	V
	246	V	A		A
	335	T	T	I	T
NS1	154	L	F		F
	174	E	K		E
	237	V	M		V
	287	I	T		T, V, A
NS2A	294	R	K		K
	42	I	V		V
	53	I	M		I, M
NS3	124	S	G(E*)		S, N
	141	I	M		I
	33	L	F		F, L
	447	T	I		T
	NS4A	32	R	H	
55		V	A		V, A
NS4B	21	Q	R		Q, R
	56	I	V		I
NS5	119	L	F		L, F
	101	K	R		R, K
	290	G	S		S, N
	434	R	H		H, R, Q
	521	K	Q		K, R
	699	A	P		F, V
	701	L	F		F, L
724	T	A		A, T, S	
897	K	R		R, K	

Примечание. В сером поле представлены замены, характерные только для указанной группы штаммов; \* — замена, специфичная для штамма IG-98.

Казахстан (годы изоляции с 1990 по 2010, нуклеотидные последовательности отсутствуют в общем доступе). Примечательно, что к генетическому кластеру западносибирского варианта ВКЭ-Евр тесно примыкает штамм Absettarov из Европейской части России, изолированный 66 лет назад (см. рисунок). Представители восточносибирского варианта ВКЭ-Евр в основном обнаружены в Иркутской области, исключая штаммы 84.2 (Алтай) и 256 (Беларусь). Как видим, очаги изоляции гомологичных последовательностей расположены на значительном удалении друг от друга — более 4 тыс. км.

Таблица 5

## Аминокислотные замены в белке E у 13 штаммов генотипа 2 ВКЭ из Западной и Восточной Сибири

Субтип, штамм	№ позиций				
	21	47	67	246	335
Дальневосточный субтип	V	S	D,N	A,V	T
Сибирский субтип	V	S	D,N	A	T
Европейский субтип	V	A	D	A	T
Западносибирские штаммы					
Zmeinogorsk-1*	V	A	D	V	T
Zmeinogorsk-5*	V	A	D	V	T
Zmeinogorsk-9*	V	A	D	V	T
84.2	V	A	D	A	T
Восточносибирские штаммы					
1G-98*	V	A	G	A	T
118-71*	V	A	D	A	T
126-71*	V	A	D	A	T
163-74*	V	A	D	A	T
262-74*	V	A	D	A	T
Sorex 18-10	I	S	D	A	I
IrkutskBR 1456-09	I	A	D	A	I
IrkutskBR 1434-09	I	A	D	A	I
IrkutskBR 99-08	I	A	D	A	I

Примечание. В группе дальневосточного субтипа сопоставлены полипротеиновые структуры 84 штаммов, в группе сибирского субтипа — 24, в группе европейского субтипа — 29; \* — штаммы, являющиеся основными объектами настоящего исследования; светло-серым цветом обозначены нехарактерные для генотипа 2 ВКЭ замены, белым шрифтом в темном поле — уникальная (штамм-специфическая) замена.

При сопоставлении полипротеиновых структур эти варианты различаются по сочетаниям аминокислотных замен во всех белках, кроме NS2B (см. табл. 4). Отсутствие замен в NS2B-белке, возможно, связано с той важной ролью, которую он играет в репродукции ВКЭ. Известно, что NS2B-белок образует комплекс с белком NS3, обеспечивая ему правильную конформацию, и выступает в качестве кофактора вирусной сериновой протеазы NS2B-NS3 [14]. Кроме того, было обнаружено, что белок NS2B локализован в местах синтеза вирусной РНК и способен к взаимодействию с белком NS5 и 3'-некодирующей областью, что предполагает его участие в репликации вирусного генома [15]. Поэтому любые изменения в аминокислотной последовательности белка NS2B с большой вероятностью приведут к изменению сайта связывания с NS3 и потере протеазной активности.

У исследованных сибирских штаммов ВКЭ-Евр не выявлено специфических замен, соответствующих определенному источнику выделения, кроме замены D→G в позиции E-67 у штамма 1G-98 (см. табл. 5). Мутация D67G в белке E ранее была отмечена для клона 18А штамма Absettarov из группы ВКЭ-Евр [16, 17], а также описана для одного штамма ВКЭ-Сиб, изолированного от смертельно инфицированного индивидуума в 2001 г. (Yar46-2 (EU444079)), в работе М. Хаснатинова и соавт. [18] и для 7 штаммов ВКЭ-ДВС. Штаммы ВКЭ-ДВС с такой мутацией были выделены в Эстонии

в 1998 г. от *A. agrarius* (Est2546 (DQ393779)), в 1943 г. в северо-западном регионе России (Volkhov-Khromov (FJ214114)) и в 1942 и 1943 гг. на Урале (T-blood (AF091019), Ural-Nina (FJ214119), Ural-Ponomarev (FJ214118), Ural-Belyaeva (FJ214117) и Ural-Antipov (FJ214115)). Значимая аминокислотная замена D→G в позиции E-67 повышает заряд молекулы [16—18]. Пока она выявлена только у отдельных представителей всех трёх основных генотипов ВКЭ и только у изолятов ВКЭ, полученных от млекопитающих (от больных КЭ людей и грызуна). Закономерность это или случайность — покажут дальнейшие исследования.

## Закключение

Европейский субтип ВКЭ на территории всего евроазиатского ареала обладает более высокой степенью стабильности генома, чем ВКЭ-ДВС и ВКЭ-Сиб. При филогенетическом сопоставлении 152 имеющихся в общем доступе полногеномных последовательностей ВКЭ штаммы ВКЭ-Евр образуют единый кластер из 42 представителей, в состав которого входят 13 представителей из Сибири. Все сибирские штаммы разделяются на западносибирский и восточносибирский варианты ВКЭ-Евр, поскольку большинство штаммов каждого из двух вариантов изолированы в соответствующем регионе. Эти варианты различаются по сочетаниям аминокислотных замен во всех белках, кроме NS2B. Штаммы, аналогичные восточносибирскому варианту европейского субтипа, зафиксированы на Алтае (84.2, 2007) и в Беларуси (N256, предположительно 1940), а ближайшим родственником представителей западносибирского варианта ВКЭ-Евр является штамм Absettarov из европейской части России.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 15-00615

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—4, 8, 10—12, 14—16, 18 см. REFERENCES)

- Верхозина М.М., Злобин В.И., Козлова И.В., Дорошенко Е.К., Лисак О.В., Дёмина Т.В. и др. Молекулярная эпидемиология и экология вируса клещевого энцефалита в Восточной Сибири. Новосибирск: СибАК; 2017.
- Козлова И.В., Дорошенко Е.К., Лисак О.В., Джигоев Ю.П., Верхозина М.М., Дёмина Т.В. и др. Видовое и генетическое разнообразие возбудителей клещевых инфекций на территории Восточной Сибири. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2012; (2-2): 75—82.
- Дёмина Т.В., Джигоев Ю.П., Верхозина М.М., Козлова И.В., Ткачев С.Е., Дорошенко Е.К. и др. Молекулярная эпидемиология вируса клещевого энцефалита: географическая вариабельность, определяемая методом молекулярной гибридизации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2009; (3): 27—39.
- Андаев Е.И., Беликов С.И., Кулакова Н.В., Борисова Т.И., Сидорова Е.А. Характеристика штамма вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа, изолированного от пациента с прогрессирующим течением болезни. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014; (4): 31—7.
- Якименко В.В., Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Малькова М.Г., Любенко А.Ф., Рудакова С.А. и др. О распространении вируса клещевого энцефалита европейского субтипа в западной Сибири и на Алтае. Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2015; (27): 29—35.
- Козловская Л.И., Осолодкин Д.И., Карганова Г.Г. Анализ молекулярной динамики белков E вариантов ВКЭ на основе разности корреляционных матриц. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. Медицинская вирусология. 2013; 27(2): 42—53.



## REFERENCES

1. Kunze U. The International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW TBE): Review of 17 years of activity and commitment. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7(3): 399—404.
2. Amato-Gauci A.J., Zeller H. Tick-borne encephalitis joins the diseases under surveillance in the European Union. *Euro Surveill.* 2012; 17(42): 2—3.
3. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* San Diego: Elsevier Academic Press; 2012.
4. 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.
5. Verkhozina M.M., Zlobin V.I., Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Demina T.V. et al. *Molecular Epidemiology and Ecology of Tick-borne Encephalitis Virus in Eastern Siberia [Molekulyarnaya epidemiologiya i ekologiya virusa kleshchevogo entsefalita v Vostochnoy Sibiri].* Novosibirsk: SibAK; 2017. (in Russian)
6. Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Dzhioev Yu.P., Verhozina M.M., Demina T.V. et al. Species and genetic diversity of agents of tick-borne infections in the territory of Eastern Siberia. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2012; (2-2): 75—82. (in Russian)
7. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Doroshchenko E.K. et al. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus: geographical variability, determined by the method of molecular hybridization. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2009; (3): 27—39. (in Russian)
8. Kim S.Y., Yun S.M., Han M.G., Lee I.Y., Lee N.Y., Jeong Y.E. et al. Isolation of tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8(1): 7—13.
9. Andaev E.I., Belikov S.I., Kulakova N.V., Borisova T.I., Sidorova E.A. Characterization of the virus of tick-borne encephalitis virus of the Siberian subtype isolated from a patient with a progressive course of the disease. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2014; (4): 31—7. (in Russian)
10. Adelshin R.V., Melnikova O.V., Karan L.S., Andaev E.I., Balakhonov S.V. Complete Genome Sequences of Four European Subtype Strains of Tick-Borne Encephalitis Virus from Eastern Siberia, Russia. *Genome Announc.* 2015; 3(3): 00609—15.
11. Kulakova N.V., Andaev E.I., Belikov S.I. Tick-borne encephalitis virus in Eastern Siberia: complete genome characteristics. *Arch. Virol.* 2012; 157(11): 2253—5.
12. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(12): 2725—9.
13. Yakimenko V.V., Tkachev S.E., Makenov M.T., Mal'kova M.G., Lyubenko A.F., Rudakova S.A. et al. On the spread of tick-borne encephalitis virus of the European subtype in western Siberia and the Altai. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii.* 2015; (27): 29—35. (in Russian)
14. Perera R., Kuhn R.J. Structural proteomics of dengue virus. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11(4): 369—77.
15. Chambers T.J., Nestorowicz A., Amberg S.M., Rice C.M. Mutagenesis of the yellow fever virus NS2B protein: effects on proteolytic processing, NS2B-NS3 complex formation, and viral replication. *J. Virol.* 1993; 67(11): 6797—807.
16. Kozlovskaya L.I., Osolodkin D.I., Shevtsova A.S., Romanova L.Iu., Rogova Y.V., Dzhivianian T.I. et al. GAG-binding variants of tick-borne encephalitis virus. *Virology.* 2010; 398(2): 262—72.
17. Kozlovskaya L.I., Osolodkin D.I., Karganova G.G. Analysis of the molecular dynamics of TBEV proteins E variants based on the difference of correlation matrices. *Trudy Instituta poliomielit i virusnykh entsefalitov imeni M.P. Chumakova RAMN. Meditsinskaya virusologiya.* 2013; 27(2): 42—53. (in Russian)
18. Khasnatinov M., Ustanikova K., Frolova T.V., Pogodina V.V., Bochkova N.G., Levina L.S. et al. Non-haemagglutinating flaviviruses: molecular mechanisms of the emergence of new strains via adaptation to European ticks. *PLoS ONE.* 2009; 4(10): e7295.

Поступила 13.07.18  
Принята в печать 17.10.18

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.831-002:578.833.261-078.33

**Чернохаева Л.Л.<sup>1</sup>, Майкова Г.Б.<sup>1</sup>, Рогова Ю.В.<sup>1</sup>, Романенко В.В.<sup>2</sup>, Анкудинова А.В.<sup>3</sup>, Килячина А.С.<sup>2</sup>,  
Ворович М.Ф.<sup>1,4</sup>, Карганова Г.Г.<sup>1,4</sup>**

## СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА И РЕАКЦИИ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ПРИ ОЦЕНКЕ ЗАЩИЩЁННОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ОТ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», 108819, г. Москва;

<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», 620078, г. Екатеринбург;

<sup>3</sup>ФБУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзор, 620072, г. Екатеринбург;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, г. Москва

При изучении иммунной прослойки населения и для оценки иммуногенности вакцинных препаратов обычно используют метод иммуноферментного анализа (ИФА), который даёт представление об общем пуле противовирусных антител, а также реакцию нейтрализации (РН), по результатам которой можно судить о защищённости человека от вируса. Защитным титром в ИФА считается 1:100, а в РН 1:10. Очевидно, что соотношение общего пула и нейтрализующих вирус антител может варьировать как при естественной иммунизации, так и после вакцинации.

В данной работе методами ИФА и РН были исследованы сыворотки крови жителей Свердловской области в возрасте от 1 года до 60 лет, собранные до иммунизации и через 30 дней после двух иммунизаций инактивированными вакцинами против клещевого энцефалита разных производителей. Введение препаратов осуществляли либо по стандартной схеме (интервал между иммунизациями 30 дней), либо по экстренной схеме (интервал 14 дней). Было показано, что данные о наличии противовирусных антител в защитных титрах, полученные по результатам ИФА и РН, совпадают более чем в 85% случаях. Расхождения между

*Для корреспонденции:* Карганова Галина Григорьевна, д-р биол. наук, проф., зав. лаб. Биологии арбовирусов ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», г. Москва.  
E-mail: karganova@bk.ru

результатами двух методов в первую очередь, связаны с их разной чувствительностью. Доля серопозитивных реципиентов по данным РН всегда была больше, чем по результатам ИФА. Тем не менее, среди 174 обследованных детей около 5% реципиентов после двукратной иммунизации были серопозитивны при исследовании в ИФА, но не имели нейтрализующих антител в защитных титрах.

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита; вакцина против КЭ; иммунная прослойка населения; ELISA; ИФА; реакция нейтрализации; поствакцинальный иммунитет.

**Для цитирования:** Чернохаева Л.Л., Майкова Г.Б., Рогова Ю.В., Романенко В.В., Анкудинова А.В., Килиячина А.С., Ворович М.Ф., Карганова Г.Г. Сопоставление результатов иммуноферментного анализа и реакции нейтрализации при оценке защищенности населения от клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(1): 36-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-36-40>

**Chernokhaeva L.L.<sup>1</sup>, Maikova G.B.<sup>1</sup>, Rogova Yu.V.<sup>1</sup>, Romanenko V.V.<sup>2</sup>, Ankudinova A.V.<sup>3</sup>, Kilyachina A.S.<sup>2</sup>, Vorovich M.F.<sup>1,4</sup>, Karganova G.G.<sup>1,4</sup>**

### COMPARISON OF RESULTS OBTAINED BY ELISA AND NEUTRALIZATION TEST IN ASSESSING THE PROTECTION OF POPULATION FROM TICK-BORNE ENCEPHALITIS

<sup>1</sup>M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, 108819, Russian Federation;

<sup>2</sup>Center of Hygiene and Epidemiology in Sverdlovsk Region, Ekaterinburg, 620078, Russian Federation;

<sup>3</sup>Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Ekaterinburg, 620072, Russian Federation;

<sup>4</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russian Federation

The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the neutralization test (NT) are often used to determine the level of seropositive population and to evaluate the immunogenicity of vaccines. ELISA provides information on the total pool of antiviral antibodies, while NT allows the antiviral protection level of a person to be estimated. It is assumed that the 1:100 titer in ELISA and the 1:10 titer in NT are protective. Obviously, the ratio of the total pool and virus neutralizing antibodies can vary as a result of natural immunization or vaccination.

In this study, two methods were used to study the blood serum samples taken in a group of inhabitants of the Sverdlovsk region aged from 1 to 60 years. The samples were collected before immunization and 30 days after two immunizations with inactivated vaccines against tick-borne encephalitis of different manufacturers. Immunizations were performed either according to a standard scheme (30-day interval between immunizations), or according to an emergency scheme (14-day interval). It was shown that the data on the presence of antiviral antibodies in protective titers obtained by ELISA and NT were consistent in more than 85% of cases. The discrepancies between the data are due, in the first place, to the difference in the sensitivities of the two methods. The proportion of seropositive people according to NT data is always greater than that according to the results of ELISA. Nevertheless, among 174 children, about 5% of recipients after a double immunization were seropositive according to ELISA, but did not have neutralizing antibodies in protective titers.

**Keywords:** tick-borne encephalitis virus; vaccine against tick-borne encephalitis; level of seropositive population; ELISA; neutralization test; post-vaccination immune response.

**For citation:** Chernokhaeva L.L., Maikova G.B., Rogova Yu.V., Romanenko V.V., Ankudinova A.V., Kilyachina A.S., Vorovich M.F., Karganova G.G. Comparison of results obtained by elisa and neutralization test in assessing the protection of population from tick-borne encephalitis. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(1): 36-40. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-36-40>

**For correspondence:** Galina G. Karganova, Dr. Biol. Sci., Professor, Head of the Laboratory of biology of arboviruses, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, 108819, Russian Federation. E-mail: [karganova@bk.ru](mailto:karganova@bk.ru)

#### Information about authors:

Karganova G.G., <http://orcid.org/0000-0002-8901-6206>

**Acknowledgment.** This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 15-14-00048).

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

Received 05 October 2017

Accepted 17 October 2017

## Введение

Клещевой энцефалит представляет серьёзную проблему для здравоохранения стран Северной Евразии. В настоящее время около 3000 случаев заболевания регистрируется ежегодно в Европе [1] и России [2].

Возбудителем заболевания является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), который принадлежит к группе переносимых клещами флавивирусов млекопитающих. ВКЭ подразделяют на три генотипа: дальневосточный, сибирский и европейский [3]. В последнее время описаны ещё две филогенетические группы ВКЭ, которые значительно отличаются от известных генотипов [4, 5] и распространены на юге Восточной Сибири и в Монголии. Описан также новый вариант вируса, выделенный на юге Западной Сибири [6].

Одним из критериев защищенности человека от ВКЭ

является наличие противовирусных антител (АТ) в сыворотке крови. Наиболее информативные данные получают при оценке титров нейтрализующих антител (нАТ) [7]. Так как определение титров нАТ не всегда возможно по техническим и прочим причинам, используют более доступный метод иммуноферментного анализа (ИФА), дающий представление об общем пуле противовирусных АТ. В настоящий момент титры 1:100 в ИФА и 1:10 в реакции нейтрализации (РН) считаются минимальными защитными титрами АТ против ВКЭ [8].

При изучении иммунной прослойки населения обычно используют ИФА. При исследовании поствакцинального иммунного ответа оценку эффективности вакцинного препарата проводят на основании данных РН или исследуют сыворотки реципиентов обоими методами. Тем не менее работ, посвящённых сопо-

ставлению результатов, полученных данными методами, мало [9—11].

**Материал и методы**

**Вакцины.** Для вакцинации взрослых старше 16 лет использовали вакцину «Клещ-Э-Вак» серия № 3.2009ж, производства «ПИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН» (Москва, Россия) и вакцину «ЭнцеВир» серия № 500809, производства НПО «Микроген» (Томск, Россия). Для вакцинации детей в возрасте от 1 года были использованы вакцины «Клещ-Э-Вак» серия №6.2009ж и вакцина «ФСМЕ-ИММУН Джуниор», серия VNR1J08D, производства «Baxter» (Австрия).

**Клетки.** Культивирование клеток СПЭВ (почки эмбриона свиньи) из лабораторной коллекции описано ранее [12].

**Вирусы.** В работе использовали штамм Софьин (Ген-Банк КС806252), выделенный в 1937 г. в Приморском крае из мозга умершего человека. Вирус был использован в виде 10% суспензии мозга инфицированных мышей, которая хранилась при -70°C.

**Сыворотки крови реципиентов вакцин.** В исследовании использовали сыворотки венозной крови 300 жителей Свердловской области (из них 124 в возрасте от 17 до 60 и 176 в возрасте от 1 года до 16 лет). Иммунизация проводилась с интервалом 30 дней между прививками (стандартная схема), а также с интервалом 14 дней (экстренная схема). Использовали сыворотки, собранные до иммунизации и через 30 дней после второй иммунизации.

**Определение иммуногенности**

*Иммуноферментный анализ (ИФА).*

Титры антител в сыворотках реципиентов определяли в ИФА с использованием набора реагентов «ВектоВКЭ-IgG» D-1156 (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с инструкцией по применению. До постановки ИФА полученные сыворотки хранили при температуре от 2°C до 8°C не более 5 сут.

*Реакция нейтрализации бляшек (РН).*

РН проводили в культуре клеток СПЭВ на пластиковых 6-луночных панелях, как описано ранее [13]. За титр сыворотки принимали максимальное разведение сыворотки, подавляющее 50% бляшек. В каждый опыт включали соответствующие контроли: отрицательную и положительную сыворотку крови человека с известным титром противовирусных АТ и контроль клеток. Расчёт титров АТ, подавляющих 50% бляшек, осуществляли по модифицированному методу Рида и Менча [14].

*Статистический анализ.*

Анализ достоверности различий между группами реципиентов проводили с помощью Хи-квадрата.

**Результаты**

Для сравнения данных, полученных с помощью ИФА и РН, были использованы пробы сыворотки крови взрослого населения и детей, собранные в Свердловской области при проведении клинического исследования в 2010—2011 гг. [15—18]. Основное внимание в данной работе было уделено не столько анализу корреляции между титрами антител, определёнными методами ИФА и РН, сколько данным о

защищённости реципиентов, полученным с помощью этих методов.

*Сравнительная оценка ИФА и РН при определении иммунной прослойки.*

Пробы сывороток, собранные до иммунизации, использовали для анализа противовирусного иммунитета, который индуцируется при встрече с вирусом в случае бессимптомной инфекции и который обычно определяют при оценке иммунной прослойки населения с помощью ИФА.

Как видно из табл. 1, в Свердловской области среди обследованного взрослого населения 53,6% имели нАТ в защитных титрах до вакцинации, при этом 17,8% из них были серонегативными в ИФА. Для данной выборки по результатам ИФА серопозитивными было 30,6%. Совпадение результатов наблюдали в 85,5% случаев.

89,8% детского контингента до иммунизации не имели противовирусных АТ. Совпадение результатов двух методов по количеству детей, имеющих защитные титры АТ, составило 89,2%.

Обращает на себя внимание тот факт, что до иммунизации был зарегистрирован 1 ребенок (возраст 2 года), у которого были выявлены АТ только в ИФА в титре 1:100 при отсутствии нАТ.

*Сравнительная оценка методов ИФА и РН при определении уровня серопротекции после двукратной иммунизации взрослых реципиентов вакцинами против КЭ.*

Далее было проведено сравнение двух методов для оценки поствакцинального иммунного ответа. Для этого использовали сыворотки взрослых реципиентов, иммунизированных по стандартной и экстренной схемам вакциной «Клещ-Э-Вак» и «ЭнцеВир». Результаты приведены в табл. 2.

После двух иммунизаций обеими вакцинами по стандартной схеме уровень серопротекции, т. е. количество реципиентов, имеющих защитные титры АТ, составил 100% по данным РН и ИФА. При иммунизации по экстренной схеме всего несколько реципиентов (4,9%) остались серонегативными по данным ИФА, но имели защитные титры нАТ. Различия по уровню серопротекции, по данным ИФА, между группами реципиентов, привитых по стандартной и экстренной схемам, статистически недостоверны (Хи-квадрат). Совпадение между данными, полученными двумя методами, составило 97,5%.

Таблица 1

**Оценка иммунитета против ВКЭ, индуцируемого при естественной иммунизации, методами ИФА и РН**

Реципиенты	Количество	Количество людей с защитными титрами АТ*						
		РН-			РН+			
		Всего	ИФА-	ИФА+	Всего	ИФА-	ИФА+	
Взрослые (17—60 лет)	124	58 (46,8)	58 (46,8)	0 (0)	66 (53,2)	28 (17,8)	6 (3,6)	38 (30,6)
Дети (1—16 лет)	176	158 (89,8)	157 (89,2)	1 (0,6)	18 (10,2)	18 (10,2)	3 (1,7)	0

Примечание. \* здесь и далее — «ИФА-» — отрицательный результат в ИФА, «ИФА+» — титр в ИФА 1:100 и выше; «РН-» — титр нАТ ниже 1:10, «РН+» — титр в РН 1:10 и выше. В скобках указан процент.



Таблица 2

Оценка с помощью ИФА и РН поствакцинального иммунного ответа против ВКЭ через 30 дней после двукратной иммунизации взрослого населения вакцинами «Клещ-Э-Вак» и «ЭнцеВир» по стандартной и экстренной схемам

Вакцина	Количество реципиентов	Количество реципиентов с защитными титрами АТ*						
		РН-			РН+			
		Всего	ИФА-	ИФА+	Всего	ИФА-		ИФА+
Всего	Из них с титрами в РН меньше 1:100							
Стандартная схема иммунизации								
«Клещ-Э-Вак»	29	0	0	0	29	0	0	29
					(100)			(100)
«ЭнцеВир»	29	0	0	0	29	0	0	29
					(100)			(100)
Обе вакцины	58	0	0	0	58	0	0	58
					(100)			(100)
Экстренная схема иммунизации								
«Клещ-Э-Вак»	32	0	0	0	32	1	1	31
					(100)	(3,1)		(96,4)
«ЭнцеВир»	29	0	0	0	29	2	1	27
					(100)	(6,9)		(93,1)
Обе вакцины	61	0	0	0	61	3	2	58
					(100)	(4,9)		(95,1)
Суммарно по обеим схемам								
Обе вакцины	119	0	0	0	119	3	2	116
					(100)	(4,9)		(97,4)

Таблица 3

Оценка с помощью ИФА и РН поствакцинального иммунного ответа против ВКЭ через 30 дней после двукратной иммунизации детей вакцинами «Клещ-Э-Вак» и «ФСМЕ-ИММУН Джуниор» по стандартной и экстренной схемам

Вакцина	Количество реципиентов	Количество реципиентов с защитными титрами АТ*						
		РН-			РН+			
		Всего	ИФА-	ИФА+	Всего	ИФА-		ИФА+
Всего	Из них с титрами в РН меньше 1:100							
Стандартная схема иммунизации								
«Клещ-Э-Вак»	61	5	0	5	56	3	2	53
		(8,2)		(8,2)	(91,8)	(4,9)		(86,9)
«ФСМЕ-ИММУН»	50	3	1	2	47	1	1	46
		(6,0)	(2,0)	(4)	(94)	(2,0)		(92,0)
Обе вакцины	111	8	1	7	103	4	3	99
		(7,2)	(0,9)	(6,3)	(92,8)	(3,6)		(89,2)
Экстренная схема иммунизации								
«Клещ-Э-Вак»	35	3	1	2	32	4	2	28
		(8,6)	(2,8)	(5,7)	(91,4)	(11,4)		(80,0)
«ФСМЕ-ИММУН»	28	0	0	0	28	3	1	25
					(100)	(10,7)		(89,3)
Обе вакцины	63	3	1	2	60	7	3	53
		(4,8)	(1,6)	(3,2)	(95,2)	(11,1)		(84,1)
Суммарно по обеим схемам								
Обе вакцины	174	11	2	9	163	11	6	152
		(6,3)	(1,1)	(5,2)	(93,7)	(6,3)		(87,4)

Сравнительная оценка методов ИФА и РН при определении уровня серопротекции после двукратной иммунизации детей вакцинами против КЭ.

Аналогичный анализ был проведён для детей в возрасте от 1 года до 16 лет, дважды иммунизированных вакциной «Клещ-Э-Вак» и «ФСМЕ-ИММУН Джуниор» по стандартной и экстренной схемам (табл. 3).

При иммунизации детей уровень серопротекции через 30 дней после двух иммунизаций в зависимости от схемы иммунизации и использованной вакцины по данным РН составил от 91,4 до 100%, а по данным ИФА от 85,7 до 96,0%. Различия групп детей, привитых разными вакцинами или по разным схемам, по показателю серопротекции статистически не достоверны (Хи-квадрат,  $p > 0,005$ ). Совпадение между данными, полученными двумя методами, составило 88,5%, что статистически достоверно меньше, чем у взрослых (Хи-квадрат,  $p = 0,005$ ).

Обращает на себя внимание группа детей (5,2%), серопозитивных по данным ИФА, но не имеющих защитных нейтрализующих АТ. Эта группа не отличалась от остальных участвующих в эксперименте детей по соотношению девочек и мальчиков. Средний возраст детей в этой группе был 5,5 лет (1, 2—8 лет, медиана 3,0 года). Средний возраст остальных детей, участвующих в эксперименте, составил 5 лет ([1,1—16], медиана 5 лет). В группе реципиентов, серопозитивных по данным ИФА, но серонегативных по результатам РН, было достоверно больше детей в возрасте 3 лет и младше по сравнению с остальными детьми ( $p = 0,005$ , Хи-квадрат).

### Обсуждение

Представленные результаты показывают, что для взрослого контингента ИФА даёт заниженные данные о наличии противовирусных антител в защитных титрах в сравнении с данными, получаемыми в РН. Это связано, в первую очередь, с тем, что чувствительность РН в 10 раз выше, чем ИФА. В таблицах приведены данные о количестве сывороток, которые были положительными в РН, но титр АТ был ниже, чем 1:100. В этом случае ИФА с на-

чальной точкой разведения 1:100 не выявлял противовирусные антитела. Если бы не было такой разницы в чувствительности, то согласно результатам нашего анализа, совпадение данных о защищённости человека от ВКЭ, полученных двумя методами, было бы более 95%.

Среди взрослых участников исследования не было обнаружено ни одного человека, который был бы сероположительным по данным ИФА, но не имел бы нейтрализующих АТ ни при естественной иммунизации, ни после двукратной иммунизации вакцинами. Мы не выявили выраженной корреляции между титрами АТ в ИФА и РН (коэффициенты корреляции были меньше 0,5). Тем не менее, взрослый человек, серопозитивный по данным ИФА, с высокой долей вероятности имеет нейтрализующие вирус АТ в защитных титрах.

При исследовании проб сывороток детей до 16 лет доля детей, имеющих противовирусные АТ в защитных титрах, выявленные с помощью ИФА, также была ниже, чем при использовании РН. Тем не менее, как при естественной иммунизации, так и после двукратной вакцинации была выявлена небольшая группа детей (около 5%), которые были серопозитивными в ИФА, но не имели нейтрализующих АТ в защитных титрах. В этой группе было статистически достоверно больше детей младшего возраста.

Для проведения РН использовали штамм Софьин ВКЭ, на основе которого выпускается вакцина «Клещ-Э-Вак». Этот факт мог бы оказать влияние на результаты, полученные при анализе сывороток детей, иммунизированных вакциной «ФСМЕ-ИММУН Джуниор», однако серонегативные дети были выявлены среди реципиентов как вакцины «ФСМЕ-ИММУН Джуниор», так и вакцины «Клещ-Э-Вак».

Представленные данные будут полезны при изучении иммунной прослойки населения и оценке иммуногенности вакцинных препаратов.

**Финансирование.** Работа была поддержана грантом РНФ 15-14-00048.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 3, 7—10, 12, 13 см. REFERENCES)

- Чернохаева Л.Л., Холодилов И.С., Пакскина Н.Д. Современный ареал клещевого энцефалита в Российской Федерации. *Медицинская вирусология*. 2016; 30(1): 6—22.
- Козлова И.В., Верхозина М.М., Дёмина Т.В., Джиоев Ю.П., Ткачев С.Е., Карань Л.С. и др. Комплексная характеристика оригинальной группы штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных на территории Восточной Сибири. *Сибирский медицинский журнал*. 2012; (4): 80—5.
- Хаснаинов М.А., Данчинова Г.А., Кулакова Н.В., Tungalag K., Arbatskaya E.V., Mironova L.V. и др. Генетическая характеристика возбудителя клещевого энцефалита в Монголии. *Вопросы вирусологии*. 2010; 55(3): 27—32.
- Ефимова А.Р., Карань Л.С., Дроздова О.М., Григорьева Я.Е., Фролова Н.А., Шейдерова И.Д. и др. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и генетическое разнообразие ВКЭ на территории Кемеровской области. *Медицинская вирусология*. 2016; 29(1): 3—15.
- Павленко Е.В., Леонова Г.Н., Майстровская О.С. Сравнительное изучение иммуногенности вакцин против клещевого энцефалита. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2007; (11): 56—62.
- Топчий М.К., Корнюшенко Н.П. *Руководство к практическим занятиям по вирусологии*. Киев; 1967.
- Ворович М.Ф., Киктенко А.В., Хапчаев Ю.Х., Грачёв В.П. Новые инактивированные вакцины против вируса КЭ. *Журнал инфекционной патологии*. 2012; 19(3): 13.
- Анкудинова А.В., Романенко В.В., Ворович М.Ф., Ковтун О.П., Есюнина М.С., Киктенко А.В. и др. Результаты клинического исследования по оценке безопасности и иммуногенности вакцины «Клещ-Э-Вак» в объеме 0,25 мл (детская доза). *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014; 51(5): 4—55.
- Ворович М.Ф., Майкова Г.Б., Чернохаева Л.Л., Романенко В.В., Анкудинова А.В., Хапчаев Ю.Х. и др. Иммунологическая эффективность и безопасность вакцины «Клещ-Э-Вак»: «Взрослая» форма. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62(2): 73—80.
- Майкова Г.Б., Чернохаева Л.Л., Ворович М.Ф., Рогова Ю.В., Карганова Г.Г. Вакцины на основе дальневосточного и европейского штаммов индуцируют нейтрализующие антитела ко всем известным подтипам вируса клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(3): 135—9.

#### REFERENCES

- Amicizia D., Domnich A., Panatto D., Lai P.L., Cristina M.L., Avio U. et al. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013; 9(5): 1163—71.
- Chernokhaeva L.L., Kholodilov I.S., Pakschina N.D. Present distribution area of tick-borne encephalitis in the Russian Federation. *Meditsinskaya virusologiya*. 2016; 30(1): 6—22. (in Russian)
- King A.M.Q., Lefkowitz E., Adams M.J., Carstens E.B. *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier; 2012: 1003—28.
- Kozlova I.V., Verkhovina M.M., Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Tkachev S.E., Karan' L.S. et al. Comprehensive description of the original group of tick-borne encephalitis virus strains isolated on the territory of Eastern Siberia. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; (4): 80—5. (in Russian)
- Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Kulakova N.V., Tungalag K., Arbatskaya E.V., Mironova L.V. et al. Genetic characteristics of the causative agent of tick-borne encephalitis in Mongolia. *Voprosy virusologii*. 2010; 55(3): 27—32. (in Russian)
- Efimova A.R., Karan' L.S., Drozdova O.M., Grigor'eva Ya.E., Frolova N.A., Sheyderova I.D. et al. Tick-borne encephalitis in Kemerovo region: epidemiology and genetic diversity of the virus. *Meditsinskaya virusologiya*. 2016; 29(1): 3—15. (in Russian)
- World Health Organization. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2011; 24(86): 241—56.
- Paulke-Korinek M., Kundi M., Laaber B., Brodtraeger N., Seidl-Friedrich C., Wiedermann U. et al. Factors associated with seroimmunity against tick borne encephalitis virus 10 years after booster vaccination. *Vaccine*. 2013; 31(9): 1293—7.
- Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2003; 21(1): S36—40.
- Leonova G.N., Pavlenko E.V., Krylova N.V., Maystrovskaya O.S., Kovalchuk N.V. Ages and sex dependence of specific immune response. *Med. Immunol.* 2006; 8(1): 73—80.
- Pavlenko E.V., Leonova G.N., Maystrovskaya O.S. A comparative study of the immunogenicity of vaccines against tick-borne encephalitis. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2007; (11): 56—62. (in Russian)
- Pripuzova N.S., Tereshkina N.V., Gmyl L.V., Dzhevnyan T.I., Romyantsev A.A., Romanova L.Yu. et al. Safety evaluation of chimeric Langat/Dengue 4 flavivirus, a live vaccine candidate against tick-borne encephalitis. *J. Med. Virol.* 2009; 81(10): 1777—85.
- Pripuzova N.S., Gmyl L.V., Romanova L.Yu., Tereshkina N.V., Rogova Y.V., Terekhina L.L. et al. Exploring of primate models of tick-borne flaviviruses infection for evaluation of vaccines and drugs efficacy. *PLoS One*. 2013; 8(4): e61094.
- Topchiy M.K., Korniyushenko N.P. *Guide to Practical Training in Virology [Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po virusologii]*. Kiev; 1967. (in Russian)
- Vorovich M.F., Kiktenko A.V., Khapchaev Yu.Kh., Grachev V.P. The new inactivated vaccines against TBE virus. *Zhurnal infektsionnoy patologii*. 2012; 19(3): 13. (in Russian)
- Ankudinova A.V., Romanenko V.V., Vorovich M.F., Kovtun O.P., Esyunina M.S., Kiktenko A.V. et al. Results of a clinical immunogenicity and safety trial of Tick-E-Vac 0.25 ml vaccine (pediatric dosage). *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; 51(5): 49—55. (in Russian)
- Vorovich M.F., Maykova G.B., Chernokhaeva L.L., Romanenko V.V., Ankudinova A.V., Khapchaev Yu.Kh. et al. Immunogenicity and safety of the adult TBE vaccine «Tick-E-Vac». *Voprosy virusologii*. 2017; 62(2): 73—80. (in Russian)
- Maykova G.B., Chernokhaeva L.L., Vorovich M.F., Rogova Yu.V., Karganova G.G. Vaccines based on far eastern and european strains induce neutralizing antibodies against all known tick-borne encephalitis virus subtypes. *Voprosy virusologii*. 2016; 61(3): 135—9. (in Russian)

Поступила 05.10.17

Принята в печать 17.10.17

© РОСТОВА Н.Б., ГУДИЛИНА Н.А., 2018

УДК 615.281.8.03:616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064].036.8

Ростова Н.Б., Гудилина Н.А.

**КРИТЕРИИ РАЦИОНАЛЬНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ НА ПРИМЕРЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, 614990, г. Пермь

Представлены результаты оценки влияния лекарственных препаратов на показатели клинической лабораторной диагностики в качестве критерия безопасности терапии (на примере антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции). Проанализирована и систематизирована информация из официальных источников (клинико-фармакологических статей и инструкций по медицинскому применению лекарственных средств) о потенциальном влиянии антиретровирусных препаратов, зарегистрированных в РФ, на показатели клинической лабораторной диагностики. Выявлены конкретные международные непатентованные наименования лекарственных средств и схемы антиретровирусной терапии, рекомендованные в документах ВОЗ, протоколах диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией в РФ и оказывающие максимальное и минимальное потенциальное влияние на показатели клинической лабораторной диагностики. Результаты исследования могут быть использованы при разработке рекомендаций по рациональному выбору, назначению и использованию лекарств.

**Ключевые слова:** показатели клинической лабораторной диагностики; антиретровирусная терапия; безопасность лекарственных препаратов; рациональное использование лекарств.

**Для цитирования:** Ростова Н.Б., Гудилина Н.А. Критерии рациональной фармакотерапии на примере ВИЧ-инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(1): 41-47. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-41-47>

Rostova N.B., Gudilina N.A.

**CRITERIA OF RATIONAL PHARMACOTHERAPY: EVIDENCE FROM HIV TREATMENT**

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990, Russian Federation

Results of evaluation of the impact of drugs on indicators of clinical laboratory diagnostics as a criterion of safety of therapy are presented. Antiretroviral therapy for HIV infection was chosen as an example. Information from official sources (summary of product characteristics and medicinal product labels) on the potential impact of antiretroviral drugs registered in the Russian Federation on indicators of clinical laboratory diagnostics was analyzed and systematized. Individual INN and antiretroviral regimens recommended by WHO documents and protocols of follow-up and treatment of patients with HIV infection in the Russian Federation with the maximum and minimum potential impact on indicators of clinical laboratory diagnostics were revealed. The research results can be used to develop recommendations for the rational choice, prescription and use of medicines.

**Key words:** indicators of clinical laboratory diagnostics; antiretroviral therapy; safety of drugs; rational use of drugs.

**For citation:** Rostova N.B., Gudilina N.A. Criteria of rational pharmacotherapy: evidence from HIV treatment. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(1): 41-47. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-41-47>

**For correspondence:** Natal'ya B. Rostova, Sc.D., Professor of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990, Russian Federation. E-mail: N-Rostova@mail.ru

**Information about authors:**

Rostova N.B., <http://orcid.org/0000-0001-5579-394X>; Gudilina N.A., <http://orcid.org/0000-0001-8611-6976>

**Contribution.** All authors contributed equally to this work.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

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

Received 16 March 2017

Accepted 20 June 2017

Проблема выбора и применения наиболее эффективных, безопасных и доступных лекарственных средств (ЛС) с учетом экономических возможностей стран обсуждается Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) с середины 70-х годов XX века. ВОЗ уделяет особое внимание совершенствованию мер и рекомендаций, способствующих рациональному использованию лекарств, и рекомендует странам-участницам реализовать ряд ключевых положений. Достоверно установлено, что нерациональное использование лекарственных препаратов (ЛП) приводит как к серьезным проблемам нарушения здоровья, включая развитие инвалидности

и смерть, так и к экономическим потерям вследствие неадекватно используемых ЛС [1].

Согласно требованиям ВОЗ, эффективность, безопасность, доступность и приемлемость ЛС для пациента являются важнейшими критериями, позволяющими оценить соотношение риск/польза принимаемых препаратов, а в конечном счете — качество и рациональность проводимой фармакотерапии. Фармакодинамические и фармакокинетические эффекты ЛП разнообразны и помимо основного фармакологического действия могут проявляться иными воздействиями на организм, такими как нежелательные побочные реак-

**Для корреспонденции:** Ростова Наталья Борисовна, д-р фарм. наук, проф. кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, 614990, г. Пермь. E-mail: N-Rostova@mail.ru



Таблица 1

Результаты систематизации данных об АРВП, зарегистрированных на территории РФ

№	Класс АРВП	МНН ЛС	Сокращение	Количество МНН ЛС	
				абс.	%
Монокомпонентные ЛП					
1.	Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ)	1.1. Этравирин	ETR	4	12,1
		1.2. Рилпивирин	RPV		
		1.3. Эфавиренз	EFV		
		1.4. Невирапин	NVP		
2.	Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ)	2.1. Тенофовир	TDF	8	24,3
		2.2. Ламивудин	3TC		
		2.3. Диданозин	ddI		
		2.4. Абакавир	ABC		
		2.5. Зидовудин	AZT		
		2.6. Ставудин	d4T		
		2.7. Фосфазид	fAZT		
		2.8. Эмтрицитабин	FTC		
3.	Ингибиторы протеазы (ИП)	3.1. Ритонавир	RTV	9	27,3
		3.2. Саквинавир	SQV		
		3.3. Индинавир	IDV		
		3.4. Типранавир	TPV		
		3.5. Атазанавир	ATV		
		3.6. Дарунавир	DRV		
		3.7. Нелфинавир	NFV		
		3.8. Фосампренавир	FPV		
		3.9. Ампренавир	APV		
4.	Ингибиторы входа/слияния (ИС)	4.1. Энфувиртид	ENF	1	3,0
5.	Ингибиторы интегразы (ИИ)	5.1. Ралтегравир	RAL	2	6,1
		5.2. Долутегравир	DTG		
6.	Ингибиторы рецепторов (ИР)	6.1. Маравирок	MVC	1	3,0
Итого ...				25	75,8
Двухкомпонентные ЛП					
7.	2 ИП	7.1. Лопинавир + Ритонавир	LPV/г	1	3,0
8.	2 НИОТ	8.1. Зидовудин + Ламивудин	AZT/3TC	3	9,1
		8.2. Абакавир + Ламивудин	ABC/3TC		
		8.3. Эмтрицитабин + Тенофовир	FTC/TDF		
9.	2 НИОТ + ННИОТ	9.1. Рилпивирин + Тенофовир + Эмтрицитабин	RPV/TDF/FTC	3	9,1
		9.2. Зидовудин + Ламивудин + Невирапин	AZT/3TC/NVP		
		9.3. Эфавиренз + Эмтрицитабин + Тенофовир	EFV/FTC/TDF		
10.	3 НИОТ	10.1. Абакавир + Зидовудин + Ламивудин	ABC/AZT/3TC	1	3,0
Итого ...				8	24,2
Всего ...				33	100,0

ции, включающие способность изменять результаты клинической лабораторной диагностики (КЛД). Способность ЛП влиять на разные стороны обмена веществ, метаболические процессы, вытеснять из связи с белками эндо- и экзогенные вещества является одной из причин отклонений тех или иных показателей, ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Нежелательным следствием неправильного толкования результатов лабораторных исследований является назначение необоснованной фармакотерапии с целью коррекции этих изменений, что в большинстве случаев приводит не к улучшению, а к ухудшению состояния больного в результате нежелательных последствий полипрагмазии, получившей широкое распространение в последнее время [2—4].

Разработка любых предложений по оценке безопасности лекарственной терапии, направленных на оптимизацию выбора, назначения и использования ЛП, представляется актуальным и важным вопросом, особенно для лечения заболеваний, являющихся бременем как для общества, так и для системы здравоохранения. ВИЧ-инфекция является одним из таких заболеваний, социальная значимость которого подтверждается данными ВОЗ, согласно которым к концу 2014 г. в мире насчитывалось около 36,9 млн ВИЧ-инфицированных больных, и к настоящему времени 34 млн человек умерли от причин, связанных с ВИЧ-инфекцией [3].

В данный момент системы здравоохранения как во всем мире, так и в России не располагают ЛП, которые позволяли бы полностью вылечить больных ВИЧ-инфекцией, но существует группа антиретровирусных препаратов (АРВП), которые дают возможность контролировать течение заболевания, увеличивать продолжительность и качество жизни больных, а также снижают вероятность передачи инфекции другим людям.

Подходы к выбору препаратов для проведения антиретровирусной терапии (АРТ) отличаются особой сложностью ввиду назначения комбинаций, состоящих из 2—5 АРВП, обладающих токсичностью и подвергающих пациентов высокому риску возникновения нежелательных реакций, поэтому крайне важной является оценка назначаемых комбинаций АРВП по критериям не только эффективности, но и безопасности в целях содействия рациональному использованию лекарств.

Лабораторная диагностика является стандартной процедурой ведения ВИЧ-инфицированного пациента, прилагаются значительные усилия для обеспечения качества лабораторных исследований, однако влияние применяемых АРВП на результаты КЛД учитывать не принято. При этом целесообразным является рассмотрение данной способности АРВП в качестве одного из проявлений нежелательных реакций, которые в свою очередь служат критерием оценки безопасности проводимой АРТ.

В связи с вышесказанным анализ, изучение, обобщение и систематизация информации о влиянии АРВП на показатели КЛД, а также разработка критериев оценки безопасности проводимой АРТ в целях создания системы рационального применения ЛП являются актуальными и своевременными вопросами.

Таблица 2

## Результаты анализа потенциального влияния АРВП на показатели КЛД

Группа	Подгруппа	Показатели	Количество МНН ЛС, влияющих на данный показатель			
			абс.	%		
1. Общеклинические анализы	1.1. Исследование крови	1.1.1. Гемоглобин	28	84,8		
		1.1.2. Нейтрофилы	26	78,8		
		1.1.3. Тромбоциты	20	60,6		
		1.1.4. Лейкоциты	17	51,5		
		1.1.5. Лимфоциты	8	24,2		
		1.1.6. Эозинофилы	8	24,2		
		1.1.7. Эритроциты	3	9,1		
		1.1.8. Гематокрит	1	3,0		
	1.2. Исследование мочи	1.2.1. Белок в моче	9	27,3		
		1.2.2. Исследование осадка мочи	6	18,2		
		1.2.3. Глюкоза в моче	3	6,1		
		1.2.4. Билирубин в моче	1	3,0		
		2. Свертывающая система крови	2.1. Первичный гемостаз	2.1.1. Количество тромбоцитов	20	60,6
			2.2. Коагуляционный гемостаз	2.2.1. Протромбиновое время	1	3,0
3. Биохимическое исследование крови	3.1. Показатели липидного обмена	2.2.2. АЧТВ	2	6,1		
		3.1.1. Триглицериды	27	81,8		
		3.1.2. Холестерин общий	26	78,8		
		3.1.3. ЛПНП	5	15,2		
	3.2. Билирубин сыворотки крови	3.1.4. ЛПВП	3	9,1		
		3.2.1. Билирубин сыворотки крови	25	75,8		
	3.3. Небелковые азотистые компоненты крови	3.3.1. Креатинин крови	16	48,5		
		3.3.2. Мочевая кислота	3	9,1		
		3.3.3. Мочевина	3	9,1		
	3.4. Ферменты сыворотки крови	3.4.1. АсАТ	32	96,7		
		3.4.2. АлАТ	32	96,7		
		3.4.3. Амилаза	27	81,8		
		3.4.4. КФК	23	69,7		
		3.4.5. Липаза	22	66,7		
		3.4.6. ГГТ	14	42,4		
		3.4.7. ЩФ	8	24,2		
		3.4.8. ЛДГ	6	18,2		
	3.5. Неорганические вещества	3.5.1. Фосфор	8	24,2		
		3.5.2. Калий	7	21,2		
		3.5.3. Натрий	4	12,1		
3.5.4. Кальций		2	6,1			
3.5.5. Магний		2	6,1			
3.5.6. Хлориды		1	3,0			
3.6. Уровень глюкозы	3.6.1. Уровень глюкозы	28	84,8			
	3.7. Уровень белков	3.7.1. Альбумин	2	6,1		
		4. Кислотно-основное состояние крови	4.1. рН крови	4.1.1. рН крови	21	63,6
5. Уровень гормонов	5.1. Гормоны щитовидной железы		5.1.1. ТТГ	5	15,2	
	5.2. Гормоны половых желез	5.5.2. Эстрадиол	13	39,4		
Итого ... 5	14	42	33	100,0		

Примечание. АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ЛПВП — липопротеины высокой плотности; АсАТ — аспаргатаминотрансфераза; АлАТ — аланинаминотрансфераза; КФК — креатининфосфокиназа; ГГТ — гамма-глутамилтрансфераза; ЩФ — щелочная фосфатаза; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ТТГ — тиротропный гормон.

Таблица 3

Результаты анализа показателей КЛД, потенциально изменяющихся под действием АРВП

№	Класс АРВП	МНН ЛС	Количество клинико-лабораторных показателей	
			абс.	%
Монокомпонентные ЛП				
1.	ННИОТ	ETR	16	38,1
		NVP	15	35,7
		RPV	12	28,6
		EFV	10	23,8
2.	НИОТ	ABC	18	42,9
		3TC	17	40,5
		AZT	17	40,5
		d4T	16	38,1
		TDF	16	38,1
		FTC	15	35,7
		ddI	14	33,3
		fAZT	1	2,4
3.	ИП	RTV	36	85,7
		DRV	28	66,7
		SQV	21	50,0
		ATV	16	38,1
		IDV	16	38,1
		TPV	14	33,3
		NFV	10	23,8
		FPV	9	21,4
		APV	8	19,0
		4.	ИС	ENF
5.	ИИ	RAL	25	59,5
		DTG	6	14,3
6.	ИР	MVC	11	26,2
Двухкомпонентные ЛП				
7.	2 ИП	LPV/r	22	52,4
8.	2 НИОТ	AZT/3TC	17	40,5
		ABC/3TC	15	35,7
		FTC/TDF	15	35,7
Трехкомпонентные ЛП				
9.	2 НИОТ + ННИОТ	RPV/TDF/FTC	20	47,6
		AZT/3TC/NVP	19	45,2
		EFV/FTC/TDF	18	42,9
10.	3 ННИОТ	ABC/AZT/3TC	13	31,0
Итого ...	33	42	100,0	

### Материал и методы

Проведен анализ данных Государственного реестра лекарственных средств, типовых клинико-фармакологических статей, инструкций по медицинскому применению АРВП, зарегистрированных на тер-

Таблица 4

Результаты анализа влияния классов АРВП на подгруппы показателей КЛД

№	Класс АРВП	Количество подгрупп показателей КЛД, на которые воздействует класс АРВП	
		абс.	%
1.	ИП	14	100,0
2.	НИОТ	12	85,7
3.	ННИОТ	11	78,6
4.	ИИ	10	72,4
5.	ИС	5	35,7
6.	ИР	4	28,6
Итого ...	6	14	100,0

ритории РФ [5—8]. В ходе исследования использовали системный и информационный подходы, логический и сравнительный анализы.

### Результаты

Систематизация и обобщение информации об АРВП позволили установить, что по состоянию на 13.08.2016 в Государственном реестре лекарственных средств [5] зарегистрировано 33 АРВП из 6 классов АРВП: из них 25 международных непатентованных наименований ЛС (МНН ЛС) — монокомпонентных препаратов и 8 комплексных (двух- и трехкомпонентных) препаратов, входящих в фармакотерапевтическую группу J05A «Противовирусные препараты прямого действия» в соответствии с анатомо-терапевтическо-химической (АТХ) классификацией (табл. 1).

Используя информацию, полученную из официальных документов, клинико-фармакологических статей и инструкций по медицинскому применению, в частности из разделов «Механизм действия», «Побочные эффекты», «Меры предосторожности», провели систематизацию данных, содержащих сведения о влиянии АРВП на функционирование различных систем, органов, способном изменить показатели КЛД. Для удобства дальнейшего анализа показатели КЛД были систематизированы в 5 групп показателей КЛД, включающих 14 подгрупп и 42 показателя, которые потенциально могут изменяться при приеме АРВП (табл. 2). Отмечено, что при анализе информации в изучаемых документах об АРВП было установлено, что на некоторые ЛП информация не уточнена либо указанные формулировки вызывают затруднения при оценке влияния или отнесения упомянутых явлений к какой-либо группе показателей КЛД. Были выявлены следующие неточные формулировки информации:

- «необходимо исследовать активность ферментов печени» для препаратов AZT и d4T — представителей класса НИОТ;
- «возможно изменение показателей крови» для препаратов ATV — представителя класса ИП, EFV — представителя класса ННИОТ и MVC — представителя класса ИР;
- «возможно обострение бессимптомных или остаточных оппортунистических инфекций» для препаратов 3TC, ddI, AZT, TDF из класса НИОТ, а также для NVP из класса ННИОТ.



Таблица 5

Результаты анализа показателей КЛД, потенциально изменяющихся под действием комбинаций АРВП, рекомендованных ВОЗ для терапии ВИЧ-инфекции

№	Комбинации АРВП	Количество одинаковых показателей КЛД, изменяющихся под действием АРВП, входящих в данную комбинацию	
		абс.	%
АРТ 1-го ряда			
2 НИОТ + ННИОТ			
1	AZT + 3TC NVP	11	26,2
2	ABC + 3TC NVP	10	23,8
3	FTC + TDF NVP	10	23,8
4	3TC + TDF NVP	9	21,4
5	FTC + TDF EFV	8	19,0
6	AZT + 3TC EFV	7	16,7
7	3TC + TDF EFV	7	16,7
8	ABC + 3TC EFV	7	16,7
АРТ 2-го ряда			
2 НИОТ + 2 ИП			
9	AZT + 3TC LPV/r	13	31,0
10	AZT + 3TC SQV/r	13	31,0
11	TDF + ABC LPV/r	12	28,6
12	AZT + 3TC IDV/r	11	26,2
13	ddI + AZT LPV/r	11	26,2
14	ddI + ABC LPV/r	10	23,8
15	AZT + TDF LPV/r	10	23,8
16	AZT + TDF SQV/r	10	23,8
17	TDF + ABC SQV/r	9	21,4
18	AZT + 3TC ATV/r	9	21,4
19	ddI + AZT SQV/r	9	21,4
20	AZT + TDF IDV/r	9	21,4
21	AZT + TDF ATV/r	8	19,0
22	AZT + 3TC FPV/r	7	16,7
23	TDF + ABC ATV/r	7	16,7
24	TDF + ABC FPV/r	7	16,7
25	TDF + ABC IDV/r	7	16,7
26	ddI + AZT IDV/r	7	16,7
27	AZT + TDF FPV/r	7	16,7
28	ddI + ABC ATV/r	6	14,3
29	ddI + ABC IDV/r	6	14,3
30	ddI + AZT ATV/r	6	14,3
31	ddI + ABC SQV/r	5	11,9
32	ddI + ABC FPV/r	4	9,5
33	ddI + AZT FPV/r	4	9,5
Итого ...		42	100,0

Примечание. IDV/r — индинавир, бустированный ритонавиром; FPV/r — фосампренавир, бустированный ритонавиром. Здесь и в табл. 6: SQV/r — саквинавир, бустированный ритонавиром; ATV/r — атазанавир, бустированный ритонавиром.

Систематизация АРВП по их потенциальному влиянию на показатели КЛД представлена в табл. 2.

Как видно из табл. 2, под действием наибольшего количества МНН ЛС потенциально могут изменяться следующие показатели КЛД:

- АсАТ (потенциально влияют 32 (96,7%) МНН ЛС из 33);
- АлАТ (потенциально влияют 32 (96,7%) МНН ЛС из 33);
- Гемоглобин (потенциально влияют 28 (84,8%) МНН

ЛС из 33);

- Уровень глюкозы (потенциально влияют 28 (84,8%) МНН ЛС из 33);
- Триглицериды (потенциально влияют 27 (81,8%) МНН ЛС из 33);
- Амилаза (потенциально влияют 27 (81,8%) МНН ЛС из 33);

Под действием наименьшего количества МНН ЛС (1 (3,0%) МНН ЛС из 33) изменяются гематокрит, билирубин в моче, протромбиновое время, хлориды.

Анализ показателей КЛД, изменяющихся под действием конкретных МНН ЛС АРВП, позволил нам получить результаты, которые отображены в табл. 3.

Анализ данных, представленных в табл. 3, позволяет нам сделать выводы о том, что наибольшее влияние на отдельные показатели КЛД оказывают следующие МНН ЛС АРВП:

- RTV — потенциально влияет на 36 (85,7%) показателей КЛД из 42;
- DRV — потенциально влияет на 28 (66,7%) показателей КЛД из 42;
- RAL — потенциально влияет на 25 (59,5%) показателей КЛД из 42;

Наименьшее влияние на отдельные показатели КЛД оказывают следующие МНН ЛС АРВП:

- DTG — потенциально влияет на 6 (14,3%) показателей КЛД из 42;
- fAZT — потенциально влияет на 1 (2,4%) показателей КЛД из 42.

Результаты анализа подгрупп показателей КЛД, изменяющихся под действием отдельных классов АРВП, показаны в табл. 4.

Результаты анализа, представленные в табл. 4, показывают, что под действием АРВП класса ИП возможно изменение показателей из всех подгрупп показателей КЛД — 14 (100,0%) подгрупп из 14. Под действием АРВП классов ИС и ИР изменяется наименьшее количество подгрупп показателей КЛД — 5 (35,7%) и 4 (28,6%) подгруппы из 14 соответственно.

В целях оценки влияния использования ЛП при одномоментном назначении более одного АРВП нами изучено потенциальное влияние комбинаций АРВП на одинаковые показатели КЛД в рамках терапии ВИЧ-инфекции схемами АРТ, рекомендованными документами ВОЗ, протоколами диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией в РФ [9, 10]. Результаты анализа представлены в табл. 5 и 6.

Данные табл. 5 свидетельствуют о том, что из 33 схем АРТ, рекомендованных документами ВОЗ, 11 схем могут влиять на 10 и более одинаковых показателей КЛД, при этом на наибольшее количество показателей КЛД одновременно способны потенциально влиять следующие схемы АРТ:

- 3TC + AZT + LPV/r (13 (31,0%) показателей КЛД из 42);
- AZT + 3TC + SQV/r (13 (31,0%) показателей КЛД из 42);
- TDF + ABC + LPV/r (12 (28,6%) показателей КЛД из 42);
- AZT + 3TC + NVP (11 (26,2%) показателей КЛД из 42).

На наименьшее количество показателей КЛД одновременно потенциально способны влиять следующие схемы АРТ, рекомендованные ВОЗ:

- ddI + ABC + SQV/r (5 (11,9%) показателей КЛД из 42);

Таблица 6

Результаты анализа показателей КЛД, потенциально изменяющихся под действием комбинаций АРВП, рекомендованных в РФ для терапии ВИЧ-инфекции

№	Комбинации АРВП	Количество одинаковых показателей КЛД, изменяющихся под действием АРВП, входящих в данную комбинацию		№	Комбинации АРВП	Количество одинаковых показателей КЛД, изменяющихся под действием АРВП, входящих в данную комбинацию			
		абс.	%			абс.	%		
Предпочтительная схема									
НИОТ + ННИОТ									
1	ABC + 3TC	RPV	10	23,8	26	FTC + TDF	DTG	3	7,1
2	FTC + TDF	EFV	8	19,0	27	ABC + FTC	DTG	3	7,1
3	ABC + FTC	EFV	8	19,0	28	ABC + 3TC	DTG	3	7,1
4	FTC + TDF	RPV	8	19,0	Альтернативная схема				
5	3TC + TDF	RPV	8	19,0	НИОТ + ИП				
6	3TC + TDF	EFV	7	16,7	29	AZT + 3TC	SQV/r	13	31,0
7	ABC + FTC	RPV	7	16,7	30	AZT + FTC	ATV	10	23,8
8	ABC + 3TC	EFV	7	16,7	31	AZT + FTC	SQV/r	10	23,8
НИОТ + ИП				32	AZT + 3TC	ATV	10	23,8	
9	FTC + TDF	DRV/r	13	31,0	33	AZT + FTC	FPV	8	19,0
10	FTC + TDF	LPV/r	13	31,0	34	AZT + 3TC	FPV	7	16,7
11	ABC + 3TC	DRV/r	13	31,0	35	fAZT + FTC	FPV	1	2,4
12	ABC + 3TC	LPV/r	13	31,0	36	fAZT + FTC	SQV/r	1	2,4
13	ABC + FTC	LPV/r	12	28,6	37	fAZT + 3TC	FPV	1	2,4
14	3TC + TDF	LPV/r	11	26,2	38	fAZT + 3TC	SQV/r	1	2,4
15	3TC + TDF	DRV/r	10	23,8	39	fAZT + FTC	ATV	0	0,0
16	ABC + FTC	DRV/r	10	23,8	40	fAZT + 3TC	ATV	0	0,0
17	FTC + TDF	ATV/r	8	19,0	Приемлемая схема				
18	TDF + 3TC	ATV/r	8	19,0	НИОТ + ИП				
19	ABC + FTC	ATV/r	8	19,0	41	d4T + 3TC	IDV	11	26,2
20	ABC + 3TC	ATV/r	8	19,0	42	d4T + 3TC	IDV/r	10	23,8
НИОТ + ИИ				43	d4T + FTC	IDV	9	21,4	
21	ABC + 3TC	RAL	13	31,0	44	d4T + FTC	IDV/r	8	19,0
22	3TC + TDF	RAL	11	26,2	45	ddI + 3TC	IDV	8	19,0
23	FTC + TDF	RAL	10	23,8	46	ddI + FTC	IDV	7	16,7
24	ABC + FTC	RAL	10	23,8	47	ddI + 3TC	IDV/r	7	16,7
				48	ddI + FTC	IDV/r	6	14,3	
				Итого ...				42	100,0

Примечание. DRV/r — дарунавир, бустированный ритонавиром.

- ddI + ABC + FPV/r (4 (9,5%) показателя КЛД из 42);
- ddI + AZT + FPV/r (4 (9,5%) показателя КЛД из 42).

Данные табл. 6 указывают на то, что из 48 схем АРТ, рекомендованных протоколами диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией в РФ, 20 схем АРТ могут влиять на 10 и более одинаковых показателей КЛД, при этом на наибольшее количество показателей КЛД (13 (31,0%) из 42) одновременно способны потенциально влиять следующие схемы АРТ:

- TDF + FTC + DRV/r;
- TDF + FTC + LPV/r;
- ABC + 3TC + DRV/r;
- ABC + 3TC + LPV/r;
- ABC + 3TC + RAL;
- AZT + 3TC + SQV/r.

Из приведённых в этой таблице данных можно также сделать вывод о том, что на наименьшее количество одинаковых показателей КЛД — 1 (2,4%) из 42 — одновременно потенциально способны влиять следующие схемы АРТ, рекомендованные в РФ:

- fAZT + FTC + FPV;
- fAZT + FTC + SQV/r;
- fAZT + 3TC + FPV;
- fAZT + 3TC + SQV/r.

Отдельно следует отметить следующие комбинации АРВП, которые не оказывают потенциального влияния на одинаковые показатели КЛД (0 показателей КЛД

(0,0%) из 42) при их одномоментном назначении для лечения ВИЧ-инфекции:

- fAZT + FTC + ATV;
- fAZT + 3TC + ATV.

Примечательно, что в схемах АРТ, которые влияют на наименьшее количество одинаковых показателей КЛД или не оказывают такого влияния, входит представитель класса НИОТ — fAZT, зарегистрированный и производимый на территории РФ, но не входящий в схемы АРТ, рекомендованные в документах ВОЗ.

### Обсуждение

Проведённое исследование показывает, что информацию из официальных источников относительно влияния использования ЛС на результаты КЛД можно положить в основу критерия «Изменение показателей КЛД». Данный показатель можно использовать для оценки безопасности конкретных ЛП и различных терапевтических схем, что позволит определить наиболее безопасные схемы АРТ для ВИЧ-инфицированного пациента и формулировать рекомендации по рациональному выбору, назначению и использованию ЛП для лечения ВИЧ-инфекции в реальной клинической практике с учетом текущего состояния и стадии заболевания пациента.

В основу анализа способности АРВП влиять на показатели КЛД положена частота упоминания этих по-

казателей только в официальных источниках. Результаты представленного анализа могут быть приняты к сведению и использоваться на практике лишь при условии некоторых допущений. Степень выраженности оцениваемых параметров и тяжесть проявлений вследствие изменений показателей КЛД, при которых требуется коррекция или отмена назначенной терапии, предполагается оценить в дальнейших исследованиях.

### Заключение

Учитывая государственную политику в сфере лекарственного обеспечения населения на современном этапе (формирование систем рационального применения ЛП, поддержка отечественных производителей ЛП), необходимо проводить разработку рекомендаций по рациональному назначению и использованию АРВП для лечения ВИЧ-инфекции с учетом обоснованных критериев эффективности и безопасности ЛП и ассортимента АРВП, выпускаемых российскими производителями.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Долевое участие авторов:** Н.Б. Ростова - 50%, Н.А. Гудилина - 50%.

### ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Содействие рациональному использованию лекарственных средств: ключевые моменты. Перспективы политики ВОЗ в области лекарственных препаратов. Женева; 2002.
- Ростова Н.Б., Яковлев И.Б., Солонина А.В. Анализ влияния лекарственной терапии на некоторые показатели клинической лабораторной диагностики. *Клиническая медицина*. 2014; (7): 41—8.
- Ростова Н.Б., Иванова Э.С., Гудилина Н.А., Киселева О.В. Антиретровирусная терапия: подходы к лечению и реальная практика назначений при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов. *Медицинский альманах*. 2016; (1): 112—6.
- Окунь Т.В., Верлан Н.В., Паисова Г.Г., Двойникова Н.А., Бараховская Т.В. Проблемы мониторинга безопасности лекарственных средств. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; (6): 204—8.
- Государственный реестр лекарственных средств (2016). Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx>
- Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание. Т. II. Ч.1. Типовые клинико-фармакологические статьи. М.; 2006.
- Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание. Т. II. Ч.2. Типовые клинико-фармакологические статьи. М.; 2006.
- Чернявская О.А., Иоаниди Е.А., Макарова И.В., Тимонова М.С. Лечение ВИЧ-инфекции. *Лекарственный вестник*. 2010; (6): 3—9.
- ВОЗ. Сводное руководство по использованию антиретровирусных препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции. Краткий обзор основных особенностей и рекомендаций. Женева; 2013.
- Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Ермак Т.Н., Канестри В.Г. и др. Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией (клинический протокол). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; (6).

### REFERENCES

- Promoting Rational Use of Medicines: Core Components — WHO Policy Perspectives on Medicines. Geneva; 2002.
- Rostova N.B., Yakovlev I.B., Solonina A.V. Analysis of the effect of drug therapy on some parameters of clinical laboratory diagnostics. *Klinicheskaya meditsina*. 2014; (7): 41—8. (in Russian)
- Rostova N.B., Ivanova E.S., Gudilina N.A., Kiseleva O.V. Antiretroviral therapy: approaches to treatment and the actual practice of appointments in the treatment of HIV — infected patients. *Meditsinskiy al'manakh*. 2016; (1): 112—6. (in Russian)
- Okun' T.V., Verlan N.V., Paisova G.G., Dvoynikova N.A., Barakhovskaya T.V. Problems of monitoring the safety of medicines. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; (6): 204—8. (in Russian)
- State Register of Medicinal Products (2016). Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (in Russian)
- State Register of Medicinal Products. Official edition. Vol. II. Part 1. Typical Clinical and Pharmacological Articles [Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv. Ofitsial'noe izdanie. T. II. Ch.1. Tipovyye kliniko-farmakologicheskie stat'ii]. Moscow; 2006. (in Russian)
- State Register of Medicinal Products. Official edition. Vol. II. Part 2. Typical Clinical and Pharmacological Articles [Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv. Ofitsial'noe izdanie. T. II. Ch.2. Tipovyye kliniko-farmakologicheskie stat'ii]. Moscow; 2006. (in Russian)
- Chernyavskaya O.A., Ioanidi E.A., Makarova I.V., I.V., Timonova M.S., et al. Treatment of HIV Infection. *Lekarstvennyy vestnik*. 2010; (6): 3—9. (in Russian)
- WHO. Consolidated Guidance on the Use of Antiretroviral Drugs for the Treatment and Prevention of HIV Infection. A Brief Overview of the Main Features and Recommendations [Svodnoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu antiretrovirusnykh preparatov dlya lecheniya i profilaktiki VICH-infektsii. Kratkiy obzor osnovnykh osobennostey i rekomendatsiy]. Geneva; 2013. (in Russian)
- Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Ermak T.N., Kanestri V.G. et al. National recommendations for dispensary observation and treatment of HIV patients (clinical protocol). *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015; (6). (in Russian)

Поступила 16.03.17

Принята в печать 20.06.17



---

## РЕЦЕНЗИИ

---

© СИДОРЧУК А.А., 2018

УДК 616.98:578.824.11(049.32)

**В.В. Макаров, А.М. Гулюкин, М.И. Гулюкин.** Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооВетКнига, 2015.

Бешенство едва ли не первая опасная болезнь описанная во многовековой истории человечества, упоминания о которой встречаются в аккадских, вавилонских, египетских, еврейских и других источниках. В древней Греции и Античном Риме почти все известные авторы, писавшие на медицинские и сельскохозяйственные темы, упоминают эту инфекцию. В европейских источниках, начиная с раннего Средневековья и вплоть до конца XIX века, эпидемии бешенства, наносившие непоправимый ущерб, также имеют место. Не случайно вирус бешенства был открыт одним из первых после появления вирусологии как науки. Прорывные работы Пастера и его последователей в конце XIX—начале XX веков внесли огромный вклад в решение проблемы, и казалось, что это вскоре может привести к полной победе над коварной болезнью. Но этого не случилось. Ежегодная гибель животных от бешенства в мире составляет около 50—55 тыс. Также ежегодно умирает 30—50 тыс. человек (в среднем каждый день умирает 150 человек или 1 человек каждые 10 мин.). Более 10 млн человек в мире ежегодно проходят антирабическое лечение. Только в России ежегодно за антирабической помощью обращается 430—470 тыс. человек и 250—300 тыс. человек получают её.

Вместе с тем есть страны и целые регионы мира, полностью освободившиеся от бешенства. К сожалению, Россия не входит в их число. И даже наоборот, для нашей страны эта инфекция стала фактически реэмерджентной (возвращающейся). Так если в течение нескольких десятилетий XX века эпизоотическая и эпидемическая ситуации по бешенству были на уровне передовых стран, то конец XX века и начало нынешнего привели к неуправляемому росту заболевания. Более половины российских субъектов неблагополучны по бешенству животных, инцидентность за 35 лет выросла в 10 раз. Так например, если в период 1950—70-х годов бешенства в Москве и Московской области не было совсем, то в 2015 г. в Московской области было зарегистрировано 389 случаев бешенства животных. Ежегодно в стране стали гибнуть люди, за последние 10 лет в среднем по 10 человек ежегодно. Стало ясно, что для победы над бешенством в нашей стране еще далеко. На сегодня бе-

шенство представляет собой едва ли ни единственный высоко актуальный вирусный зооноз, как никакой другой связывающий медицину и ветеринарию.

Поэтому написанная В.В. Макаровым с соавторами книга является весьма актуальной и своевременной. Книга имеет три основных раздела: эпизоотологические исследования, вопросы природной очаговости и вопросы профилактики и контроля болезни. Во введении авторы совершенно справедливо отмечают ряд причин, которые препятствуют успешному проведению антирабических мероприятий, однако с «максималистской интерпретацией» их, одного из авторов монографии, не всегда можно согласиться. Основная слабость не в «пассивных попытках» и «отсутствии четких представлений у специалистов», а в более глубоких причинах. Ведь международный опыт есть, и он достаточно хорошо представлен в книге.

Нет необходимости детально разбирать многочисленные экспериментальные и аналитические данные, собранные и представленные авторами монографии, они хорошо говорят сами за себя. Вдумчивый читатель найдет нужную для него ценную информацию. Во всяком случае, рецензент, которому по роду работы приходится иметь дело с опасными зоонозами, с большим интересом прочёл данную работу. Кроме того, книга хорошо иллюстрирована большим количеством рисунков, фотографий, диаграмм и графиков. В конце книги авторы приводят словарь специальных терминов, который поможет читателю понимать ряд нововводимых понятий, к чему тяготеет один из авторов.

Небольшим упущением можно считать, что книга содержит материал в основном 1990—2000-х годов, опубликованный ранее, и не содержит данных последних нескольких лет.

Указанная монография, изданная по современным представлениям достаточно большим тиражом, безусловно будет полезна для специалистов эпизоотологов (как учёных, так и практиков), преподавателей вузов, и не только ветеринарных, студентов, биологов, охотоведов и других групп читателей.

*Профессор А.А. Сидорчук (Москва)*