

ЭВОЛЮЦИЯ ПАНДЕМИЧЕСКОГО ГРИППА А (H1N1) PDM09

ДИРЕКТОР ФГБУ
«НИИ ВИРУСОЛОГИИ
ИМЕНИ Д.И. ИВАНОВСКОГО»
МИНЗДРАВСОЦРАЗВИТИЯ
РОССИИ
Дмитрий Константинович
Львов



При изучении вирусных инфекций особенно важна их эволюция, которую следует рассматривать как историю экологии вида. Рассмотрим этот процесс на примере возбудителя нового пандемического вируса H1N1pdm-2009. Пандемический вирус, возникший в результате тройной реассортации между вирусами гриппа свиней, птиц и человека, с самого начала обладал большей вирулентностью в сравнении с сезонным гриппом за счет двойной рецепторной специфичности по отношению к эпителиальным клеткам верхних и нижних отделов респираторного тракта.

Инфекционный процесс начинается со взаимодействия первой единицы гемагглютинина вируса с клеточным рецептором, минимальной детерминантой которого для всех вирусов гриппа является сиаловая кислота. Она присоединена к галактозе или глюкозамину $\alpha 2$ -3- или $\alpha 2$ -6-связью, которая опознается вирусами гриппа в зависимости от хозяйской принадлежности. Рецепторные фенотипы вирусов гриппа человека, свиней и птиц различны: вирусы гриппа человека распознают $\alpha 2$ -6-связь, птиц – $\alpha 2$ -3-, а свиньи, помимо $\alpha 2$ -3-, могут иметь смешанную рецепторную специфичность, что и создает возможность размножения в них вирусов и птиц, и человека. Вирусы гриппа человека преимущественно инфицируют клетки, на которых представлены $\alpha 2$ -6-рецепторы. Содержание этих рецепторов постепенно убывает в ряду: носоглотка, трахея, бронхи, брон-

хиолы. В легких выявлены $\alpha 2$ -3-рецепторы на бронхиоллярных и альвеолярных клетках с убыванием вверх по респираторному тракту. Предполагается, что с этим связана слабая репродукция вирусов птичьего гриппа в верхних дыхательных путях человека и, как следствие этого, неэффективность воздушно-капельной передачи. Поэтому вирус птичьего гриппа не передается от человека к человеку. Во всяком случае, пока.

Новый пандемический вирус гриппа А (H1N1) pdm09 за счет приобретения $\alpha 2$ -6- и сохранения $\alpha 2$ -3-рецепторной специфичности получил тем самым способность к неограниченному распространению среди людей с пневмонией. Подобно другим исследователям (Чучалин А.Г., 2010), мы наблюдали три типа пневмоний, осложнявших течение пандемического гриппа: первичная (вирусная) – в течение первых 5–7 дней заболевания; вторичная (вирусно-бактериальная) – на 7–10-е сутки; третичная – после 10-го дня болезни (ассоциированная с грамотрицательной бактериальной флорой). При первичной вирусной пневмонии часто развиваются выраженная интоксикация, геморрагические проявления (носовые кровотечения, прожилки крови в мокроте) и происходит быстрое нарастание дыхательной недостаточности. Основной причиной смерти является развитие острого респираторного дистресс-синдрома и легочно-сердечной недостаточности. Первичная или вторичная пневмония часто ведет к гибели больных, особенно при отсутствии ранней противовирусной терапии (тамифлю, реленза, ингавирин, арбидол). При использовании этих препаратов в первый день заражения эффективность достигает 100%, через 1–2 дня – 50–60%, на 3–4-й день – около 20%, дальше – препараты малоэффективны. В случае заболевания беременных, по рекомендации ВОЗ, лечение с использованием тамифлю и релензы под наблюдением врача надо начинать немедленно, не дожидаясь результатов лабораторного анализа. Этиотропная терапия в первые дни болезни предотвращает летальный исход и появление осложнений.

При массовом использовании, особенно неправильном, с нарушением схемы приема препаратов, ви-

рус за счет соответствующих аминокислотных замен в геноме может приобрести к ним резистентность. Молекулярно-генетическими маркерами появления резистентности к осельтамивиру (тамифлю) является замена гистидина (H) на тирозин (Y) в сайте 274 белка нейраминидазы, а к ремантадину – замена серина (S) на аспарагин (N) в сайте 31 вирусного белка M2. Тогда эти препараты становятся неэффективными и приходится их заменять другими, с иным механизмом противовирусного действия. Мы проводим постоянный молекулярно-генетический мониторинг резистентности. До сих пор резистентных штаммов пандемического вируса к осельтамивиру (тамифлю) в России не выявлено. В мире эпидемиологически такие штаммы выявляются. Однако, приобретая резистентность к осельтамивиру (тамифлю), они остаются чувствительными к релензу. Для профилактики гриппа необходимо вакцинироваться, а в случае заражения незамедлительно принимать этиотропные противовирусные препараты. Эти профилактические и лечебные меры предотвратят летальный исход и развитие тяжелых осложнений.

По мере развития пандемии в ряде стран, по данным ВОЗ и по результатам наших исследований (Львов Д.К., 2010), выявлена циркуляция штаммов-мутантов с повышенной вирулентностью, связанной с мутацией в рецептор-связывающем сайте гемагглютинина HA1 с аминокислотной заменой аспарагиновой кислоты (D) на глицин (G), аспарагин (N) и глутаминовую кислоту (E).

Вирус-мутант приобретает α 2-3-рецепторную специфичность, что определяет его способность поражать нижние отделы респираторного тракта, вызывая первичную вирусную пневмонию, часто с летальным исходом. Эти данные были получены в эпидсезоне 2009/10 года, а затем это направление молекулярной эволюции пандемического гриппа A (H1N1) pdm09 было продолжено в эпидсезоне 2010/11 года с использованием разработанного нами математического метода количественной оценки соотношения α 2-3- и α 2-6-рецепторных связей (Щелканов М.Ю.). Параметр $W_{3/6}$ определяли исходя из нормированных спектров рецепторной специфичности штаммов, изолированных от больных с благополучным и летальным исходами по разработанной формуле. В работе использовали панель из девяти рецептор-имитирующих сиалогликополимеров (Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН). Параметр $W_{3/6}$ характеризует превышение α 2-3- над α 2-6-рецепторной специфичностью. При $W_{3/6} < 1$ преобладает α 2-6-специфичность, свойственная сезонным штаммам гриппа; при $W_{3/6} \geq 1$ доминирует α 2-3-специфичность, характерная для высоковирулентного вируса гриппа А птиц (Львов Д.К., Щелканов М.Ю. и др., 2012).

По результатам комплексных исследований клиницистов (Колобухина Л.В., Малышев Н.А.), вирусологов (Бурцева Е.И., Федякина И.Т.), молекулярных генетиков (Прилипов А.Г., Альховский С.В., Самохвалов Е.И.) и специалистов по вирусным рецепторам (Бовин Н.В., Щелканов М.Ю., Богданова В.С.) был проведен многофакторный анализ, где сопоставлены результаты молекулярно-гене-

тического изучения штаммов, анализа их рецепторной специфичности и способности вызывать летальный исход. За два сезона проанализировано 129 штаммов. Выявлена высокая степень корреляции между аминокислотными заменами в пределах рецептор-связывающего сайта HA1 и повышением специфичности к α 2-3-сиалозидам, что обеспечивает эффективное размножение вируса в нижних отделах респираторного тракта и возникновение первичной вирусной пневмонии с летальным исходом. Уже в самом начале пандемии исходный штамм A/California/04/2009 (H1N1) pdm09 обладал двойной специфичностью и к α 2-6-, и к α 2-3-сиалозидам. Как результат, в сравнении с сезонными штаммами гриппа он обладал более низкой способностью передачи от человека к человеку, но более высокой вирулентностью.

В сезоне 2010/11 года возросла доля штаммов с индексом $W_{3/6}$, то есть с выраженным преобладанием α 2-3-специфичности. Такие штаммы представляют особую опасность. По уровню своей рецепторной специфичности они приближаются к высоковирулентному вирусу птичьего гриппа А (H5N1), но, вероятно, их способность к воздушно-капельной передаче снижена. Летальность среди госпитализированных пациентов, зараженных этими мутантами, достигает 60%, как и при птичьем гриппе. Популяция возбудителей пандемического гриппа А (H1N1) pdm09 содержит широкий спектр различающихся по своей вирулентности штаммов, заполняя нишу между сезонными вирусами и высоковирулентным вирусом гриппа А (H5N1) птиц. Дальнейшее распространение мутантов, приобретших высокую вирулентность и сохранивших способность к респираторному пути заражения, приближает их к пандемическому вирусу «испанки» 1918–1919 годов, унесшему свыше 50 млн жизней. Другая возможность в процессе эволюции вируса – сохранение α 2-3-специфичности с высокой вирулентностью, но потеря α 2-6-специфичности, а следовательно, и способности к респираторному пути заражения. Тогда пандемия пойдет на спад. Пока мы не исключаем оба сценария.

Следует также иметь в виду, что на специфичность взаимодействия молекулы HA1 с сиалогликополимерами могут влиять не только аминокислотные замены непосредственно в рецептор-связывающем сайте, но и аминокислотные замены в других доменах гемагглютинина, приводящие к изменению конформации и молекулярной динамики рецептор-связывающего сайта. Кроме того, на доступность рецептор-связывающего сайта для клеточного сиалозидного рецептора могут влиять тонкие взаимодействия между гемагглютинином и нейраминидазой, активность ферментативного центра которой, возможно, способна влиять на рецепторную специфичность. Также следует учитывать наличие у вируса иных факторов патогенности помимо рецепторной специфичности. По данным литературы, появление резистентности к действию интерферона может быть связано с аминокислотной заменой в сайте 92 вирусного белка NS1 аспарагиновой кислоты (D) на глутаминовую кислоту (E). Замена в сайте 627 вирусного белка PB2 глутаминовой кислоты (E) на лизин (K) также ведет к росту вирулентности.