

Молекулярно-генетические механизмы репликации вируса гриппа А и механизмы действия этиотропных препаратов

М. Н. ДУНАЕВА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Резюме

Грипп — острая респираторная вирусная инфекция, известная своими эпидемиями и пандемиями, уносит миллионы жизней повсеместно. Вирус гриппа А (Influenza A virus, сем. *Orthomyxoviridae*), геном которого представляет из себя 8 РНК сегментов отрицательной полярности, широко распространён в связи со своими паттернами изменчивости, обуславливающими развитие устойчивости, например, к противовирусным лекарственным препаратам. Механизмы реассортации и точечные мутации генома вируса гриппа А способны приводить к великому множеству разнообразных вариантов данного патогена. Рассматриваемый жизненный цикл вируса гриппа А с подробным описанием молекулярно-генетических особенностей строения его структур позволяет подчеркнуть преимущества и недостатки используемой этиотропной терапии, воздействующей на разные стадии репликации вируса с точки зрения доказательной медицины в аспектах, связанных с его резистентностью.

Ключевые слова: острые-респираторные вирусные инфекции; ОРВИ; грипп; молекулярная генетика; мутации; резистентность; противовирусные препараты; рациональная терапия

Для цитирования: Дунаева М. Н. Молекулярно-генетические механизмы репликации вируса гриппа А и механизмы действия этиотропных препаратов. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (3–4): 73–94. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-73-94>. EDN: XVHPXT.

Molecular Genetic Mechanisms of Influenza A Virus Replication and Mechanisms of Action of Etiotropic Medications

MARIYA N. DUNAeva

Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G. P. Somov of Rosпотребнадзор, Vladivostok, Russia
Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Abstract

Influenza is an acute respiratory viral infection, known for its epidemics and pandemics, claiming millions of lives everywhere. Influenza A virus (*Orthomyxoviridae* family), whose genome consists of 8 RNA segments of negative polarity, is widespread due to its patterns of variability, which determine the development of resistance, for example, to antiviral drugs. Reassortment mechanisms and point mutations in the influenza A virus genome can lead to a great variety of different variants of this pathogen. The considered life cycle of the influenza A virus with a detailed description of the molecular genetic features of its structures allows us to highlight the advantages and disadvantages of the etiotropic therapy used, affecting different stages of virus replication from the point of view of evidence-based medicine in aspects related to its resistance.

Keywords: acute respiratory viral infections; ARVI; influenza; molecular genetics; mutations; resistance; antiviral drugs; rational therapy

For citation: Dunaeva M. N. Molecular genetic mechanisms of influenza A virus replication and mechanisms of action of etiotropic medications. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (3–4): 73–94. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-73-94>. EDN: XVHPXT.

Введение

Каждый год в период осеннее-зимнего и зимне-весеннего периода межсезонья существует высокая степень вероятности заражения острыми респираторными заболеваниями. Одним из

таких возбудителей ОРЗ, способных привести к серьёзным последствиям (осложнениям) и даже летальному исходу, является вирус гриппа [1–3].

Вирус гриппа в международной классификации подразделяется на вирус гриппа А, вирус

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: mariadunaeva29@yandex.ru



EDN: XVHPXT

*Correspondence to:
E-mail: mariadunaeva29@yandex.ru



гриппа В и вирус гриппа С, а также вирус гриппа D (грипп С и D вызывают болезни животных) [4]. В истории эпидемий вирус гриппа А занимает особое положение среди других инфекций и составляет порядка 90% от всех случаев заболеваемости другими ОРВИ [1–3, 5, 6].

Социальное и экономическое значение данного вируса давно перешло в разряд особо значимых по причине затрат на его лечение и профилактику: ежегодные затраты организациями здравоохранения в развитых странах в пересчёте составляют порядка 420 млрд рублей и в среднем 21 млн рублей затрат персонально пациентами на лечение и восстановление потерь трудоспособности, при этом уровень заболеваемости тяжёлыми формами гриппа, по оценкам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), составляет 5 млн человек [1, 2, 7], а смертность составляет 65 тыс. человек ежегодно. Наиболее обсуждаемые глобальные пандемии гриппа унесли жизни десятков миллионов людей: «испанка» 1918–1919 гг. явилась причиной смерти порядка 50 млн человек по всему земному шару [2, 5, 6], пандемия «свиного» гриппа 2009–2010 гг. унесла жизни 500 тыс. человек по приблизительным подсчётам только в России [1], при этом уровень смертности во время указанных пандемий был самым высоким среди населения в возрасте от 25 до 49 лет [1–3, 8, 9].

В целях раннего выявления новых штаммов вируса гриппа и вызванных ими эпидемий или пандемий организована всемирная служба эпиднадзора. На основании этих данных ВОЗ ежегодно рекомендует органам здравоохранения разных стран наиболее эффективные средства профилактики [1–3].

Вирус гриппа А был выделен у многих животных (свиней, лошадей, диких животных), но основным резервуаром для формирования новых эпидемически значимых вариантов этого вируса являются дикие водоплавающие птицы. Спорадические случаи, вспышки и даже эпидемии вируса гриппа А среди птиц и животных сельскохозяйственного значения, начало которых обусловлено циркуляцией вируса в природных очагах, приводят к масштабным экономическим потерям [1, 2, 5, 6, 10–13].

Грипп — высоко-контагиозное заболевание, передающееся разными путями: воздушно-капельным путём при вдыхании, фекально-оральным путём через проглатывание или через объекты окружающей среды (у животных), способен передаваться от одного вида животного к другому (например, от птиц к млекопитающим) или к человеку.

Вирусы гриппа относятся к семейству Orthomyxoviridae (от *лат.* *myxos* — слизь), получив своё название по причине сродства к муцину поражае-

мых тканей [3, 5, 6, 14]. Входными воротами для вируса являются клетки эпителия респираторного тракта у человека, животных и птиц, а также клетки эпителия желудочно-кишечного тракта у птиц, на поверхности которых расположены гликопротеины — рецепторы прикрепления вирионов гриппа [5, 6, 15, 16].

Вирион гриппа представляет собой частицу овальной или шарообразной формы, сформированной комплексом белков, являющимся оболочкой для генетического материала — РНК, и белков на поверхности вириона для присоединения к клеткам-мишеням, что подробнее будет рассмотрено далее в тексте. Наиболее патогенетически значимыми являются белки поверхности вирусной частицы гриппа — гемагглютинин (Н) и нейраминидаза (N) [1, 2]. Гемагглютинин несёт функцию прикрепления к клетке с последующим процессом проникновения и заражения, а нейраминидаза отвечает за отщепление дочерних вирусных частиц после цикла воспроизведения в заражённой клетке и обеспечивает проникновение вирионов в другие незаражённые клетки.

В настоящий момент известно 18 типов гемагглютининов вируса гриппа А и 11 типов нейраминидаз, большинство из которых найдены у водоплавающих птиц, последние открытые типы вируса гриппа А с 17-м и 18-м гемагглютинином и 10-й и 11-й нейраминидазой обнаружены у летучих мышей [17]. Гемагглютинин и нейраминидаза являются белками, определяющими номенклатуру штаммов вирусов, как например H1N1 или H5N1, где номер гемагглютинином или нейраминидазы обозначают определённую антигенную детерминанту и специфичны при выработке антител в процессе формирования иммунитета [4, 18, 19].

Высокая мутационная изменчивость путём механизмов реассортации при смешанном заражении, когда вирусы гриппа А могут обмениваться сегментами генома вирусов гриппа, приводя к генетической реассортации (*antigenic shift*), точечные мутации (*antigenic drift*), дефект-интерферирующие частицы и РНК-рекомбинации приводят к великому разнообразию молекулярных преобразований во всех 8 сегментах РНК вируса гриппа А [5, 6, 13]. Молекулярный механизм реассортации способен привести к внезапному появлению нового пандемически значимого варианта вируса гриппа А [1–3]. Помимо упомянутых механизмов, РНК-содержащие вирусы в своём репликативном аппарате не имеют механизмов репарации и исправления ошибок в генетической последовательности, что ведёт к накоплению мутаций и постоянному появлению отличий в геноме у вирусного потомства [20–22]. Указанные процессы являются препятствием на пути формирования постоянного естественного иммунитета, а учитывая быстроту развития инфекцион-

ного процесса (высокопатогенный грипп способен привести к смерти за 24–48 ч) в организме, необходимо понимать, каким именно образом данный патоген действует в организме на молекулярном уровне.

Изменения в структуре генома вирусной частицы приводят к вариативности аминокислотного состава в структуре белков вириона, высокой вирулентности и адаптационной способности к клеточным рецепторам нового хозяина, а также выработке резистентности к противовирусным препаратам [1–3, 14, 21–28].

В связи с этим понимание взаимосвязи строения данного вируса, его генетических изменений и жизненного цикла является ключевыми факторами для поиска новых действенных препаратов и оценки эффективности уже существующих и активно применяемых на практике. Данная работа посвящена анализу строения и жизненного цикла вируса гриппа А с точки зрения действия этиотропных препаратов.

Строение вируса гриппа А

Вирус гриппа А (*Influenza A Virus*) относится к семейству Orthomyxoviridae, является оболочечным вирусом. Обычно вирионы имеют округлую, реже удлинённую, форму (рис. 1). Диаметр вирионов 80–120 нм. Геном вируса сегментированный, он состоит из 8 сегментов РНК отрицательной полярности, кодирующих 12–14 белков, количество белков зависит от штамма. Размер сегментов от 890 до 2340 нуклеотидов. Общий размер генома 13,5 Kb [5, 6, 14].

Вирус гриппа А относится к РНК-содержащим вирусам, что является причиной его высокой мутационной изменчивости, равно как и резистентности к лекарственным препаратам: даже одна нуклеотидная замена или промежуток в последовательности основных вирулентных антигенных детерминант вируса гриппа, таких как гемагглютинин и нейраминидаза, приводит к полному из-

менению его инфекционных свойств со слабо вирулентного к смертельно опасному [5, 6, 14, 20–27].

Вирус гриппа А отличается от других типов вируса гриппа В, С и D главными структурными белками — нуклеопротеином (NP) и матричным белком (M1). Механизм реассортации между штаммами вируса гриппа В был продемонстрирован в лабораторных условиях, но вероятно он не является источником высокой мутационной изменчивости в силу его обнаружения только в человеческой популяции. Вирусы гриппа С и D обнаружены у животных [10–13].

Согласно данным GenBank, каждый сегмент генома вируса гриппа А кодирует определённые белки, последовательность которых всегда транскрибируется следующим образом:

- 1) полимеразный белок 2 (PB2) кодируется 1-м сегментом генома (длиной примерно 2277 нуклеотидов или соответственно 759 аминокислот);
- 2) полимеразный белок 1 (PB1) кодируется 2-м сегментом генома (длиной примерно 2270 нуклеотидов или соответственно 757 аминокислот);
- 3) полимераз (PA) кодируется 3-м сегментом генома (длиной примерно 2148 нуклеотидов или соответственно 716 аминокислот);
- 4) гемагглютинин (HA) кодируется 4-м сегментом генома (длиной примерно 1710 нуклеотидов или соответственно 570 аминокислот);
- 5) нуклеопротеин (NP) кодируется 5-м сегментом генома (длиной примерно 1494 нуклеотидов или соответственно 498 аминокислот);
- 6) нейраминидаза (NA) кодируется 6-м сегментом генома (длиной примерно 1410 нуклеотидов или соответственно 470 аминокислот);
- 7) белки М (M1 и M2) кодируются 7-м сегментом генома (длиной примерно 756 и 291 нуклеотид или соответственно 252 аминокислоты и 97 аминокислот);
- 8) неструктурные белки NS (NS1 и NS2 или NEP) кодируются 8-м сегментом генома (длиной примерно 690 нуклеотидов 363 нуклеотида или соответственно 230 аминокислот и 121 аминокислота).

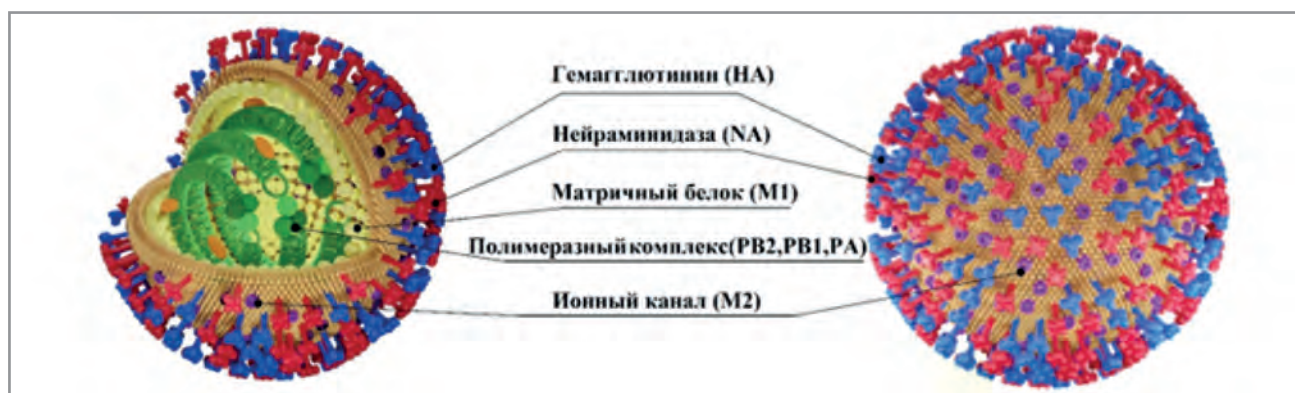


Рис. 1. Схематическое изображение строения вириона гриппа А.

Fig. 1. Schematic representation of the structure of the influenza A virion.

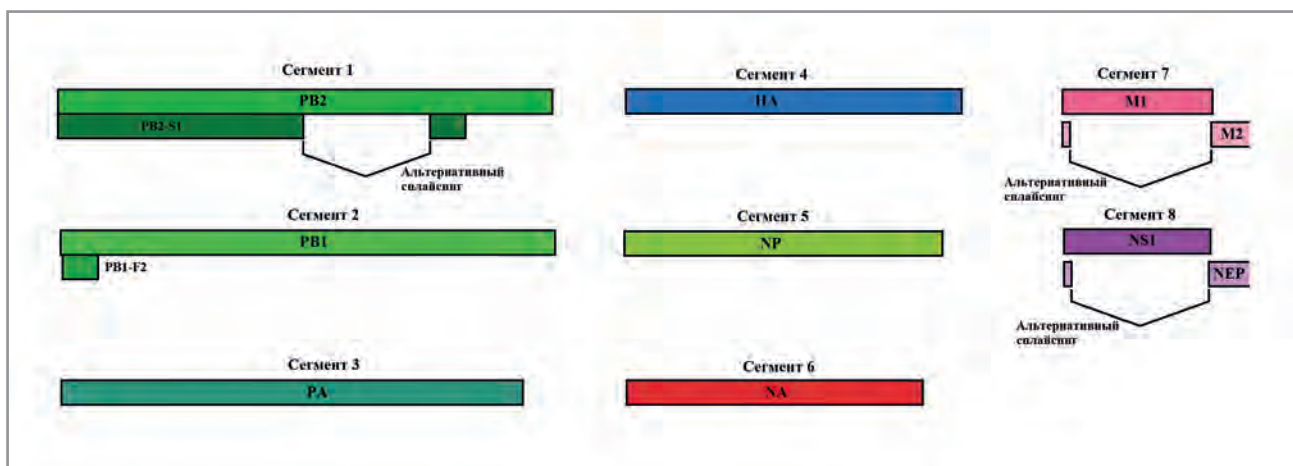


Рис. 2. Схематичное изображение сегментов генома вируса гриппа А.

Fig. 2. Schematic representation of the influenza A virus genome segments.

В международной системе International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV Taxonomy) отображая геном вируса гриппа принято перечислять сегменты вирусной РНК в указанной последовательности [4] (рис. 2).

Полимеразный комплекс

Первые три сегмента генома гриппа А являются матрицами для вирусного полимеразного комплекса, содержащего белки PB2, PB1 и PA. Совместно с вирусной РНК (вРНК или vRNA), упакованной в комплекс путём связывания с белком NP, данные белки формируют рибонуклеопротеин (RNP), который является транскрипционным и репликационным аппаратом вируса гриппа (рис. 3). Щелочные белки полимеразного комплекса PB1 и PB2 и кислый белок PA, собираясь в структуру тримера, представляют собой вирусную полимеразу, где С-конец белка PA связывает N-конец белка PB1, а С-конец белка PB1 связывает N-конец белка PB2. Белок PB1 представляет собой активный участок для связывания 5' и 3' терминальных концов вРНК и кРНК.

PB2 — один из самых длинных сегментов вируса гриппа А, кодирует одноимённый вирусный белок PB2 с длиной последовательности 757 аминокислотных остатков (ам. о.). Механизм действия PB2 заключается в отщеплении 5'-концевых фрагментов клеточных мРНК размером 13 нуклеотидов (cap-snatching) [5, 6, 29]. PB2 обладает сайтом распознавания и связывания кэп-структур клеточных мРНК, расположенным в участке аминокислотной последовательности 318–483, где он связывает клеточную мРНК. Кэп-промотор — это m⁷GpppX, несущий положительный заряд на метильной группе в 7-м положении.

PA — субъединичный полимеразный белок с последовательностью длиной 716 ам. о., проявляющий эндонуклеазную активность: он отр-

зает кэп-структуру клеточной мРНК и связывает этот образовавшийся промотор с вирусной РНК на 3'-конце.

PB1 — субъединичный белок гетеротримера с последовательностью белковой цепи 757 ам. о., является основным каталитическим компонентом, распознающим вРНК и кРНК и ведущим синтез новой нуклеотидной цепи.

Помимо этого PB2 также содержит две области, которые связывают NP — белок упаковки РНК, а также содержит сайт связывания с белком PB1. Области PB2, ответственные за связывание NP и PB1, обнаруживают значительное перекрытие, и связывание NP с фрагментами PB2 может быть вытеснено PB1. Связывающие домены PB2 действуют как ингибиторы экспрессии вирусных генов, и в соответствии с данными связывания *in vitro* их ингибирующая активность зависит от концентрации PB2, NP и PB1. Это означает, что белки PB2 и NP совместно являются регуляторами переключения процессов транскрипции и репликации [5, 6].

PB1-F2 является факультативным белком, считываемым с альтернативной рамки считывания второго сегмента генома вируса гриппа. Белок PB1-F2 способен встраиваться во внешнюю и во внутреннюю мембраны митохондрий, вызывая формирование сквозных пор. В результате такого взаимодействия из митохондрий высвобождается цитохром С, запуская процесс апоптоза. Выявлено, что PB1-F2 приводит к повышению вирулентности штаммов вируса гриппа и их экологической пластичности, то есть способности преодолевать межвидовой барьер [6].

Репликация вирусной РНК начинается и заканчивается в определённых сайтах.

Характерной особенностью воспроизведения вРНК РНК-зависимой РНК-полимеразой является невозможность исправления ошибок во время соединения нуклеотидов, что является причиной

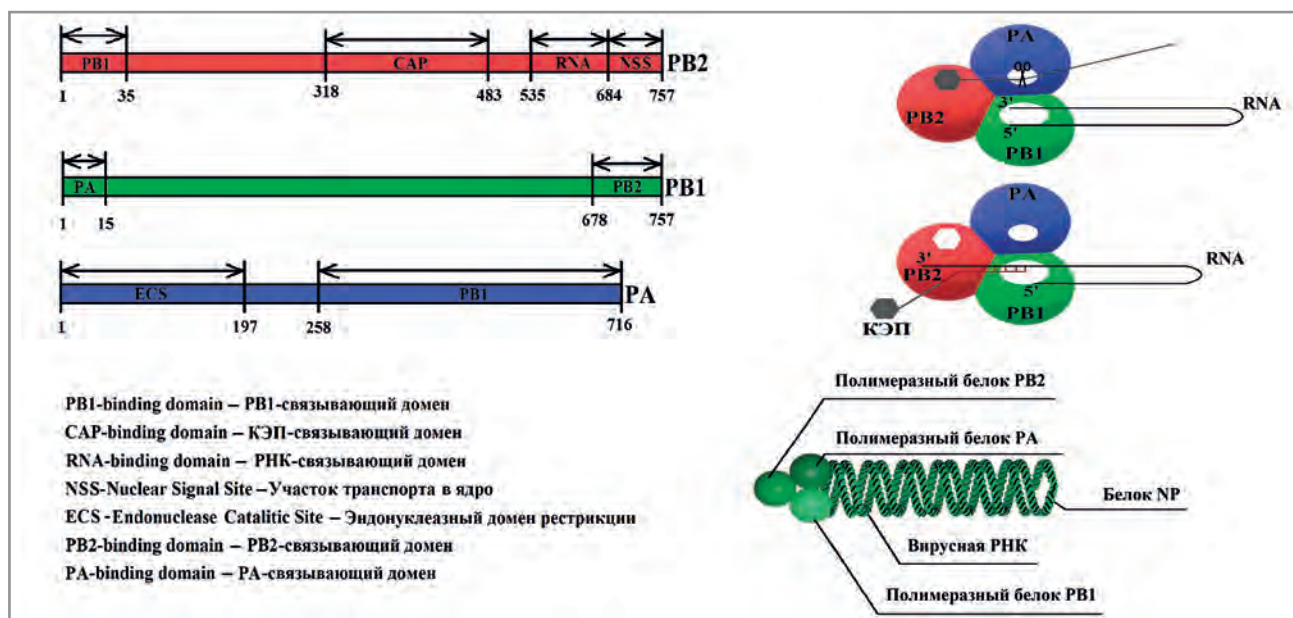


Рис. 3. Схематичное изображение сегмента генома вируса гриппа — рибонуклеопротеида, сформированного комплексом белков PB2, PB1, PA, NP и вирусной РНК.

Fig. 3. Schematic representation of an influenza virus genome segment — a ribonucleoprotein formed by a complex of proteins PB2, PB1, PA, NP, and viral RNA.

мутаций вируса, ускоряющих его эволюцию и зачастую увеличивающих его вирулентность [5, 6].

Описаны аминокислотные замены, играющие роль «переключателя» вирусного тропизма с птиц на млекопитающих: E627 → K, D701 → N в PB2, S714 → R в PB2, L13 → P и S678 → N в PB1, K615 → N в PA [6].

Гемагглютинин

Гемагглютинин (Н или HA) — мембранный белок вируса гриппа (размер 13,5 нм, молекулярная масса ≈76 кДа). Он представляет собой тример в виде выроста грибовидной формы на поверхности липидной мембранной оболочки вируса (рис. 1, 4) [18, 30].

Гемагглютинин является рецептором вирусной частицы, необходимым для прикрепления и проникновения в поражаемую клетку. Это самый многочисленный из белков оболочки составляет примерно 80% от всех поверхностных белков. Степень заражения организма определяется свойствами гемагглютинина [5, 6, 18, 30, 31].

Мономеры гемагглютинина синтезируются отдельно как предшественники HA в виде последовательности длиной 570 аминокислот, которые протеолитически разделяются на две субъединицы HA1 и HA2. Предварительно в ядре заражённой клетки с матрицы РНК синтезируются предшественники HA0, далее они протеолитически расщепляются на три структуры гемагглютинина и формируют булавовидный пепломер [30, 31]. Верхушка пепломера состоит из

антипараллельных β-слоёв участка субъединицы HA1, а нижние части этой структуры состоят из трёх спирально-закрученных α-спиралей. Субчастица HA1 имеет глобулярную или овоидную форму и несёт на себе RBS (receptor binding site) — участок связывания вириона с рецептором клетки — мишени. RBS сформирован тремя участками аминокислот — петлями и спиральями, образующими своего рода углубление или карман [28, 32, 33].

Инициация инфекционного процесса происходит путём взаимодействия RBS глобулярной части гемагглютинина с рецептором на клетках — мишенях, что приводит к их химическому взаимодействию и дальнейшему внедрению вириона в клетку с образованием везикулы через клатрин-опосредованный путь или кавеолин-независимый путь.

Стебельковая часть гемагглютинина HA2 несёт в себе прежде всего гидрофобный пептид слияния FP (Fusion Peptide), ответственный за закрепление гемагглютинина в мембране эндосомы и участие в последующем образовании поры в ней. Также стебельковая часть имеет трансмембранный домен ТМ (Transmembrane Domain), который удерживает эту часть гемагглютинина в оболочке вириона [34, 35].

Большинство типов HA пневмотропны, что связано со специфичностью фермента триптазы, расщепляющей синтезируемый белок непосредственно в лёгких, однако замечено, что H5 и H7 являются пантропными птичьими вариантами, способными поражать различные виды органов и тканей [5, 6, 13, 36].

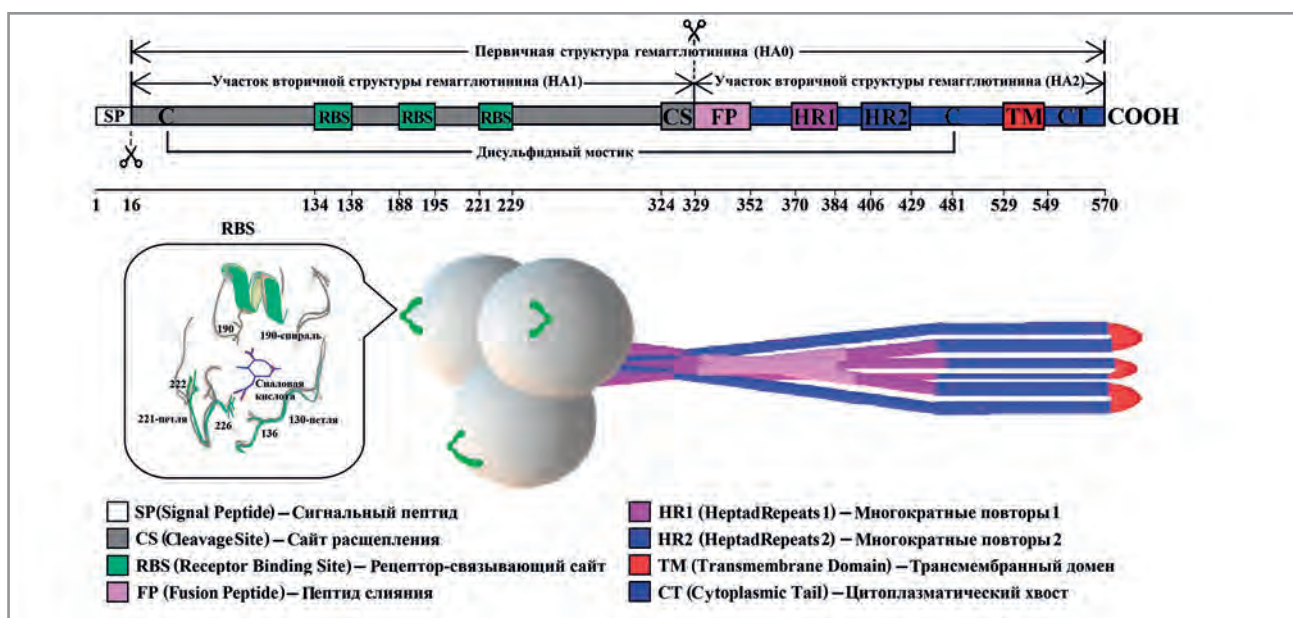


Рис. 4. Строение белка гемагглютинина: схематичное отображение специфических сайтов белка на генетической карте его РНК-сегмента и его четвертичная структура (цветом обозначено местоположение того или иного участка согласно его генетической карте и конформации).

Fig. 4. The structure of hemagglutinin protein: a schematic display of specific protein sites on the genetic map of its RNA segment and its quaternary structure (the color indicates the location of a particular site according to its genetic map and conformation).

Различие в способности расщепиться эндогенными протеазами зависит от аминокислотного состава сайта протеолитического нарезания HA: низкоковирулентные варианты гриппа А птиц содержат 1 или 2 положительно заряженных основных остатков аминокислот в сайте расщепления (CS), например, PQ....RETR|G (слабовирулентный грипп птиц H5); высококовирулентные варианты вируса гриппа А птиц имеют повышенное содержание положительно заряженных основных аминокислотных остатков PQRERRRKKR|G (высоковирулентный «гонконгский» грипп птиц H5N1). Высоковирулентные для человека пандемические штаммы содержат единичные положительно заряженные аминокислоты в участке CS, например, PS....IQSR|G (высоковирулентный «испанский» грипп H1N1). Это свидетельствует о том, что характеристики функционирования протеаз, расщепляющих HA₀ на две субъединицы, в различных хозяевах могут различаться. Вместе с тем, именно высококовирулентные варианты вируса имеют наибольшие шансы преодолеть межвидовой барьер [6, 37–39].

Ключевая роль столь специфического строения гемагглютинина заключается не столько в закреплении вириона на поверхности клетки-мишени, сколько в механизме раскрытия внутриклеточной везикулы (рис. 5), несущей в себе вирион гриппа внутрь поражаемой клетки. Процесс

внедрения вирусной частицы в клетку рассмотрен далее.

В процессе продвижения эндосомальной везикулы, стенки которой пронизывают АТФ-зависимые протонные насосы, эти насосы активируются при высвобождении эндосомы от белка клатрина и начинают активно закачивать протоны внутрь. Возможно, поток протонов происходит в самый момент слияния вириона с эндосомальной мембраной, а эндосомальные ионные каналы препятствуют образованию положительного напряжения [5, 6].

В результате работы протонных каналов М2 происходит закисление (ниже pH 6,0) внутренней среды вириона. Для преобразования белковых структур достаточно изменения pH на 0,2 единицы. Протонирование приводит к изменению конформации гемагглютинина таким образом, что глобулярная часть HA1 раскрывается, а стебельковая часть HA2, главным образом пептид слияния FP, резко выпрямляется по направлению к мембране эндосомы, где он заякоревается и становится опорой, субъединица HA2 остаётся заякоренной в липидной мембране вириона посредством С-концевого ТМ-домена, вокруг создавшейся гидрофобной оси из стебельковой части гемагглютинина спирально сворачиваются глобулярные части белка (HA1), стягивая участки эндосомальной мембраны, что приводит к её инвагинации и дальнейшему формированию поры.

Через образовавшиеся поры внутреннее содержимое вириона, а именно — рибонуклеопротеиновые комплексы выходят и транспортируются непосредственно к месту репликации, то есть в ядро (см. рис. 5) [5, 6, 40].

Рецепторы клеток-мишеней

Рецепторами клеток-мишеней на поверхности эпителиальных клеток дыхательных путей у человека и животных, а также желудочно-кишечного тракта у птиц являются белки, интеркалированные в билипидную мембрану, наружная поверхность которых представлена остатком сиаловой (или нейраминовой) кислоты) (рис. 6, 7) [5, 6, 33].

Нейраминовая кислота (NeuAc или sialic acid) чаще всего терминирована сахарами и представлена в виде N- и O-гликопротеинов. Другие типы сочетаний также представлены в живых организмах, но NeuAc — это основное соединение, являющееся рецептором, обнаруженное у человека. Ацетильные группы в данном соединении также могут быть представлены как O-ацетил, так и N-ацетил.

Гемагглютинин (НА) вируса гриппа А, поражающий человека, преимущественно распознаёт α -2,6-гликозидные связи на рецепторах клеток-мишеней, а вирусы гриппа птиц афинны к α -2,3-гликозидным связям. Аффинность к человеческому или птичьему типу рецептора задаётся составом аминокислот в НА.

Необходимо отметить, что клетки нижних дыхательных путей человека также несут α -2,3-сиаловые рецепторы, что предопределяет возможность заражения человека птичьими штаммами вируса гриппа [6, 41, 42].

В настоящее время самыми распространёнными гемагглютинином вируса гриппа в популяции людей являются Н1 и Н3. Гемагглютины Н5, Н7 и Н9 — это гемагглютины птичьего гриппа, которые способны вызывать заболевания у людей. Известно 18 типов гемагглютининов.

Мутационная изменчивость гемагглютинина

Любой вирус является облигатным паразитом, это означает, что вирус способен воспроиз-

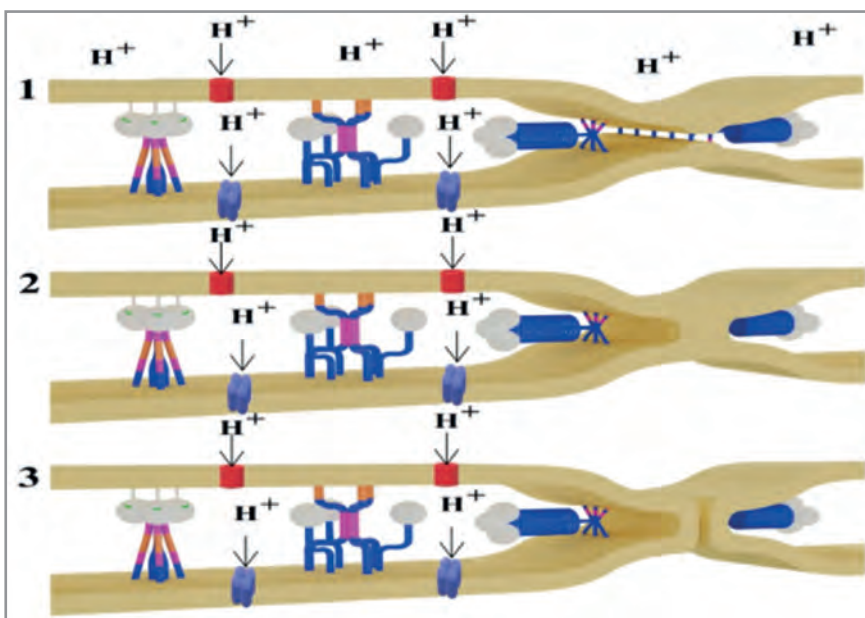


Рис. 5. Схематическое изображение преобразований гемагглютинина в процессе образования поры в мембране эндосомальной везикулы, в которой находится вирион гриппа А

Fig. 5. Schematic representation of hemagglutinin transformations during the formation of a pore in the membrane of the endosomal vesicle, which contains the influenza A virion.

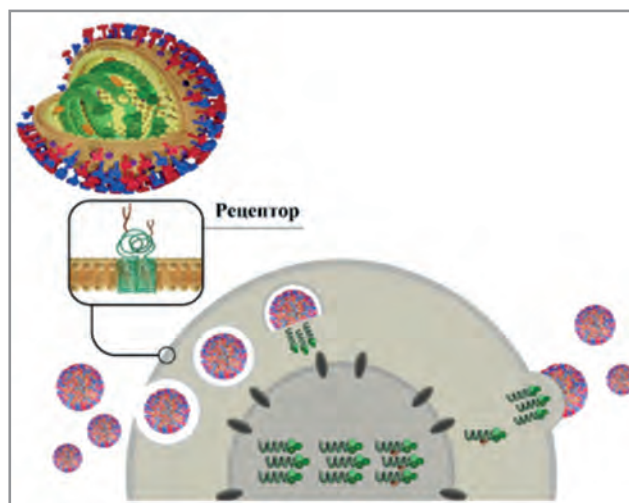


Рис. 6. Схематическое представление рецептора клетки-мишени.

Fig. 6. Schematic representation of a target cell receptor.

водить потомство только проникая внутрь клетки, где будет использовать ресурсы этой клетки, что является необходимой стадией его жизненного цикла. Проникновение вируса гриппа осуществляется путём взаимодействия его гемагглютинина с сиаловыми кислотами рецепторов поражаемых клеток [5, 6, 33].

В природе обнаружено 18 типов гемагглютининов. Такое множество обусловлено необходимостью приспособления белков вируса гриппа

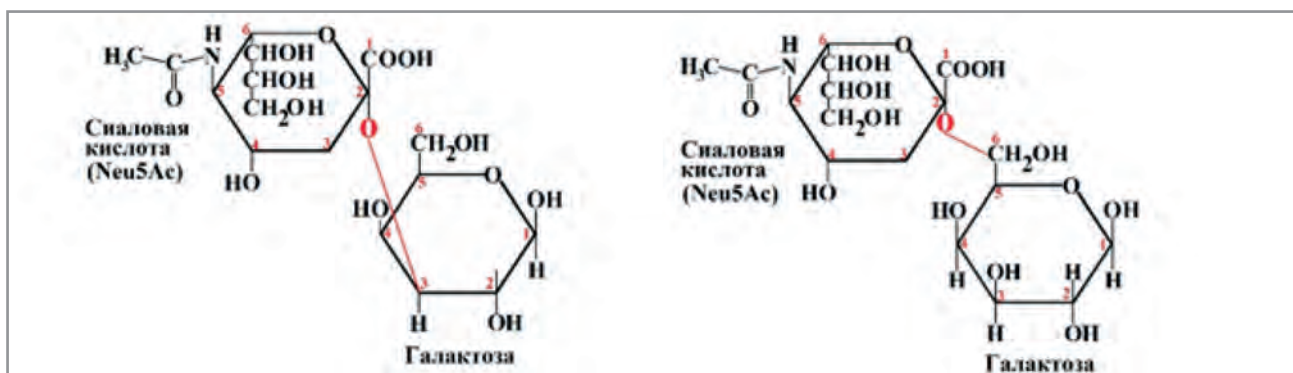


Рис. 7. Химическая формула концевых остатков рецепторов, распознаваемых гемагглютинином вируса гриппа А (слева — α -2,6-гликозид сиаловой кислоты; справа — α -2,3-гликозид сиаловой кислоты).

Fig. 7. Chemical formula of the terminal residues of the receptors recognized by the hemagglutinin of the influenza A virus (on the left — sialic acid α -2,6-glycoside, on the right — sialic acid α -2,3-glycoside).

для прикрепления к рецепторам и дальнейшего проникновения патогена внутрь клеток-мишеней большого многообразия живых организмов. В связи с тем, что живые организмы имеют общую биологическую, биохимическую, молекулярную и генетическую природу, несмотря на такое разнообразие биологические структуры имеют во многом консервативное строение. Белковой природе антигенных детерминант гриппа это также свойственно. Мутационная изменчивость возможна только в пределах определённых точечных замен, когда незначительно изменяется нуклеотидная последовательность в определённых локусах РНК, соответственно приводя к преобразованию конформационной структуры белка в этих локусах [22].

Так, например, некоторые конформационные изменения ведут к abortивному процессу взаимодействия вирусной частицы и клетки-мишени, когда вирус не может проникнуть внутрь, и соответственно такие изменения не приводят к закреплению этих преобразований в генотипе в виде вирусного потомства [6, 22, 43]. В то время как другие точечные замены ведут к увеличению сродства между вирусной частицей и рецептором поражаемой клетки. Примером может служить появление гемагглютининов вируса гриппа А, прикрепляющихся к α -2,3- и α -2,6-сиаловым кислотам, что возможно при замене Q226 → L226. Возможные варианты аминокислотных замен гемагглютинина, приводящих к вариациям в его строении и специфичности, известные на данный момент представлены в табл. 1.

Таким образом, строение аминокислотной последовательности гемагглютинина относительно консервативно, в то же время возникающие точечные замены могут существенно изменять свойства вируса иногда полностью изменяя специфичность его рецептора и, соответственно, приводить к резистентности лекарственных препаратов.

Нейраминидаза

Нейраминидаза (N или NA) — это экзосиалидаза (EC 3.2.1.18) — фермент, обладающий гидролитической активностью. Нейраминидаза представляет собой второй поверхностный антиген вируса гриппа. Она ответственна за проникновение вируса через муциновый слой слизистой оболочки и отпочковывание вновь сформированных вирионов наружу из клетки хозяина путём отщепления сиаловой кислоты от поверхности клеток ферментативным путём, высвобождая новые вирионы [5, 6, 31, 44–47].

Нейраминидаза расщепляет α -кетозидную связь типа α 2–3, α 2–6 и α 2–8 между терминальным остатком сиаловой (N — ацетилнейраминовой) кислоты и D-галактозамина или D-галактозы. Оптимум pH для NA лежит в пределах 6,4–7,0 при гидролизе α 2–3-связей, и в пределах 4,5–7,0 при гидролизе α 2–6-связей [5, 6, 33, 48].

Полипептидная цепь NA вируса гриппа состоит из 470 аминокислотных остатков. В третичной структуре NA можно выделить несколько структурно-функциональных доменов: цитоплазматический, трансмембранный, «голову», а также «стебель», соединяющий голову фермента с транс-мембранным доменом.

На поверхности вириона NA представляет собой гомотетрамер, имеющий грибообразную форму, — голова на тонком стебле. В голове NA расположен активный центр, а также кальций — связывающий домены, который стабилизирует структуру фермента при низких значениях pH. Молекулярная масса мономера ≈ 60 кДа, тетрамера ≈ 240 кДа (рис. 8). Тетрамеры могут собираться в кластеры на поверхности вириона.

Одна вирусная частица несёт в среднем 500–900 пепломеров NA_3 и 100–200 NA_4 . При этом формула состава поверхностных белков гриппа представляет собой соотношение $NA_3 : NA_4 = 4-5 : 1$ [6, 47].

Таблица 1. Специфичность аминокислот гемагглютинаина в указанных положениях и их эффекты, оказываемые на взаимодействия рецептора и гемагглютинаина

Table 1. Specificity of hemagglutinin amino acids at the indicated positions and their effects on receptor-hemagglutinin interactions

Аминокислота и её местоположение в первичной структуре НА (стрелкой указаны аминокислотные замены)	Эффекты взаимодействия рецептора клетки-мишени и гемагглютинаина (НА)
Y98→F98	Данная аминокислотная замена приводит к тому, что гемагглютинин не способен связываться с рецепторами Neu5Ac
H183→F183	Данная аминокислотная замена приводит к тому, что гемагглютинин не способен связываться с рецепторами Neu5Ac
L194→A194	Данная замена приводит к тому, что гемагглютинин не способен связываться с рецепторами Neu5Ac
W153→A153	Подобная замена приводит к конформационным изменениям, в результате которых гемагглютинин не проявляется на поверхности мембраны зараженной клетки
E190 → D190	Пример переключения специфичности сайта связывания рецептора с птичьего варианта рецептора α -2,3-Neu5Ac на α -2,6- Neu5Ac, это позволило вирусу гриппа А приобрести сродство к клеткам-мишеням человека, что вызвало пандемию «испанского гриппа».
E190	Аминокислота в данном положении характерна для штаммов утиного происхождения.
K193 или R193	Данные аминокислоты в эпитопах приводят к сродству к сульфатированным рецепторам, что свойственно вариантам H5 и H7 от кур, H13 и H16 от чаек, H3 от лошадей
Q226 → L226	Данная аминокислотная замена у H3 гемагглютинаина приводит к способности связывать α 2-6 связанные сиаловые кислоты, что свойственно эпидемическим штаммам
L226 → Q226	Данная замена приводит к переключению специфичности рецептор-связывающего сайта с α 2-6 на α 2-3 связь
A190, V190	Алифатические гидроксильные (T190) или кислотные (D190) боковые группы предопределяют сродство гемагглютинаина к птичьим или человеческим рецепторам
T190, D190	Аминокислоты в этом положении несут свойство сродства к человеческим рецепторам
G228 → S228	Данные аминокислоты в НА (H2) и НА (H3) способствуют повышению аффинности к α 2-6-рецептору
R329Q	Сайт расщепления для протеаз, конформационные изменения в котором приводят к созреванию гемагглютинаина и его фузионной активности, то есть определяет патогенность
G225 → D225	Появление аффинности к α 2-6-рецептору у вариантов «испанского гриппа»
Эпитопы 136, 190, 193, 216, 221, 222, 225, 226, 227 и 228 а. о.	Замены аминокислот в данных эпитопах могут влиять на изменение рецепторной специфичности
Q30 → N30	Мутации, искусственно полученные в лабораторных условиях <i>in vitro</i> , приводящие к резистентности к арбидолу
Q42 → H42	
K51 → N51	
K121 → R121	

Голова представляет собой большой домен, состоящий из четырёх идентичных антипараллельных β -слоёв (мотивов), организованных в пропеллероподобную структуру. Наиболее важными для функционирования фермента являются петли активного центра этих мотивов, а также Ca^{2+} -связывающий домен, расположенный в непосредственной близости к активному центру. Петли являются наиболее вариабельной частью структуры всех НА, варьируя по длине и даже неся элементы упорядоченности, типичные для вторичной структуры.

Сайт связывания нейрамининовой кислоты (Neu5Ac) расположен «над» первыми тяжами третьего и четвёртого мотивов, в большом кармане на поверхности НА. Активный центр находится на N-конце центральных параллельных тя-

жей. Он представляет собой углубление в центральной части диаметром 16 Å и глубиной от 8 до 10 Å, расположенное на расстоянии 32 Å от оси симметрии четвёртого порядка. Сайт фланкирован двенадцатью гибкими петлями, которые тянутся вверх и наружу от этой оси.

Активные центры фермента расположены на наружной части глобулярных участков головного фрагмента нейраминидазы и сформированы функциональными аминокислотными остатками, которые контактируют непосредственно с продуктом ферментативной реакции — сиаловой кислотой, а все образуемые ими контакты полярны.

В головной части фермента имеется кальций-связывающий домен, необходимый для стабилизации фермента при низких значениях pH [18, 37, 44].

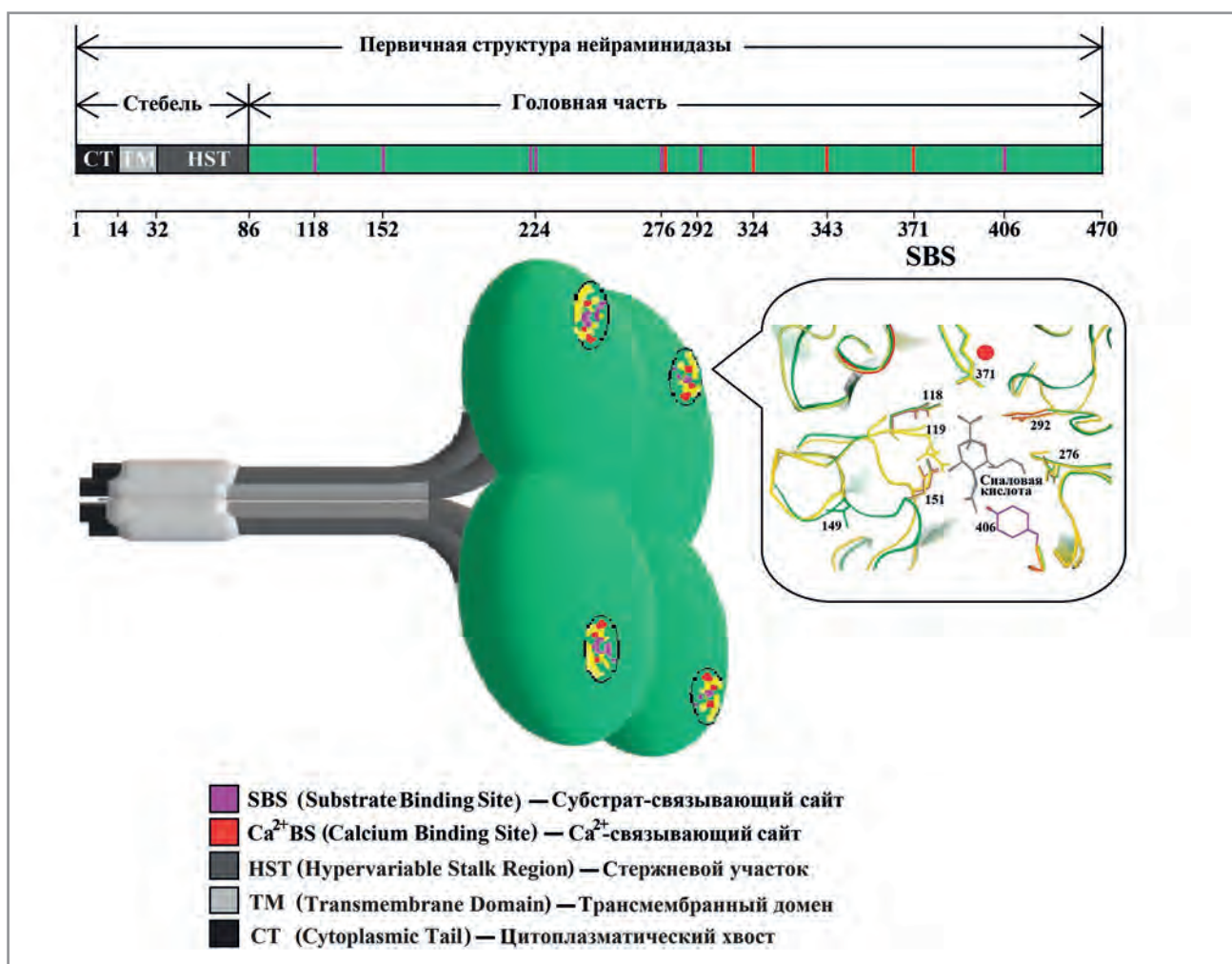


Рис. 8. Генетическая и структурная модель нейраминидазы с сайтами специфичности.

Fig. 8. Genetic and structural model of neuraminidase with specificity sites.

Особенностью стеблевой части НА является её высокая мутационная изменчивость, которая приводит к более или менее продуктивному высвобождению вирионов гриппа из инфицированной клетки, а также является фактором иммуногенности. Исследования показали, что длина стеблевой части НА имеет прямое влияние на высвобождение вирионов на стадии выпоноковывания: вирионы с удлинёнными стеблевыми частями имеют более высокую способность к репродукции, а также более высокую тропность к поражаемым тканям, тогда как вирусные частицы с укороченными стеблями в опыте на культурах тканей показали меньший выход вируса и низкую вирусную нагрузку [5, 6].

У вирусов гриппа А насчитывается одиннадцать подтипов НА, у вирусов В, С и D — только по одному. Девять подтипов нейраминидазы вируса гриппа А разделяют на две филогенетические группы. В первую входят нейраминидазы подтипов N1, N4, N5 и N8, а вторую — N2, N3, N6, N7 и N9, отдельно стоит подтип N10 и N11 летучих мышей [2–4, 18, 25, 29, 40, 41, 48].

Точечные мутации нейраминидазы в наиболее важных сайтах этого фермента приводят к устойчивости вирусов сезонного гриппа к ингибиторам нейраминидазы. Далее в табл. 2 показаны эффекты аминокислотных замен на функциональные изменения данного белка, повышающие резистентность вируса гриппа к препаратам [6, 26, 43].

Нуклеопротеин

Нуклеопротеин (NP) — глобулярный белок упаковки вирусной РНК, основной функцией которого является инкапсидация вирусного генома. Каждый сегмент РНК вируса гриппа инкапсидирован нуклеопротеинами (NP) с образованием рибонуклеотиднуклеопротеиновых (РНП) комплексов. Вокруг цепочки белка NP одна цепь «минус» РНК — сегмента компактно упакована таким образом, что образует комплексы рибонуклеопротеидов с РНК (см. рис. 3). Структура сегмента представляет собой тримерный комплекс, состоящий из головки, тела и хвостика, где головка — это по-

Таблица 2. Специфичность аминокислот нейраминидазы в указанных положениях и их эффекты, оказываемые на взаимодействия белка NA и ингибиторов нейраминидазы

Table 2. Specificity of neuraminidase amino acids at the indicated positions and their effects on the interactions of the NA protein and neuraminidase inhibitors

Аминокислота и её местоположение в первичной структуре НА (стрелкой указаны аминокислотные замены)	Эффекты, происходящие в результате изменений аминокислотного состава в нейраминидазе (NA)
H275 → Y275 (или H274 → Y274)	Данная мутация у штаммов H1N1 приводит к устойчивости к осельтамивиру в результате модификационной изменчивости активного центра НА
V234 → M234	Вторичные мутации, которые привели к появлению резистентных вариантов
R222 → Q222	H275 → Y275 в сезонном гриппе A(H1N1)
R292 → K292	Данная замена показала снижение чувствительности к ингибиторам нейраминидазы у штаммов H3N2.
G248 → 248R	Данные аминокислотные замены в вариантах N1 ведет к резистентности
I266 → 266V	как к осельтамивиру так и занамивиру в штаммах гриппа A(H1N1)
Y155 → H155	Данная аминокислотная замена в вариантах N1 ведет к резистентности к осельтамивиру и занамивиру в штаммах гриппа A(H1N1), в то время как занамивир был создан на основе варианта H1N2 с заменой H155, где он проявлял свою эффективность
Q226 → H226	Данная аминокислотная замена в вариантах N2 ведет к резистентности
E41 → G41	как к осельтамивиру так и занамивиру у штаммов H3N2 и H1N2.
E99 → V99	Мутации аминокислот в нейраминидазе N1, приводящие к резистентности
H255 → Y255	к осельтамивиру у штамма H1N1.
R273 → K273	
N275 → S275	

лимеразный комплекс, состоящий из белков PB2, PB1 и PA, а тело и хвостик — это комплекс вирусной РНК и нуклеопротеина NP. Упаковка vРНК при помощи белка NP напоминает структуру бусин, нанизанных на нить, где vРНК — это условно «нить», а белок NP — «бусины» (см. рис. 3) [5, 6].

Белок NP имеет способность к олигомеризации и задействован в процессах транскрипции вирусного генома, репликации, упаковки его в вирионы. Белок NP способен взаимодействовать со многими макромолекулами: с вирусными белками полимеразного комплекса PB1 и PB2, матричным белком M1, а также с клеточными полипептидами: α -импортином, F-актином, рецептором ядерного экспорта CRM1. Экспериментально показана роль белка NP в адаптации вирусов гриппа к организму-хозяину [5, 6].

Матричные белки M1 и M2

Белок M1 — глобулярный белок удлиненной формы, размером 27,8 кДа и длиной белковой цепи 252 аминокислотных остатка. M1 выстилает изнутри вирусную оболочку, представляющую собой липидный слой, заимствованный у клетки-мишени, и формирует под ней структурный слой. Структура данного белка организована следующим образом: она содержит три домена — мембраносвязывающий домен, участок регуляции внутриядерного транспорта вирусного РНП и участок связывания с рибонуклеопротеиновыми комплексами [5, 6, 21, 49].

Матричный белок M1 полифункционален: он участвует в синтезе новых вирусных РНП-комплексов, участвует в их транспорте из ядра в цитоплазму к месту сборки нового вириона, а также является организующим белком для формирования его оболочки, то есть обеспечивает целостность вирусной частицы. Вероятно, основным переключателем конформационных изменений белка M1 является значение pH.

Белок M1 взаимодействует и находится в комплексе с небольшим количеством белка NS2 или NEP.

Оба матричных белка M1 и M2 считаются с 7-го сегмента РНК путём альтернативного сплайсинга, где только первые 9 аминокислот являются общими для двух белков.

Белок M2 — это трансмембранный белок оболочки вируса гриппа. Он является самым маленьким по размеру из известных на сегодняшний день белков: $\mu(M2) \approx 11$ кДа, он упаковывается в структуру тетрамера $\mu(M24) \approx 44$ кДа, образуя гидрофильный канал через липидный бислой (рис. 9). Через этот канал определённые неорганические ионы могут диффундировать по своим электрохимическим градиентам. Каналы обычно закрыты и открываются только в ответ на определённый стимул, например, на изменение мембранного потенциала (потенциал-управляемый канал) или связывание лиганда (лиганд-управляемый канал) [6, 49].

Первичную конформацию данного белка составляет цепь из 97 аминокислот, полученная пу-

тём альтернативного сплайсинга с 7-го сегмента генома вируса гриппа. В процессе активной работы фрагменты серина 31 (S31) и имидазольного кольца гистидина в позиции 37 (H37) перераспределяют между собой протоны и переносят эти протоны внутрь вириона.

В процессе функционирования М2 происходит ацидификация внутреннего содержимого эндосомы, содержащей вирион, транспортирующей его к месту репликации. Считается, что приток протонов внутрь вириона нарушает взаимодействия между матричным белком М1, вирусным РНП и липидными бислоями, тем самым освобождая вирусный геном от взаимодействия с вирусными белками и позволяя сегментам РНК мигрировать в ядро клетки-хозяина, где происходят транскрипция и репликация РНК вируса гриппа. Также М2 играет роль при секреции вирусных белков, повышая внутривезикулярный рН обычно кислых компартментов, таких как аппарат Гольджи, предотвращая преждевременное переключение новообразованного гемагглютинаина в активную конформацию слияния [14, 20, 40].

В посттрансляционных изменениях М2 встраивается в матрикс билипидной мембраны заражённой клетки-мишени для участия в процессе последующего выпоноковывания новых вирионов и выходом сегментов вирусных РНП в цитоплазму и далее в ядро.

Процесс входа вируса в клетку хозяина, раскрывания вирусной частицы и дальнейшее воспроизводство рибонуклеопротеидов требует координированного взаимодействия между белками М1 и М2 [14, 21].

Мутации отдельных нуклеотидов (как в случае S31 → N31 (AGT → AAT), приводящие к заменам аминокислот в последовательности белка М2,



Рис. 9. Генетическая и структурная модель белка М2 с сайтами специфичности.

Fig. 9. Genetic and structural model of the M2 protein with specificity sites.

способные приводить к устойчивости к лекарственным препаратам, рассмотрены в табл. 3 [49].

Неструктурные белки (NS1 и NS2)

NS1 — это гомодимерные РНК-связывающие белки размером 26 кДа и длиной цепи 230 ам. о. Структура белка включает в себя сайт связывания и полимеризации РНК, участок ядерной локализации, участок ядерного транспорта и два сайта ингибирующей активности клеточных белков иммунного ответа и созревания клеточных РНК [5, 6].

Белки NS1 вовлечены в регуляцию многих процессов в клетке-мишени: они подавляют экспорт мРНК клетки-хозяина в цитоплазму, то есть

Таблица 3. Специфичность аминокислот матричного белка М2 в указанных положениях и их эффекты, оказываемые на взаимодействия рецептора и гемагглютинаина

Table 3. Amino acid specificity of the M2 matrix protein at the indicated positions and their effects on the interactions of the receptor and hemagglutinin

Аминокислота и её местоположение в первичной структуре НА (стрелкой указаны аминокислотные замены)	Эффекты, происходящие в результате изменений аминокислотного состава в матричном белке М2
V/I27, A30, S31 и G34	Данные аминокислоты определяют устойчивость структуры внутренней поверхности М2-канала. Замены в этих позициях могут приводить к устойчивости к М2-блокаторам.
L26 → I26 V/I27 → G/A/S/T27 A30 → V/T/S/P30 S31 → N31 G34 → E34	Мутации, приводящие к резистентности к М2-блокаторам
H37 → G37 H37 → S37 H37 → T37	Такие замены приводят к неспособности формировать протон-селективные каналы

угнетают процесс транскрипции и формирования нормальных белков поражаемой клетки; они ингибируют полиаденилирование мРНК клетки-хозяина, то есть нарушают созревание РНК поражённой клетки; они ингибируют сплайсинг мРНК и опосредованный иммунный ответ. NS1 снижает концентрацию как синтетических, так и лёгочных провоспалительных цитокинов [5]. Таким образом, функция данных белков — это нарушение всех нормальных процессов в заражаемой клетке.

В ядре инфицированных эукариотических клеток с альтернативной рамки считывания 8-го сегмента также синтезируется белок NS2 или NEP. NEP участвует в работе белково-полимеразного комплекса вируса во время репликации и вовлечён в транспорт РНК в цитоплазму [5].

Жизненный цикл вируса гриппа А

В настоящее время в человеческой популяции циркулируют различные субтипы вирусов гриппа, чаще всего это H1N1 и H3N2. Инкубационный период составляет от 24 ч до 72 ч. Вирусы гриппа инфицируют и воспроизводятся в столбчатых эпителиальных клетках респираторного тракта человека, свиней, кошек, собак, лошадей и других животных, а также желудочно-кишечном тракте птиц, что обусловлено наличием специфических рецепторов в клетках систем органов. Это α -2,3-сиалозидазы и α -2,6-сиалозидазы (рис. 10) [6, 28].

1. Рецептор-опосредованный вход вирусной частицы в клетку-мишень. Для защиты от проникновения чужеродных частиц в организмах животных и человека существуют барьеры, препятствующие проникновению вируса в клетки. Первым барьером на пути вирусных частиц является вязкая слизь, которая в норме вырабатывается клетками эпителия дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта.

Слизь — это высокомолекулярные гликопротеины, связанные с сиаловой (или N-ацетилнейраминной) кислотой, которые являются своего рода ложными рецепторами для вируса, функциональное назначение этих гликопротеидов — служить препятствием для проникновения вируса в клетку.

Находящаяся на поверхности вириона нейраминидаза NA позволяет ему пройти сквозь защитный слой слизи путём отщепления нейраминной кислоты от сиалозидов, «расчищая путь» для прикрепления гемагглютинаина НА вирусной частицы непосредственно к рецепторам клеточной мембраны клетки-мишени [6].

Пройдя через барьер слизи, вирусная частица продвигается к клетке-мишени, а затем в процессе взаимодействия белков вируса с клеткой запускается каскад событий, многократно увеличивающий количество вирусных частиц, повышая вирусную нагрузку.

2. Начало процесса эндоцитоза. Эндоцитоз начинается с контакта гемагглютинаина (НА) с сиаловым рецептором клетки-мишени путём химического взаимодействия лиганд рецептор-связывающего сайта (RBS) на глобулярном домене НА, что активизирует адапторные белки, связанные с рецепторами в цитозоле клетки для формирования впячивания мембраны. Это первый этап рецептор-опосредованного эндоцитоза, который способствует продвижению вириона внутрь клетки.

3. Клатрин-опосредованное формирование эндосомы. Далее адапторные белки соединяются с белком клатрином и запускают на внут-

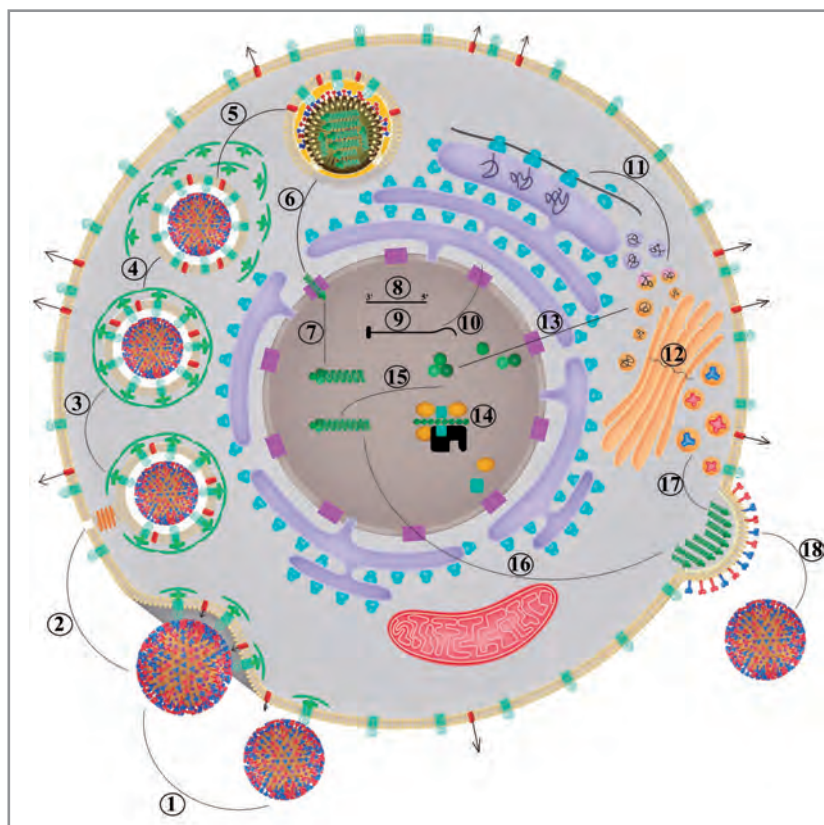


Рис. 10. Жизненный цикл вируса гриппа А (от стадии прикрепления к клетке-мишени до отпочковывания нового вириона).

Fig. 10. Life cycle of influenza A virus (from the stage of attachment to the target cell to the budding of a new virion).

ренней поверхности плазматической мембраны процесс образования клатринового мультимера, формирующего характерную инвагинацию или ямку, окаймлённую клатрином. Отрезающий мембранный белок динамин отщипывает окаймлённую клатрином ямку, образуя таким образом покрытую клатрином везикулу [5, 6].

4. Продвижение вириона внутрь клетки. В таком виде окаймлённая клатрином внутри везикулы вирусная частица продвигается к ядру. Впоследствии везикула высвобождается от клатринового каркаса с помощью белка ауксиллина, формируется эндосома.

5. Ацидификация протонными помпами. Протонные помпы — это H^+/K^+ -АТФазы — энергозависимые ферменты, осуществляющие перенос ионов сквозь канал, который формируется трансмембранными петлями белка, активный центр которого гидролизует АТФ с активным переносом протонов против электрохимического градиента.

Таким образом получается, что эндосома, внутри которой находится вирион гриппа представляет собой вирусный геном покрытый двумя оболочками: собственной оболочкой вируса и оболочкой клетки — мишени. Собственная вирусная оболочка пронизана ионными каналами (M2) [49]. Эндосомальная оболочка, сформированная цитоплазматической мембраной клетки, несёт в себе протонные насосы, которые закачивают протоны внутрь.

6. Слияние оболочек эндосомы и вириона. Благодаря работе протонных насосов, встроенных во внешнюю оболочку эндосомы, внутренняя среда закисляется. Ацидификация эндосомы от pH 6,0 до pH 5,0–5,5 приводит к продвижению протонов через ионный канал M2 внутрь вириона. Сдвиг pH в кислую сторону вызывает нарушение конформации белка оболочки вируса M1, и оболочка вириона разрушается — формируется пора слияния между оболочкой самого вириона и эндосомы. Увеличение концентрации ионов H^+ также приводит к конформационным изменениям гемагглютинина: его структура изменяется таким образом, что глобулярные части расходятся, а стеблёвые части заякореваются в мембране эндосомы и растягивают её в разные стороны, образуя пору (см. Гемагглютинин и рис. 5). Вследствие данного процесса происходит выход вирусного генома в эндосому, а конформационные изменения в гемагглютанине (см. выше) приводят к образованию поры в эндосоме, через которую генетический аппарат вируса выходит в цитоплазму хозяйской клетки.

7. Перемещение вирусного генома в ядро. Далее нуклеопротеиновые комплексы, которые представляют собой сегментарный геном вируса гриппа А, состоящий из 8 сегментов, перетаски-

ваются белками клетки α - и β -кариоферинами в ядро, где происходит распаковка вирусного генома и последующие транскрипция и репликация [6].

8. Инициация транскрипции и репликации. Вирусная РНК (вРНК) гриппа имеет отрицательную полярность. Поскольку такая вРНК — не может непосредственно служить матрицей для синтеза белка и воспроизводства новых вРНК, поэтому сначала с вирусной РНК считывается информация для формирования матричной РНК (мРНК) для последующей трансляции, образуемая комплементарная РНК (кРНК) положительной полярности служит основой для дальнейшего процесса воспроизведения вируса.

9. Транскрипция. РНК-зависимая РНК-полимераза — это праймер-зависимый фермент, состоящий из трёх белков PA, PB1 и PB2, главной функцией которого — синтез новой полинуклеотидной цепи [5, 6]. В качестве праймера для этого фермента служит клеточная пре-мРНК хозяйской клетки: PB1 связывает 5'-конец вирусной РНК, активируя PB2 и заставляя 3'-конец вирусной РНК образовывать двуцепочечную зону с 5'-концом клеточной мРНК. PB2 связывает N7-метилгуанозин на 5'-конце клеточной мРНК с вирусной РНК. Субъединица PA отщепляет последовательность 13 нуклеотидов от кэп-структуры клеточной мРНК посредством эндонуклеазной активности на N-конце, точное место расщепления зависит как от расстояния между PB2 и PA рибонуклеопротеинового комплекса (около 50 ангстрем или 10–13 нуклеотидов), так и от последовательности мРНК (см. рис. 3) [14, 29].

10. Элонгация и прерывание транскрипции. Кэп-праймер перемещается через выходной туннель продукта в домене PB1 и служит праймером для транскрипции. Субъединица PB1, осуществляя свою полимеразную активность и постепенно добавляя нуклеотиды. Далее происходит элонгация цепи вирусной мРНК, которая в результате описанных событий содержит на своём 5'-конце 10–13-членный фрагмент, не имеющий аналога в составе вРНК (см. рис. 3) [5, 6].

При этом полимеразный комплекс PB2-PB1-PA сохраняет постоянную связь с 5'-концом вРНК и, продвигаясь в процессе транскрипции от 3'- к 5'-концу вРНК, постепенно сокращает размер «петли», включающей ещё нетранскрибированный участок вРНК [5, 6].

Многие РНК-вирусы отрицательной полярности полиаденилируют свои мРНК путём прерывания полимеразного механизма во время транскрипции. Стоп-сигнал, представленный в конце каждого гена, образован участком, состоящим из Урацила, на котором вирусная полимераз получает информацию о прерывании: после каждой Адениновой вставки, она возвращается

на один нуклеотид обратно вдоль цепи мРНК. Это возобновляет транскрипцию, добавляя новый Аденин, затем снова возвращается обратно. Таким образом Урацил в шаблоне генома копируется сотни раз в конце вирусной мРНК, таким образом синтезируя поли-А-хвост.

В конечном счёте полимераза воспроизведёт полиаденилированную мРНК и остановит транскрипцию или сканирует, чтобы перезапустить следующий ген.

Происходит следующее: последние 16 н. о. на 5'-конце вРНК связаны с PB1, и когда полимеразный комплекс доходит до этого места, он не имеет возможности двигаться дальше. Однако полимеразный центр PB1 продолжает синтезировать poly(A), несколько раз проходя по матрице пентамера poly(U), который примыкает к 5'-концевому 16-членному участку вРНК, связанному с PB1. Таким образом, в то время, как полиаденилирование 3'-конца клеточных мРНК осуществляется РНК-полимеразой II, полиаденилирование 3'-конца вирусных мРНК осуществляет вирусная полимераза PB1 путём многократного «сканирования» пентамера poly(U) в 16 н. о. от 5'-конца вРНК.

Описанный механизм элонгации и полиаденилирования цепи вирусной РНК объясняет, почему на 5'-конце вирусной мРНК присутствует 10–13-членный фрагмент, для которого отсутствует комплементарный участок в вРНК, а на 3'-конце — отсутствует 16-членный фрагмент.

У вируса гриппа этот процесс происходит в ядре, для большинства других сегментированных РНК-вирусов это происходит в цитоплазме.

11. Трансляция. Кэпированная лидерная кРНК положительной полярности служит матрицей для трансляции вирусного генома.

Трансляция вирусных белков на рибосомах хозяйской клетки — это процесс синтеза полипептидных цепей из аминокислот на матрице вирусной РНК с использованием клеточной тРНК, который идёт с использованием ресурсов хозяйской клетки и большими энергетическими затратами.

12. Созревание вирусных белков. Сформированные белки продвигаются к аппарату Гольджи, где происходят все модификационные изменения, и белки окончательно созревают.

Часть вновь сформированных вирусных белков, таких как PB2, PB1, PA, NS1, NS2, M1 и NP, необходимых для репликации генома вируса, перемещается в ядро.

Матричные РНК 7-го и 8-го сегментов вируса гриппа А подвергаются альтернативному сплайсингу, что приводит к трансляции двух различных белков: M1 или M2, а также NS1 или NS2, соответственно.

13. Транспорт вирусных белков в ядро. Вирусные белки PB1, PB2, PA, NP, M1, NS1 и NS2 транспортируются в ядро клетки-хозяина к месту

сборки нуклеосомы и синтеза новых сегментов генома вирусных РНК.

14. Репликация. Началом репликации генома вируса гриппа служит накопление определённых вновь синтезированных белков вируса, это белки NS1, M1, NP. Вновь синтезированные белки полимеразного комплекса возвращаются в ядро и участвуют в синтезе новой цепочки вирусной РНК, являются стартовым сигналом для репликации. Концентрация белка NP служит своего рода переключателем процессов, происходящих в ядре с транскрипции на репликацию [5, 6].

Полимеразный комплекс PB2-PB1-PA с 3'-5'-матрицы вирусной РНК отрицательной полярности синтезирует цепочку 5'-3' кРНК положительной полярности. Синтезированная кРНК связывается с димером белка NS1, который блокирует РНКазную активность клеточной Олигоаденилатсинтазы/РНКазы I и останавливает процессинг клеточных белков хозяйской клетки, а также активацию различных транскрипционных факторов в клетке, обеспечивающих иммунные реакции этой клетки [6, 50].

5'-3' кРНК служит матрицей для синтеза новых вирусных РНК отрицательной полярности.

Репликация идёт без процесса кэпирования и полиаденилирования.

Созданные *de novo* вирусные РНК будут служить как сегменты генома нового вириона.

15. Формирование нуклеосомы. Следующим этапом является упаковка вРНК путём формирования нуклеосомы, в которой вирусная РНК спирализуется вокруг белка NP. Нуклеосома образована белками NP, M1 и NS2 (NEP). Когда в нуклеосоме концентрация вирусных белков M1 и NS2 (NEP) достаточно возрастает, рибонуклеопротеиновые комплексы (РНП) покидают ядро через ядерные поры и включаются в состав дочерних вирионов [6].

Взаимодействия вирусного белка NS1 с клеточными белками весьма разнообразны. Некоторые из этих взаимодействий опосредованы образованием NS1 комплексов с двуцепочечными РНК (дцРНК), и структурные характеристики таких комплексов изучены достаточно подробно [50]. Однако NS1 способен напрямую комплексоваться с различными регуляторными белками клетки-хозяина — PKR (protein kinase R — протеинкиназа R), eIF4GI (subunit gamma I of eukaryotic translation initiation factor 4 — субъединица γ 1 фактора инициации трансляции эукариот 4-го типа), PAB1 (poly(A)-binding protein type I — poly(A)-связывающий белок I-го типа) — и столь широкий спектр аффинности к неродственным белкам до сих пор не получил адекватного объяснения в научной литературе [6].

16. Транспортировка новых вРНК к месту сборки вириона. Белок M1 как многофункцио-

нальный белок играет ключевую роль в контроле транспорта РНП комплекса вируса гриппа А в клетке и в сборке вирионов к месту выпоноковывания.

Белок М1 имеет сродство к холестерину би-липидных мембранах хозяйской клетки [21, 49, 51], куда он транспортируется после синтеза достаточного количества вирусных РНК. Важная роль при связывании белка М1 с липидами мембранной оболочки принадлежит электростатическим взаимодействиям между ними [51]. Таким образом М1 адсорбируется изнутри мембранной оболочки клетки и далее — путём конформационных изменений — формирует сферическую структуру, внутри которой оказывается геном вируса гриппа [6].

17. Образование новых вирионов. Создание нового вириона начинается с синтеза вирусных белков. Молекулы НА и NA синтезируются рибосомами шероховатого ретикулума и гликозилируются в его внутренней полости и доставляются к внешней клеточной мембране в транспортных везикулярных пузырьках.

Молекулы М1 и М2 синтезируются свободными цитоплазматическими рибосомами, но затем связываются с внутриклеточными мембранами и транспортируются к поверхности клетки. На поздних стадиях инфекции, на поверхностной мембране инфицированной клетки формируются «островки» вирусных антигенов — трансмембранных НА₃, NA₄ и М2₄, а также М1, импрегнирующий, то есть выстилающий изнутри, внутреннюю поверхность «островка». Формирование «островков» вирусных антигенов и последующие точки почкования дочерних вирионов происходит на апиальной (т. е. обращённых в сторону полости тела) части поляризованных клеток [5, 6, 19].

Белок М1 выполняет определяющую роль при сборке и почковании вируса за счёт своей выраженной склонности к самополимеризации и ассоциации с липидной мембраной клетки [19, 21]. М1 также является ключевым белком транспорта вновь синтезированных вРНП путём соединения М1 с вРНП своими гидрофобными участками, которые расположены непосредственно в последовательности М1 белка транспортируются в цитоплазму к мембране к месту сборки. Далее происходит перетаскивание комплексом вРНП-М1 вновь созданных вирусных рибонуклеопротеидов всех восьми сегментов.

18. Почкование дочерних вирионов. Выпощковывание новых вирионов происходит под управлением белков оболочки вируса. Этот процесс сопровождается реакцией поверхностных белков гемагглютинина с рецепторами хозяйской клетки, где ключевую роль в отсоединении нового вириона играет другой поверхностный

белок — нейраминидаза [5, 6, 31, 43]. Своей ферментативной активностью она отщепляет гликозидные остатки сиаловой кислоты, с которыми соединён гемагглютинин с рецепторами клетки, в которой шла репликация, и новый вирион, способный заражать близлежащие клетки-мишени, высвобождается в межклеточное пространство [44].

Механизмы действия этиотропных препаратов

Для лечения данного инфекционного заболевания Всемирная Организация Здравоохранения рекомендует лекарственные препараты, направленные на процесс воспроизводства вируса в клетках респираторного тракта [1, 2].

Препараты для лечения гриппозной инфекции по фармакологическому действию принято разделять на ингибиторы гемагглютинина, ингибиторы нейраминидазы, ингибиторы фазы слияния эндосомы, ингибиторы репликации вируса, а также препараты, воздействующие на стадию трансляции отдельных вирусных белков.

К ингибиторам фазы слияния (или М2-блокаторам) относятся препараты амантадин и римантадин, к ингибиторам гемагглютинина — препарат арбидол, к ингибиторам нейраминидазы — препараты осельтамивир и занамивир, к ингибиторам репликации вируса — арепливир, а в качестве примера препарата, воздействующего на воспроизводство отдельных вирусных белков в данной работе рассмотрен препарат ингавирин.

Вирус гриппа А имеет особенность с течением времени изменяться. Появление мутаций резистентности приводит к снижению или неэффективности противогриппозной терапии. Проблема резистентности вирусных инфекций к противовирусным препаратам является одной из наиболее актуальных [1–3, 5, 20, 27, 36, 43, 52, 53].

Выявление факторов вирулентности и их изменчивости позволяет на ранних этапах скорректировать курс лечения и использовать более действенные препараты, которые имеют наибольший эффект. Следует отметить, что мониторинг генетической изменчивости различных белков вируса гриппа позволяет отследить резистентность к тем или иным препаратам у штаммов гриппа, выявляемых в разных точках планеты.

Профилактика и лечение таких инфекционных заболеваний, как грипп является одной из приоритетных задач систем здравоохранения по всему миру, все данные по вновь появляющимся лекарственным устойчивостям штаммов гриппа отслеживаются ВОЗ, чтобы вовремя скорректировать подход к лечению данной инфекции согласно принципам доказательной медицины.

Блокаторы М2-каналов

Амантадин (МНН амантадин), римантадин (МНН римантадин) — лекарственные препараты, относящиеся к группе трициклических производных аминов. Римантадин представляет собой альфа-метил производное амантадина, который показал высокую активность *in vitro* и *in vivo* против вируса гриппа А [5]. Его действие обусловлено блокированием вирусного белка М2, который является ионным каналом оболочки вириона гриппа. Являясь слабыми основаниями, эти препараты повышают рН эндосом, окружающих вирусные частицы после их проникновения в клетку. Согласно исследованиям амантадин ингибирует часть белка М2, представляющего собой N-концевой эктодомен [54]. Предотвращение ацидификации в этих эндосомах блокирует слияние вирусной оболочки с мембраной эндосомы, останавливая изменение конформации гемагглютинина и образование поры в эндосоме с вирусной частицей, таким образом предотвращая передачу вирусного генетического материала в цитоплазму клетки [5, 6, 54].

Ранее амантадин и римантадин были включены в рекомендации ВОЗ по лечению гриппа, но в последние годы эти препараты были исключены из списка рекомендованных препаратов вследствие приобретения вирусом гриппа устойчивости к препаратам амантадина и римантадина в его классической форме [1, 2, 54, 55]. Первые доказательства резистентности были получены от устойчивых к амантадину эскейп-мутантных вирусов, у которых был картирован сайт мутации и обнаружено, что он находится в трансмембранном домене А/М2 (31).

Примером мутационной изменчивости к препаратам амантадина и римантадина могут служить замены S31 → N31 в белке М2. Ещё две мутации, приводящие к устойчивости к амантадину, происходят в остатках, которые выстилают пору. Обе эти мутации связаны с остатками, которые менее гидрофобны (A30 → T30 и G34 → E34), чем нативный остаток, что приводит к устойчивости к амантадину.

Хотя эти лекарства все ещё производятся и доступны, Центры по контролю и профилактике заболеваний и ВОЗ (CDC и WHO) больше не рекомендуют использовать адамантановые препараты для лечения или профилактики гриппа из-за появления широко распространённой резистентности [1–3].

Ингибиторы гемагглютинина

Арбидол (МНН умифеновир) относится к индол-3-производным карбоновой кислоты, разрабатывался прежде всего как препарат направленного действия для лечения и профилактики гриппа А и В. Его механизм действия направлен

на ингибирование механизма слияния эндосомы с вирусной частицей внутри клетки-мишени посредством связывания с гемагглютинином (НА) вириона гриппа [35, 56].

Молекула арбидола стабилизирует молекулу гемагглютинина, встраиваясь в пространство между тремя частями белка таким образом, что предотвращает его конформационные изменения, обеспечивающие слияния эндосомы, в которой находится вирион гриппа, и останавливает выход РНК вируса во внутреннее пространство клетки-мишени, подавляя воспроизводство вируса. В результате к эндосоме, содержащей вирусную частицу присоединяется клеточная лизосома, и образуется эндолизосома. Затем вирусная частица разрушается с помощью эндолизомальных ферментов [5, 35, 56].

В исследованиях на мышах при лечении гриппозной инфекции препаратом арбидол была выявлено, что индукция интерферонов происходит в течение 16 ч, а высокий их титр сохраняется в течение 48 ч после введения.

Преимущества арбидола заключается в том, что все изоляты вируса гриппа показали высокую чувствительность к арбидолу, и при своевременном введении он эффективно способствует выздоровлению и снижает возможные негативные последствия гриппозной инфекции. Исследования показали высокую специфичность арбидола, в том числе на штаммах, резистентных к римантадину и осельтамивиру. В клинических испытаниях на протяжении более 15 лет в сравнении с препаратами римантадина и осельтамивира выявлено, что арбидол малотоксичен и подходит для лечения детей от 3 лет, а также пациентам с сопутствующими хроническими заболеваниями [5].

В настоящий момент известные возможные мутации, которые способны вызывать резистентность вируса гриппа к препарату «Арбидол», получены только в лабораторных условиях (см. Гемагглютинин, табл. 1) [6]. На данный момент в клинических испытаниях резистентность к данному препарату не выявлена, он проявил себя как безопасный и эффективный.

Ингибиторы нейраминидазы

Тамифлю (МНН осельтамивир). Осельтамивир является пролекарством, его активный метаболит (осельтамивира карбоксилат) — эффективный и селективный ингибитор нейраминидазы вирусов гриппа А и В. Молекула осельтамивира имеет непосредственное сходство с сиалозидными рецепторами эпителиальных клеток верхних дыхательных путей [57].

Действие препарата обусловлено блокированием нейраминидазной активности вириона

гриппа путём связывания с молекулами метаболита осельтамивира с активным центром нейраминидазы, останавливая отпочковывание вирионов и распространение на другие клетки-мишени. Препарат показал высокую активность в отношении вирусов гриппа и был включён в список рекомендаций ВОЗ по лечению гриппа [1, 2].

С начала эпидемии «свиного» гриппа в 2008 г. исследования показали его неэффективность в связи с развитием резистентности циркулирующего тогда подтипа гриппа А H1N1. Изменчивость активного сайта нейраминидазы привело к тому, что осельтамивир не был способен связываться с целевыми аминокислотами активного центра этого ферментного белка. Мутации R292K, N274Y и N294S в РНК нейраминидазы привели к устойчивости вируса гриппа и его способности распространяться в эпителиальных клетках дыхательных путей независимо от приёма данного препарата [58, 59].

Препарат проявил себя как эффективный во многом за счёт его высокой биодоступности и его сродства с природными рецепторами дыхательных путей, до тех пор, пока не были выявлены случаи устойчивости вируса гриппа к его действию [3, 27, 53].

Реленза (МНН занамивир) — это ингибитор нейраминидазы, блокирующий активность всех её типов. Формула занамивира имеет сходство со строением природного субстрата для нейраминидазы — сиаловых кислот. Молекула препарата присоединяется непосредственно к активному сайту нейраминидазы и стабилизирует его конформационные изменения [48]. Таким образом блокируется возможность нейраминидазы способствовать преодолению муцинового слоя частицами вируса гриппа и выполнять основную функцию по отпочковыванию новых вирионов от заражённой клетки.

Занамивир имеет низкую биодоступность при пероральном приёме, поэтому его вводят перорально ингаляционно.

Замена в строении нейраминидазы H275Y является наиболее распространённой заменой устойчивости нейраминидазы к лекарственным препаратам и связана со снижением чувствительности к перамивиру и осельтамивиру. Эта замена не оказывает влияния на занамивир; следовательно вирусы с заменой H275Y сохраняют полную чувствительность к занамивиру [53, 60].

Ограничением в приёме занамивира может быть наличие у пациента таких заболеваний дыхательной системы, как астма или хронической обструктивной болезни лёгких в связи с его ингаляционной формой приёма [43].

Известные мутации устойчивости к занамивиру были получены только в лабораторных условиях. На данный момент среди ингибито-

ров нейраминидазы он является наиболее эффективным [48, 57, 59, 60].

Ингибиторы репликации вирусного генома

Арепливир (МНН фавипиравир) — пероральный препарат, относится к ингибиторам РНК-зависимой РНК-полимеразы вирусов, содержащих РНК в качестве генетического материала.

Препарат разрабатывался для лечения вируса гриппа А, имеет высокую эффективность против широкого спектра высокопатогенных штаммов вируса гриппа А, таких как H1N1pdm09, H5N1, H3N2 [5, 61]. Основным качеством данного препарата можно отметить то, что он интенсивно подавляет размножение вируса на стадии его репликации: непосредственно блокирует репликационный процесс путём ингибирования фермента РНК-полимеразы вируса. Формула препарата включается в синтез новой цепочки РНК, создавая мутации в РНК путём формирования в них стоп-сигналов [61].

Высокоэффективен в том числе против резистентных к осельтамивиру и римантадину штаммов гриппа.

На данный момент случаев резистентности не выявлено.

Имеются данные, что арепливир способен останавливать репликацию и других РНК-содержащих вирусов, таких как коронавирусы, буньявирусы, филовирусы (например, вирус Эбола) [62].

В процессе клинических испытаний в России, Японии, Китае и Индии данный препарат показал высокую эффективность при лечении пандемических штаммов вируса COVID-19, эффективно снижая вирусную нагрузку уже с первых часов применения. Сейчас арепливир используется по всему миру для лечения коронавирусной инфекции.

Препарат зарекомендовал себя как высокоэффективный. Возможным вариантом снижения его побочных эффектов будет пересмотр схемы его дозирования при разной степени вирусной нагрузки.

Ингибитор эндонуклеазы

Ксофлюза (МНН балоксавир марбоксил) — пероральное лекарственное средство для однократного применения, представляет собой ингибитор РНК-зависимой РНК-полимеразы, а именно эндонуклеазной активности данного фермента [24, 63, 64]. Используется для лечения пациентов с неосложнённой гриппозной инфекцией, имеющих симптомы не более 48 ч или у пациентов, контактировавших с инфицированным пациентом и подверженных высокому риску раз-

вития осложнений. РА-ингибирующая активность проявляется в выключении репликации вирусного генома. Предшественник балоксавира, поступая в желудочно-кишечный тракт, полностью гидролизруется эстеразами до его активной формы, которая избирательно блокирует фермент РА вируса гриппа, останавливая процесс копирования вирусной мРНК, что полностью подавляет воспроизводство вируса [64].

Наиболее широко известная мутация резистентности к балоксавиру I38 → T38 белка РА. В настоящее время мутация не представлена широко в популяции штаммов вирусов гриппа и требует дальнейших исследований. В лечении немутантных по белку РА/I38T типов вируса гриппа А балоксавир зарекомендовал себя как эффективный препарат в тех случаях мутаций, которые связаны с устойчивостью к ингибиторам нейраминидазы [24–40, 42–59, 61, 63–65].

Ингибиторы воспроизводства отдельных вирусных белков

Ингавирин (МНН имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты) — пероральный препарат, относится к низкомолекулярным пептидам. Механизм действия заключается в стимуляции выработки эффекторного белка Мх, который подавляет стадию созревания и транспорт вирусного белка NP из цитоплазмы в ядро, что останавливает процесс сборки вирусных рибонуклеопротеидов и созревание вириона [5]. В экспериментальных исследованиях показано, что «Ингавирин» повышает экспрессию рецептора интерферона первого типа на поверхности эпителиальных и иммунокомпетентных клеток [66, 67]. Увеличение плотности интерфероновых рецепторов приводит к повышению чувствительности клеток к сигналам эндогенного интерферона. В результате подавления синтеза вирусных белков и увеличения количества интерфероновых рецепторов на поверхности заражённой клетки активируется система индукции интерферонов и запускаются механизмы клеточного и гуморального иммунитета, что выражается в увеличении содержания клеток НК-Т, блокирующих заражённые клетки, и синтезу α - и γ -интерферонов. Противовоспалительное действие обусловлено подавлением продукции ключевых провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли TNF- α), интерлейкинов IL-1 β и IL- β), снижением активности миелопероксидазы.

Приём препарата Ингавирин в дозе 90 мг оказывает иммуномодулирующее действие, вызывает повышение содержания в крови интер-

феронов α и γ в пределах верхних границ физиологической нормы (8–16 ед./мл) через 24–48 ч, увеличивает и нормализует сниженную способность лейкоцитов крови продуцировать интерферон- α , а также увеличивает у практически здоровых лиц способность лейкоцитов продуцировать интерферон- γ [5, 66, 67].

В настоящий момент неизвестно о возможных мутациях, которые вызывают резистентность вируса гриппа к препарату Ингавирин.

Заключение

Эпидемиологический надзор за распространением вируса гриппа А, а также выявление его детерминант резистентности к лекарственным препаратам является одной из приоритетных задач контроля с целью повышения качества оказания медицинской помощи населению.

Современная медицинская помощь определяет раннюю диагностику заболевания и последующее назначение рационального и эффективного лечения, приводящее к успешному результату — улучшению состояния, выздоровлению, улучшению качества жизни и трудоспособности пациента.

Оценка предыдущего опыта применения наиболее используемых лекарственных средств на практике является необходимым условием для создания новых противовирусных препаратов и предполагает наиболее полное представление процессов, происходящих на клеточном уровне.

В данной работе рассмотрены точки приложения для совершенствования технологий проведения диагностики резистентности вируса гриппа А к широко известным и часто используемым препаратам [68]. Работа проиллюстрирована результатами молекулярных исследований по изучению жизненного цикла вируса гриппа А и его основных детерминант для применения противовирусных препаратов.

Дополнительная информация

Благодарность. Автор выражает искреннюю благодарность и признательность доктору биологических наук Щелканову Михаилу Юрьевичу — директору «НИИЭМ им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, доктору биологических наук Крыловой Наталье Владимировне — заведующей лаборатории респираторных вирусных инфекций и кандидату медицинских наук Иунихиной Ольге Викторовне — заведующей лаборатории природно-очаговых вирусных инфекций, за помощь и оказываемую поддержку в написании статьи.

Литература/References

1. <http://www.rosпотребнадзор.ru/news>
2. <http://www.who.int>
3. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: Department of Communicable Disease Surveillance and Response. WHO Global Programme.
4. ICTV, 2019. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy.
5. Киселев О.И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. СПб.: ООО «Издательство «Росток», 2012; 272. [Kiselev O.I. Khimiopreparaty i khimioterapiya grippa. SPb.: ООО «Izdatel'stvo «Rostok», 2012; 272. (in Russian)]
6. Щелканов М.Ю. Эволюция высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в экосистемах Северной Евразии (2005–2009 гг.). Автореф. дисс. докт.биол. наук. М.: 2010; 53. [Shchelkanov M.Yu. Evolyutsiya vysokovirulentnogo virusa grippa A (H5N1) v ekosistemakh Severnoy Evrazii (2005–2009 gg.). Avtoreferat dissertatsii doktora biol. nauk. Moscow: 2010; 53. (in Russian)]
7. Courville C., Cadarette S.M., Wissinger E., Alvarez F. The economic burden of influenza among adults aged 18 to 64: A systematic literature review. Influenza Other Respir Viruses. 2022; 16 (3): 376–385. doi: 10.1111/irv.12963.
8. Авдеев С.Н. Тяжёлые формы пандемического гриппа А/Н1N1. Пульмонология и аллергология. 2010; 4: 2–10. [Avdeev S.N. Tyazhelye formy pandemicheskogo grippa A/H1N1. Pul'monologiya i Allergologiya. 2010; 4: 2–10. (in Russian)]
9. Марченко В.Ю., Святченко С.В., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Максотов Р.А., Гаврилова Е.В. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2022 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1: 48–55. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-48-55>. [Marchenko V.Yu., Svyatchenko S.V., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Maksytov R.A., Gavrilova E.V. Obzor epizootologicheskoy situatsii po vysokopatogennomu grippu ptits v Rossii i mire v 2022 g. Problemy osobo opasnykh infektsij. 2023; 1: 48–55. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-48-55>. (in Russian)]
10. Sharp G.B., Kawaoka Y., Jones Dana J., Bean W.J., Pryor Paul S., Hinshaw V., Webster Robert G. Coinfection of wild ducks by Influenza A Virus: Distribution Patterns and Biological Significance. J Virol. 1997; 71 (8): 1628–6135. doi: 10.1128/JVI.71.8.6128-6135.1997.
11. Shortridge K.F. Pandemic influenza: a zoonosis? Semin Respir Infect. 1992; 7: 11–25.
12. Webster R.G., Ramires K.M. et al. Changing epidemiology and ecology of highly pathogenic avian H5N1 influenza viruses. Avian Dis. 2007; 51: 269–272. doi: 10.1637/7641-050206R.1.
13. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev. 1992; 56: 152–79. doi: 10.1128/mr.56.1.152-179.1992.
14. Wright P.F., Webster R.G. Orthomyxoviruses. Fields virology. In: D.M. Knipe, P.M. Howley (eds.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2001; 1533–1579.
15. Falchi A., Amoroso J.P., Arena C., Arrighi J. et al. Genetic structure of human A/H1N1 and A/H3N2 influenza virus on Corsica Island: phylogenetic analysis and vaccine strain match, 2006–2010. PLoS One. 2011; 6 (9): e24471. doi: 10.1371/journal.pone.0024471.
16. Авдеев С.Н. (2009) Тяжёлые формы пандемического гриппа А/Н1N1, Пульмонология и аллергология, №4, 2010, С. 2 – 10.
17. Дунаева М.Н., Щелканов М.Ю. Эколого-вирусологический мониторинг вируса гриппа А в природных экосистемах. Инновации и технологии в биомедицине: Научно-практическая конференция ДВФУ, Владивосток. 2020; 183–186. ISBN 978-5-7444-49-19-3.
18. Böttcher-Friebertshäuser E., Garten W., Matrosovich M., Klenk H.D. The hemagglutinin: a determinant of pathogenicity. Curr Top Microbiol Immunol. 2014; 385; 3–34. doi: 10.1007/82_2014_384.
19. Colman P.M., Varghese J.N., Baker A.T., Tulloch P.A., Laver W.G., Air G.M. Webster R.G. The structure of a complex between influenza virus neuraminidase and an antibody. Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography. 1987; 43: 34–35. doi: <https://doi.org/10.1107/S0108767387084538>.
20. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю. и др. Пандемический грипп в России: отличительные особенности клинического течения и отсутствие ранней этиотропной терапии как фактор риска развития тяжёлых форм заболевания. Терапевтический архив. 2011; 83 (9): 48–53. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu. i dr. Pandemicheskij gripp v Rossii: otlichitel'nye osobennosti klinicheskogo techeniya i otsutstvie rannej etiotropnoj terapii kak faktor riska razvitiya tyazhelykh form zabolevaniya, Terapevticheskij Arkhiv. 2011; 83 (9): 48–53. (in Russian)]
21. Жирнов О.П. Асимметричная структура вируса гриппа А и новая функция матричного белка М1. Вопросы вирусологии. 2016; 61 (4). doi: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-4-149-154>. Zhirnov O.P. Asimmetrichnaya struktura virusa grippa A i novaya funktsiya matritskogo belka M1. Voprosy Virusologii. 2016; 61 (4). doi: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-4-149-154>. (in Russian)]
22. Ломакина Н.Ф., Садыкова Г.К., Тимофеева Т.А., Руднева И.А., Бораваева Е.Ю., Иванов П.А., Прилипов А.Г., Гамбарян А.С. Три мутации в стеблевом гемагглютинина участке влияют на pH слияния и патогенность вируса гриппа H5N1. Молекулярная биология, 2018; 52 (6): 1029–1037. [Lomakina N.F., Sadykova G.K., Timofeeva T.A., Rudneva I.A., Boravleva E.Yu., Ivanov P.A., Prilipov A.G., Gambaryan A.S. Tri mutatsii v steblevom gemaggljyutina uchastke vliyayut na rN sliyaniya i patogenost' virusa grippa H5N1. Molekulyarnaya Biologiya, 2018; 52 (6): 1029–1037. (in Russian)]
23. Meisner J., Szretter K.J., Bradley K.C. et al. Infectivity studies of influenza virus hemagglutinin receptor binding site mutants in mice. J Virol. 2008; 82 (10): 5079–83. doi: 10.1128/JVI.01958-07.
24. Omoto S., Speranzini V., Hashimoto T. et al. Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. Sci Rep. 2018; 8 (1): 9633. doi: 10.1038/s41598-018-27890-4.
25. Popov A.E., Shchelkanov M.Yu., Dmitrenko K.A., Simakova A.I. Combined therapy of influenza with antiviral drugs with a different mechanism of action in comparison with monotherapy. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018; 10 (2): 357–360.
26. Дунаева М.Н., Щелканов М.Ю. Эколого-вирусологический мониторинг вируса гриппа А в природных экосистемах. Инновации и технологии в биомедицине: Научно-практическая конференция ДВФУ, Владивосток. 2010; 183–186. ISBN 978-5-7444-49-19-3. [Dunaeva M.N., Shchelkanov M.Yu. Ekologo-virusologicheskij monitoring virusa grippa A v prirodnykh ekosistemakh. Innovatsii i tekhnologii v biomeditsine: Nauchno-prakticheskaya konferentsiya DVFU, Vladivostok. 2010; 183–186. ISBN 978-5-7444-49-19-3. (in Russian)]
27. Яцышина С.Б., Шестопалов А.М., Евсеев В.А. и др. Изоляция и молекулярная характеристика вирусов гриппа А/Н5N1, выделенных во время вспышек гриппа у птиц в 2005 г. в европейской части России: выделение штамма вируса с мутацией устойчивости к озельтамивиру. Молекулярно-генетическая микробиология и вирусология. 2008; 1: 26–34. [Yatsyshina S.B., Shestopalov A.M., Evseenko V.A. i dr. Izolyatsiya i molekulyarnaya kharakteristika virusov grippa A/H5N1, vydelennykh vo vremya vspyshek grippa u ptits v 2005 g. v evropejskoj chasti Rossii: vydelenie shtamma virusa s mutatsiej ustojchivosti k ozel'tamiviru. Molekulyarno-Geneticheskaya Mikrobiologiya i Virusologiya. 2008; 1: 26–34. (in Russian)]
28. Timofeeva T.A. et al. Mutations in the genome of avian influenza viruses of the H1 and H5 subtypes responsible for adaptation to mammals. Microbiology Independent Research Journal. 2021; 8 (1): 50–61. doi: <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2021-8-1-50-61>.
29. Dias A., Bouvie D., Crepin T. et al. The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit. Nature. 2009; 458: 914–918. doi: 10.1038/nature07745.
30. Chen J., Lee K.H., Steinhauer D.A., Stevens D.J., Skehel J.J., Wiley D.C. Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of Influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation. Cell. 1998; 95 (3): 409–417. doi: 10.1016/S0092-8674 (00)81771-7.
31. Соболев И.А. Изменчивость поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А (H3N2) и В, циркулировавших на территории азиатской части РФ с 2008 по 2013 гг. автореф. дисс. канд.биол. наук. СПб.: 2017; 28. [Sobolev I.A. Izmenchivost' poverkhnostnykh glykoproteinov virusov grippa A (N3N2) i V, tsirkulirovavshikh na territorii aziatskoj chasti RF s 2008 po 2013 gg. avtoreferat dissertatsii kandidata biol. nauk. Spb.: 2017; 28. (in Russian)]
32. Meisner J., et al. (2008) 'Infectivity studies of influenza virus hemagglutinin receptor binding site mutants in mice', Journal of Virology, 82 (10): 5079-83, doi: 10.1128/JVI.01958-07
33. Гамбарян А., Маринина В.П., Солодар Т.А. и др. Различная рецепторная специфичность вирусов гриппа от уток и кур и её отражение в составе сиализидов на хозяйских клетках и муцинах. Вопросы вирусологии. 2006; 4: 24–32. [Gambaryan A., Marinina V.P., Solodard T.A. i dr. Razlichnaya retseptornaya spetsifichnost' virusov grippa ot utok i kur i ee otrazhenie v sostave sialozidov na khozyajskikh kletkakh i mutsinakh. Voprosy Virusologii. 2006; 4: 24–32. (in Russian)]
34. Jiao C., Wang B., Chen P., Jiang Y. and Liu J. Analysis of the conserved protective epitopes of hemagglutinin on influenza A viruses. Front Immunol. 2023; 14: 1086297. doi: 10.3389/fimmu.2023.1086297.

35. Kadam R.U., Wilson I. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2016; 114 (2): 206–214. doi: 10.1073/pnas.1617020114.
36. Львов Д.К., Щелканов М.Ю. и др. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа А (H1N1) pdm09, изолированных в 2009–2011 гг., структурой рецепторсвязывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (1): 14–17. [L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu. et al. Korrelyatsiya mezhdu retseptornoj spetsifichnost' yu shtammov pandemicheskogo virusa grippa A (H1N1) pdm09, izolirovannykh v 2009–2011 gg., strukturoj retseptorsvyazyvayushchego sajta i veroyatnost' yu razvitiya letal'noj pervichnoj virusnoj pnevmonii. *Voprosy Virusologii*. 2012; 57 (1): 14–17. (in Russian)]
37. Chen J., Lee K.H., Steinhauer D.A., Stevens D.J., Skehel J.J., Wiley D.C. Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of Influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation. *Cell*. 1998; 95 (3): 409–417. doi: 10.1016/s0092-8674 (00)81771-7.
38. Webster R.G., Ramires K.M. et al. Changing epidemiology and ecology of highly pathogenic avian H5N1 influenza viruses. *Avian Dis*. 2007; 51: 269–272. doi: 10.1637/7641-050206R.1.
39. Андриясов А.В., Пчелкина И.П., Чвала И.А., Дрыгин В.В. Изучение первичной структуры генома изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц А/Н5N1, выделенных на территории России в 2007 году. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. XII. [Andriyasov A.V., Pchelkina I.P., Chvala I.A., Drygin V.V. Izuchenie pervichnoj struktury genoma izolyatov virusa vysokopatogennogo grippa ptits A/H5N1, vydelennykh na territorii Rossii v 2007 godu. *Trudy Federal'nogo tsentra okhrany zdorov'ya zhivotnykh*. XII. (in Russian)]
40. Gao J., Gui M., Xiang Y. Structural intermediates in the low pH-induced transition of influenza hemagglutinin. *PLoS Pathog*. 2020; 16 (11): e1009062. doi: 10.1371/journal.ppat.1009062.
41. Дунаева М.Н., Иунихина О.В., Суровый А.Л., Панкратов Д.В., Щелканов М.Ю. Эколого-вирусологический мониторинг вируса гриппа А на территории Приморского края в 2019–2023 гг. *Дальневосточный Журнал инфекционной патологии*. 2023; 45: 120–121. [Dunaeva M.N., Iunikhina O.V., Surovyj A.L., Pankratov D.V., Shchelkanov M.Yu. Ekologo-virusologicheskij monitoring virusa grippa A na territorii Primorskogo kraja v 2019–2023 gg. *Dal'nevostochnyj Zhurnal Infektsionnoj Patologii*. 2023; 45: 120–121. (in Russian)]
42. Alexander D.J. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol*. 2000; 74 (1–2): 3–13. doi: 10.1016/s0378-1135 (00)00160-7.
43. Щелканов М.Ю., Попов А.Ф., Симакова А.И., Зенин И.В., Прошина Е.С., Кириллов И.М., Дмитриенко К.А., Шевчук Д.В. Патогенез гриппа: механизмы модуляции белками возбудителя. *Журнал инфектологии*. 2015; 7 (2). doi: doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-2-31-46. [Shchelkanov M.Yu., Popov A.F., Simakova A.I., Zenin I.V., Proshina E.S., Kirillov I.M., Dmitrienko K.A., Shevchuk D.V. Patogenez grippa: mekhanizmy modulyatsii belkami vzbuditelya. *Zhurnal Infekologii*. 2015; 7 (2). doi: doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-2-31-46. (in Russian)]
44. Barman S., Adhikary L., Chakrabarti A.K., Bernas C., Kawaoka Y., Nayak D.P. Role of Transmembrane domain and cytoplasmic tail amino acid sequences of influenza A virus neuraminidase in raft association and virus budding. *J Virol*. 2004; 78 (10): 5258–5269. doi: 10.1128/JVI.78.10.5258-5269.2004.
45. Colman P.M., Varghese J.N., Baker A.T., Tulloch P.A., Laver W.G., Air G.M., Webster R.G. The structure of a complex between influenza virus neuraminidase and an antibody. *Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography*. 1987; 43: 34–35. doi: https://doi.org/10.1107/S0108767387084538.
46. Creyten S., Pascha M.N., Ballegeer M., Saelens X., de Haan C. Influenza neuraminidase characteristics and potential as a vaccine target. *Front Immunol*. 2021; 12: 786617. doi: 10.3389/fimmu.2021.786617.
47. Белякова Н.В. Нейраминидазная специфичность штаммов вирусов гриппа А и В, циркулировавших в России в эпидсезоны 2006–2010 гг.: автореф. дисс. канд.биол. наук. М.: 2010; 28. [Belyakova N.V. Nejraminidaznaya spetsifichnost' shtammov virusov grippa A i V, tsirkulirovavshikh v Rossii v epidezozny 2006–2010 gg. *Avtoreferat dissertatsii kandidata biol. nauk*. Moscow: 2010; 28. (in Russian)]
48. Vavricka C.J., Liu Y. et al. Influenza neuraminidase operates via a nucleophilic mechanism and can be targeted by covalent inhibitors. *Nat Commun*. 2013; 4: 1491. doi: 10.1038/ncomms2487.
49. Jun Zhang, Xiao Ling Yu, Lei Xu, Fang Zhi Li, Yong Gang Li. Sequence Characterization of matrix protein (M1) in influenza A viruses (H1, H3 and H5). *Microbiology Research*. 2011; 2: e16. doi: https://doi.org/10.4081/mr.2011.e16.
50. Qian X.Y., Chien C.Y., Lu Y. An amino-terminal polypeptide fragment of the influenza virus NS1 protein possesses specific RNA-binding activity and largely helical backbone structure. *RNA*. 1995; 1 (9): 948–956.
51. Ксенофонтов А.Л., Добров Е.Н., Федорова Н.В., Радюхин В.А., Бадун Г.А., Арутюнян А.М., Богачева Е.Н., Баратова Л.А. Неупорядоченные области в структуре С домена белка М1 вируса гриппа. *Молекулярная биология*. 2011; 45 (4): 689–696. [Ksenofontov A.L., Dobrov E.N., Fedorova N.V., Radjukhin V.A., Badun G.A., Arutyunyan A.M., Bogacheva E.N., Baratova L.A. Neuporyadochennye oblasti v strukture C domena belka M1 virusa grippa. *Molekulyarnaya Biologiya*. 2011; 45 (4): 689–696. (in Russian)]
52. Popov A.E., Shchelkanov M.Yu., Dmitrenko K.A., Simakova A.I. Combined therapy of influenza with antiviral drugs with a different mechanism of action in comparison with monotherapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018; 10 (2): 357–360.
53. Moscona A. Global transmission of oseltamivir-resistant influenza. *N Engl J Med*. 2009; 360: 953–956. doi: 10.1056/NEJMp0900648.
54. Deyde V.M., Xu X., Bright R.A. et al. Surveillance of resistance to adamantanes among influenza A (H3N2) and A (H1N1) viruses isolated worldwide. *J Infect Dis*. 2007; 15; 196 (2): 249–57. doi: 10.1086/518936.
55. Nelson M. I., Simonsen L., Viboud C., Miller M. A., Holmes E. C. The origin and global emergence of adamantane resistant A/H3N2 influenza viruses. *Virology*. 2009; 388: 270–278. doi: 10.1016/j.virol.2009.03.026.
56. Bai X., Xi S., Chen G., Fan X., Wang K., Li Y., Zhao Y., Wang W. and Tian Y. Multicenter, randomized controlled, open label evaluation of the efficacy and safety of arbidol hydrochloride tablets in the treatment of influenza-like cases. *BMC Infect Dis*. 2013; 6 (23): 585. doi: 10.1186/s12879-023-08570-9.
57. Mawatari M., Saito R., Hibino A., Kondo H., Yagami R., Odagiri T., Tanabe I., Shobugawa Y. Effectiveness of four types of neuraminidase inhibitors approved in Japan for the treatment of influenza. *PLoS One*. 2019; 14 (11): e0224683. doi: doi.org/10.1371/journal.pone.0224683.
58. Storms A.D., Gubareva L.V., Su S. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 Virus Infections, United States, 2010–2011. *Emerg Infect Dis*. 2012; 18 (2): 308–311. doi: 10.3201/eid1802.111466.
59. Lackenby, A. et al. (2018) 'Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals, 2016–2017', *Antiviral Research*. 2018; 157: 38–46. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.07.001.
60. Duval X., Werf S., Blanchon T., Mosnier A., Bouscambert-Duchamp M., Tibi A., Enouf V., Andreoletti L., Tubach F., Lina B., Mentre F., Lepout C. Efficacy of Oseltamivir-Zanamivir Combination Compared to Each Monotherapy for Seasonal Influenza: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *PLoS Med*. 2010; 7 (11): e1000362. doi: 10.1371/journal.pmed.1000362.
61. Kiso M., Takahashi K., Sakai-Tagawa Y. et al. T-705 (favipiravir) activity against lethal H5N1 influenza A viruses. *Proc Nat Acad Sciences*. 2010; 107: 882–887. doi: 10.1073/pnas.0909603107.
62. Mendenhall M., Russell A., Juelich T. et al. Favipiravir Inhibition of Arenavirus Replication in Cell Culture', *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55: 782–787. doi: 10.1128/AAC.01219-10.
63. Mullard A. FDA approves first new flu drug in 20 years. *Nat Rev Drug Discov*. 2018; 17 (853). doi: 10.1038/nrd.2018.219.
64. Hayden F.G. et al. (2018) 'Baloxavir Marboxil for Uncomplicated Influenza in Adults and Adolescents. *N Engl J Med*. 2018; 379: 913–923. doi: 10.1056/NEJMoa1716197.
65. Timofeeva T.A. et al. Mutations in the genome of avian influenza viruses of the H1 and H5 subtypes responsible for adaptation to mammals. *Microbiology Independent Research Journal*. 2021; 8 (1): 50–61. doi: https://doi.org/10.18527/2500-2236-2021-8-1-50-61.
66. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Шкляева О.М., Максимов В.А., Бондарев В.П., Небольсин В.Е. Изучение профилактической и терапевтической эффективности нового отечественного химиопрепарата Ингавирин® в отношении возбудителя гриппа А (H5N1). *Антибиотики и химиотер*. 2010; 55 (7–8): 10. [Loginova S.Ya., Borisevich S.V., Shklyeva O.M., Maksimov V.A., Bondarev V.P., Nebol'sin V.E. Izuchenie profilakticheskoy i terapevticheskoy effektivnosti novogo otechestvennogo khimioterapatsiya Ingavirin® v otnoshenii vzbuditelya grippa A (H5N1). *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2010; 55 (7–8): 10. (in Russian)]
67. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Исаева Е.И., Малышев Н.А., Львов Д.К. Эффективность ингавирина в лечении гриппа у взрослых. *Терапевтический архив*. 2009; 89 (3): 51–53. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Isaeva E.I., Malyshev N.A., L'vov D.K. Effektivnost' ingavirina v lechenii grippa u vzroslykh. *Terapevticheskij Arkhiv*. 2009; 89 (3): 51–53. (in Russian)]
68. Дунаева М.Н., Щелканов М.Ю., Панкратов Д.В., Иунихина О.В., Крылова Н.В., Лубова В.А. Заявка на патент «Набор олигонуклео-

тидов-праймеров, используемых для идентификации вируса гриппа А». регистрационный номер 2023127156. 2023 г. [Dunaeva M.N., Shchelkanov M.Jyu., Pankratov D.V., Iunikhina O.V., Krylova N.V., Lubova V.A. Zayavka na patent «Nabor oligonukleotidov-prajmerov, ispol'zuemykh

dlya identifikatsii virusa grippa A». registratsionnyj nomer 2023127156. 2023. (in Russian)]

Поступила / Received 08.04.2024

Принята в печать / Accepted 20.04.2024

Информация об авторе

Дунаева Мария Николаевна — младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых вирусных инфекций, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора; преподаватель Школы биомедицины, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет». ORCID ID: 0000-0002-1728-1852

About the author

Maria N. Dunaeva — Junior Researcher at the Laboratory of Natural Focal Viral Infections, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G. P. Somov of Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare; Lecturer at the School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1728-1852