

В.Б. ЛОКТЕВ, М.Ю. КАРТАШОВ

Флавиовирусы:

новые, старые и будущие угрозы

Ключевые слова: флавиовирусы, ортофлавиовирусы, арбовирусы, вирус клещевого энцефалита, вирус Западного Нила, вирус Зика, вирус гепатита С, Kindia tick virus, флавиоподобные вирусы, ГНЦ ВБ «Вектор».

Key words: flaviviruses, orthoflaviviruses, arboviruses, tick-borne encephalitis virus, West Nile virus, Zika virus, hepatitis C virus, Kindia tick virus, flavi-like viruses, SRC VB "Vector"

Слева — молекулярная модель вириона Зика. Предоставлено А. Бакулиной

Вверху — комар рода *Aedes*, потенциальный переносчик лихорадки денге, Зика и желтой лихорадки. © CC BY-NC 2.0 / (U.S. Air Force photo/Brian Ferguson)

На микрофотографиях — частицы вируса клещевого энцефалита. © CC BY 2.5/ Stiasny K, Kössl C, Lepault J, Rey FA, Heinz FX

© В.Б. Локтев, М.Ю. Карташов, 2024

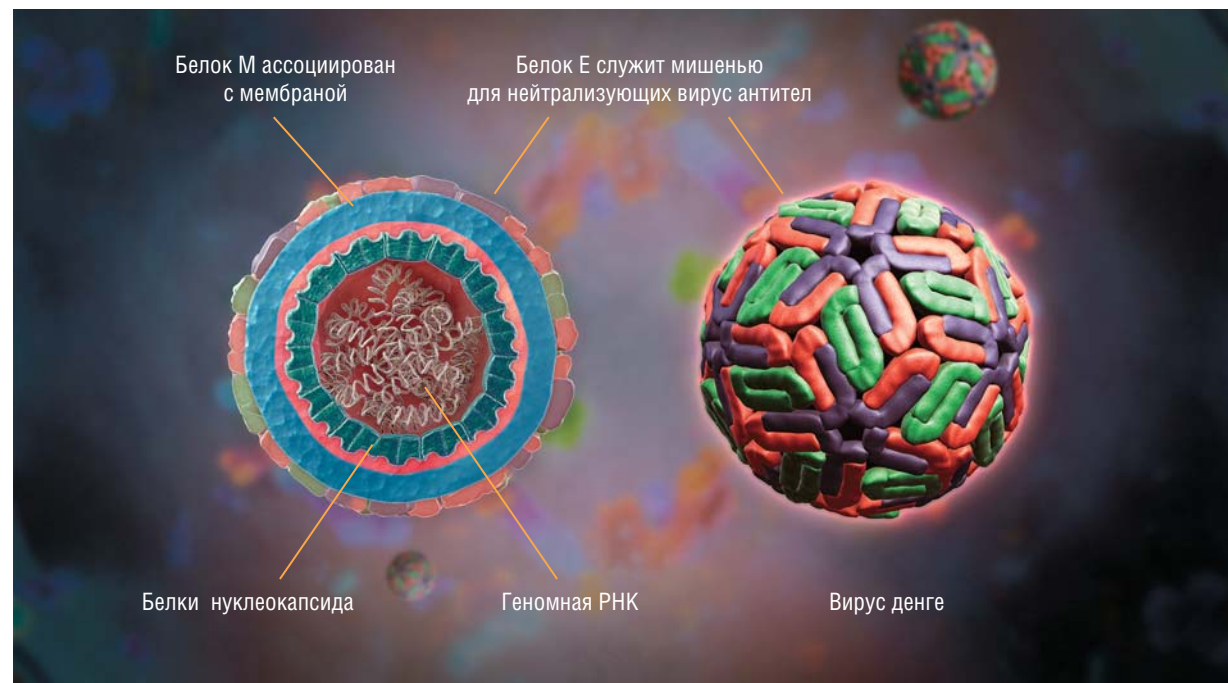


ЛОКТЕВ Валерий Борисович — доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник и руководитель лаборатории иммунологии вирусных инфекций отдела молекулярной вирусологии флавиовирусов и вирусных гепатитов ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (накоград Кольцово, Новосибирская обл.). Автор и соавтор более 210 научных статей и 25 патентов



КАРТАШОВ Михаил Юрьевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавиовирусов и вирусных гепатитов ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (накоград Кольцово, Новосибирская обл.), старший преподаватель кафедры естественных наук СУНЦ Новосибирского государственного университета. Автор и соавтор более 68 научных статей и 3 патентов

В XVII в. в английских портах нередко можно было увидеть «Желтого Джека» — карантинный флаг желтого цвета, который поднимали на кораблях, возвращающихся из тропиков, с желтушными больными на борту, страдающими неведомой лихорадкой. Возбудитель этой инфекции стал первым флавиовирусом, который ученым удалось опознать — но не обезвредить. Среди других членов этого опаснейшего вирусного семейства — вирус денге, ежегодно поражающий до 400 млн человек по всему миру; вирусы Зика и Западного Нила, за столетие многократно расширившие свои ареалы; вирус клещевого энцефалита, особенно актуальный для Сибири и Дальнего Востока, где встречаются его самые смертоносные варианты. Большинство болезней, вызываемых флавиовирусами, имеет природно-очаговый характер, а их возбудители переносятся кровососущими насекомыми и клещами — избавиться от этой угрозы полностью невозможно. И сегодня, несмотря на все достижения в медицине, инфекционные заболевания занимают второе место в списке общей смертности от болезней, и вклад флавиовирусов в эту цифру высок. Ситуация усугубляется высокой изменчивостью уже известных и появлением новых патогенов, что ставит перед исследователями ряд научных и прикладных задач. Их решением уже более 40 лет занимаются специалисты ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», активно изучающие возбудителей клещевых и комариных флавиовирусных инфекций



Семейство *Flaviviridae* состоит из относительно просто устроенных, небольших (размером 40–60 нм) сферических оболочечных вирусов. Геном обычно представлен несегментированной линейной одноцепочечной молекулой РНК, кодирующей один большой «супербелок»-полипротеин, из которого образуется не менее десятка различных функциональных белков, включая белок Е оболочки, структурные белки М и С и белки, образующие вместе с РНК нуклеокапсид.

Вверху – структура вируса денге (DENV), возбудителя тропической лихорадки денге, передаваемой комарами. *Public Domain/Girish Khera, Scientific Animations*

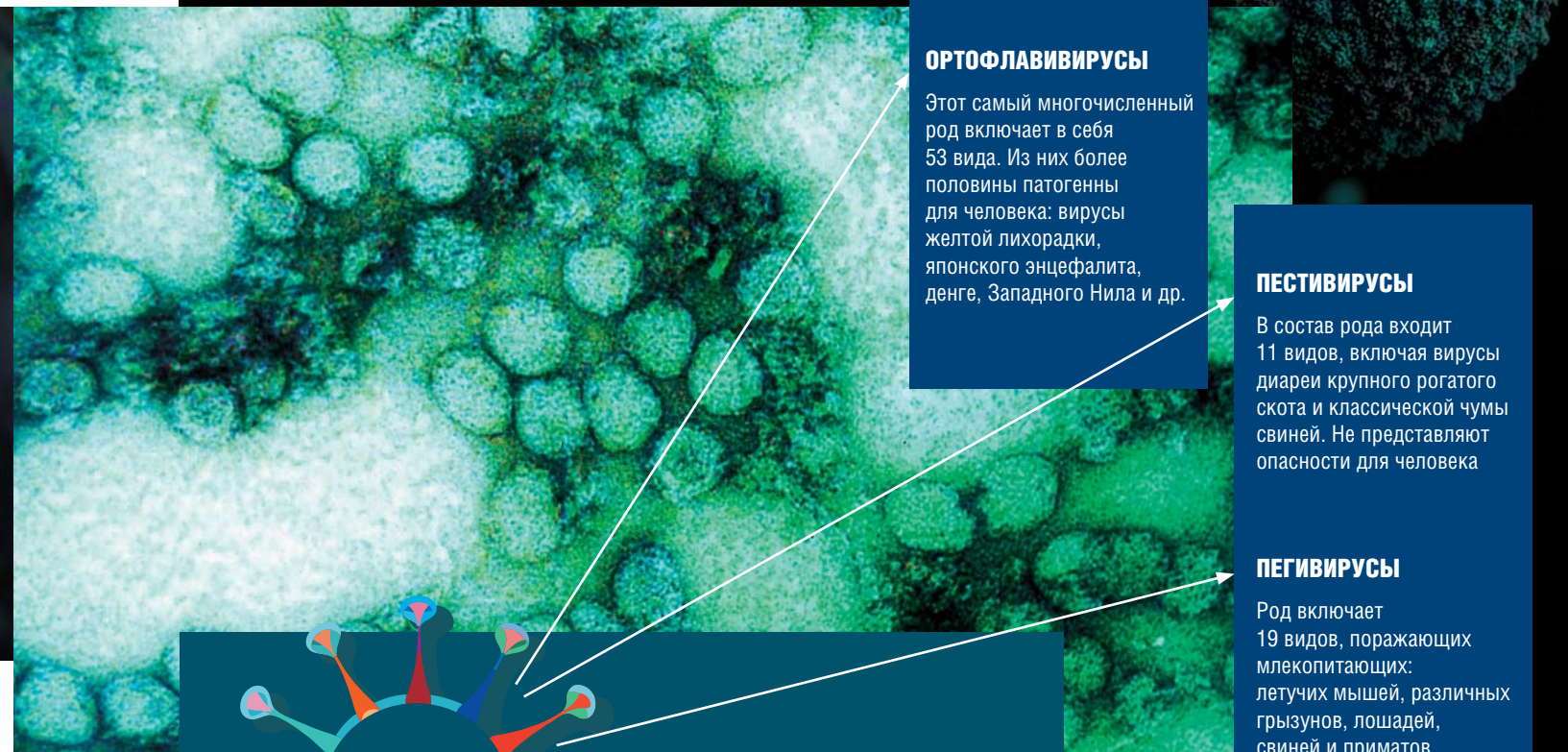
Семейство вирусов *Flaviviridae* получило свое название от латинского *flavus* – желтый, а точнее – по типовому вирусу, вызывающему *желтую лихорадку*, впервые описанному в 1927 г. Сама эта болезнь была известна давно, как и ее главные симптомы: тяжелая лихорадка и желтуха из-за поражения печени. Первоначально желтая лихорадка ассоциировалась с морскими судами, плавающими в тропических широтах, а открытие ее возбудителя предопределила вспышка болезни среди строителей Панамского канала, привлекая внимание ученых.

Специфического лечения этой инфекции не существует: когда в середине прошлого века в Эфиопии заболели свыше 300 тыс. человек, около 50 тыс. из них умерли. Добавим, что в наши дни желтая лихорадка считается карантинной инфекцией, и въезд в ряд стран без предварительной вакцинации против нее запрещен.

Со времен открытия вируса желтой лихорадки семейство флавивирусов пополнилось десятками видов, способными вызывать различные инфекционные заболевания животных и человека, многие из которых достаточно давно известны. Приблизительно половина

из этих флавивирусов может заражать людей. Для клинической картины заболеваний характерны тяжелые лихорадки, в том числе с выраженными геморрагическими проявлениями, *менингиты* и *энцефалиты*, сопровождающиеся очаговыми поражениями центральной нервной системы, тяжелыми повреждениями печени и других внутренних органов. Летальность при некоторых флавивирусных инфекциях достигает нескольких десятков процентов, а хронические формы болезни могут приводить к трагическому исходу спустя годы после заражения.

Распространены флавивирусы практически глобально – известны вспышки флавивирусных инфекций, в которые были вовлечены целые континенты. Ежегодно с этими вирусами контактируют сотни миллионов человек, и многие из них заболевают и умирают. Парадокс ситуации в том, что для некоторых стран точные данные о ежегодном числе таких заболевших просто отсутствуют – имеются лишь экспертные оценки. Но даже если судить по последним, то получается, что в регионах, где можно заразиться и заболеть той или иной флавивирусной инфекцией, проживают миллионы или даже миллиарды человек!



ОРТОФЛАВИВИРУСЫ

Этот самый многочисленный род включает в себя 53 вида. Из них более половины патогенны для человека: вирусы желтой лихорадки, японского энцефалита, денге, Западного Нила и др.

ПЕСТИВИРУСЫ

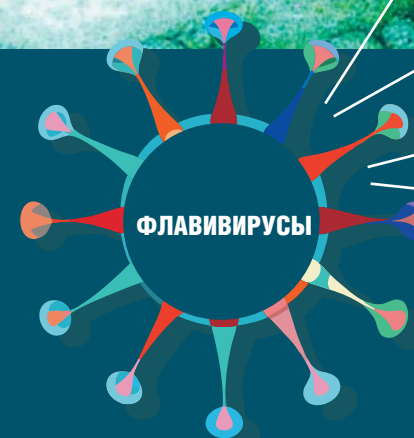
В состав рода входит 11 видов, включая вирусы диареи крупного рогатого скота и классической чумы свиней. Не представляют опасности для человека

ПЕГИВИРУСЫ

Род включает 19 видов, поражающих млекопитающих: летучих мышей, различных грызунов, лошадей, свиней и приматов. Не имеют признаков явной патогенности. *Pegivirus A* способен передаваться от матери к плоду, что может привести к нарушению развития, гибели или пожизненному вирусоносительству

ГЕПАЦИВИРУСЫ

В состав рода входит вирус гепатита С человека, который в естественных условиях не имеет других хозяев. Открыты гепацивирусы, заражающие лошадей, предположительно, собак, мелких грызунов и т. п. Возможный представитель рода – вирус геморрагической лихорадки обезьян

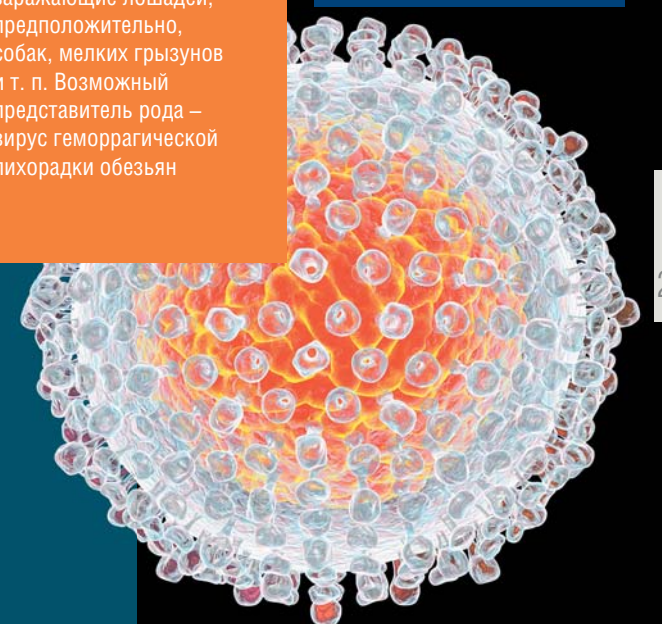


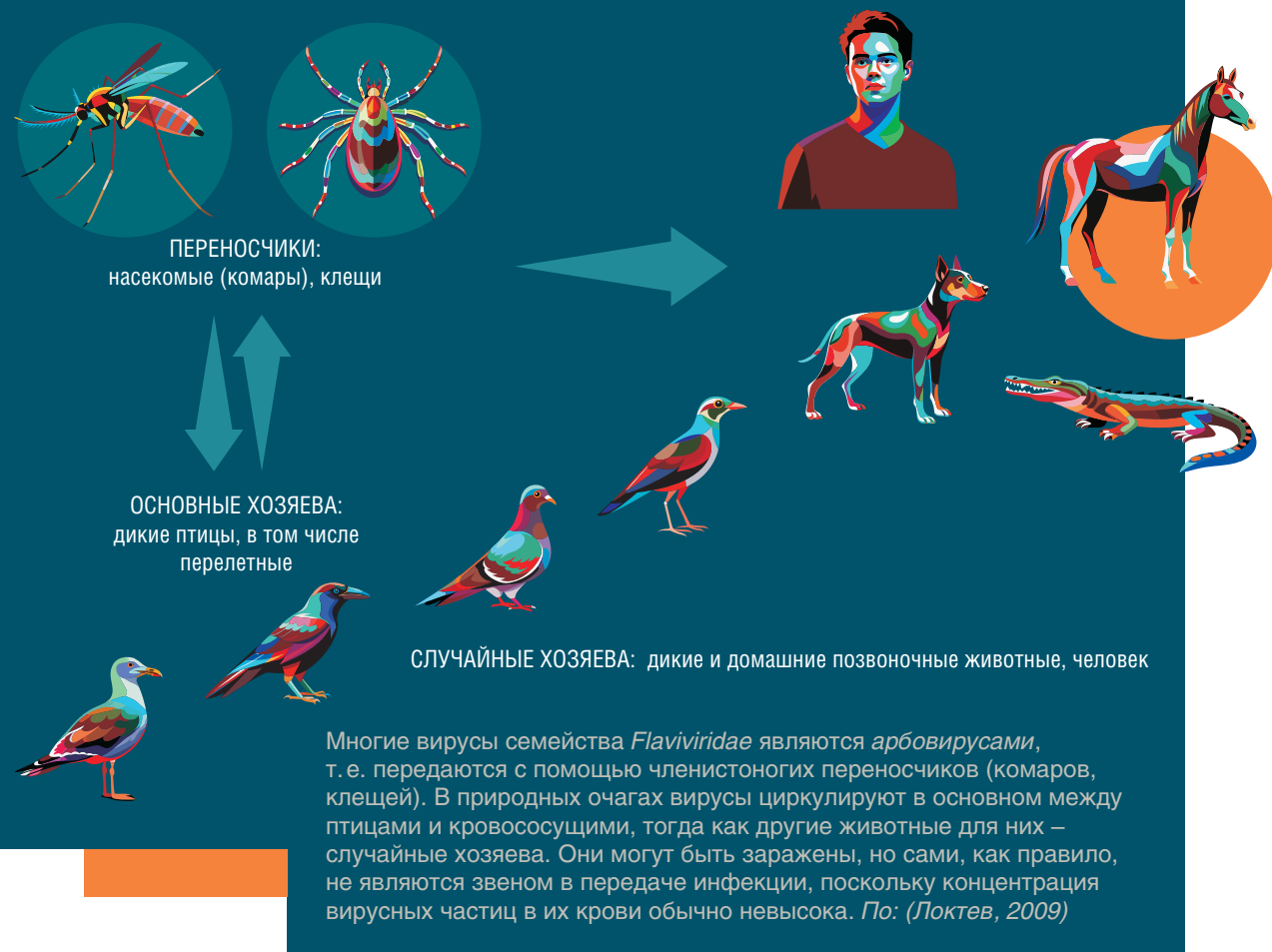
Сегодня к семейству флавивирусов (*Flaviviridae*) относят более 89 видов уже классифицированных и ряд новых флавиподобных вирусов, которые генетически взаимосвязаны с этим семейством, но еще не нашли своего точного места в номенклатуре.

Семейство делится на 4 рода: собственно *флавивирусы*, или *ортофлавивирусы* (*Orthoflavivirus*, до 2023 г. – *Flavivirus*), *пестивирусы* (*Pestivirus*), *пегивирусы* (*Pegivirus*), *гепацивирусы* (*Hepacivirus*) и свыше 50 неклассифицированных. Строение геномов последних отличается от типовых представителей семейства: они могут быть сегментированы, иметь существенно большие размеры и содержать гены, не имеющие аналогов среди других членов семейства

Вверху – вирус желтой лихорадки. *Public Domain/Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library*

Справа – вирус гепатита С. *Microbiology Image Library*





Принято отдельно выделять так называемые большие флавивирусные инфекции: их возбудителями, помимо вируса желтой лихорадки, служат *вирусы денге*, *японского энцефалита*, *Западного Нила* и *Зика*, которые встречаются во многих странах на разных континентах. К этой группе часто относят и *вирус клещевого энцефалита*, хотя он приводит всего к 10–30 тыс. случаев заболевания в год у человека, тогда как вирусом денге ежегодно инфицируется до 400 млн человек.

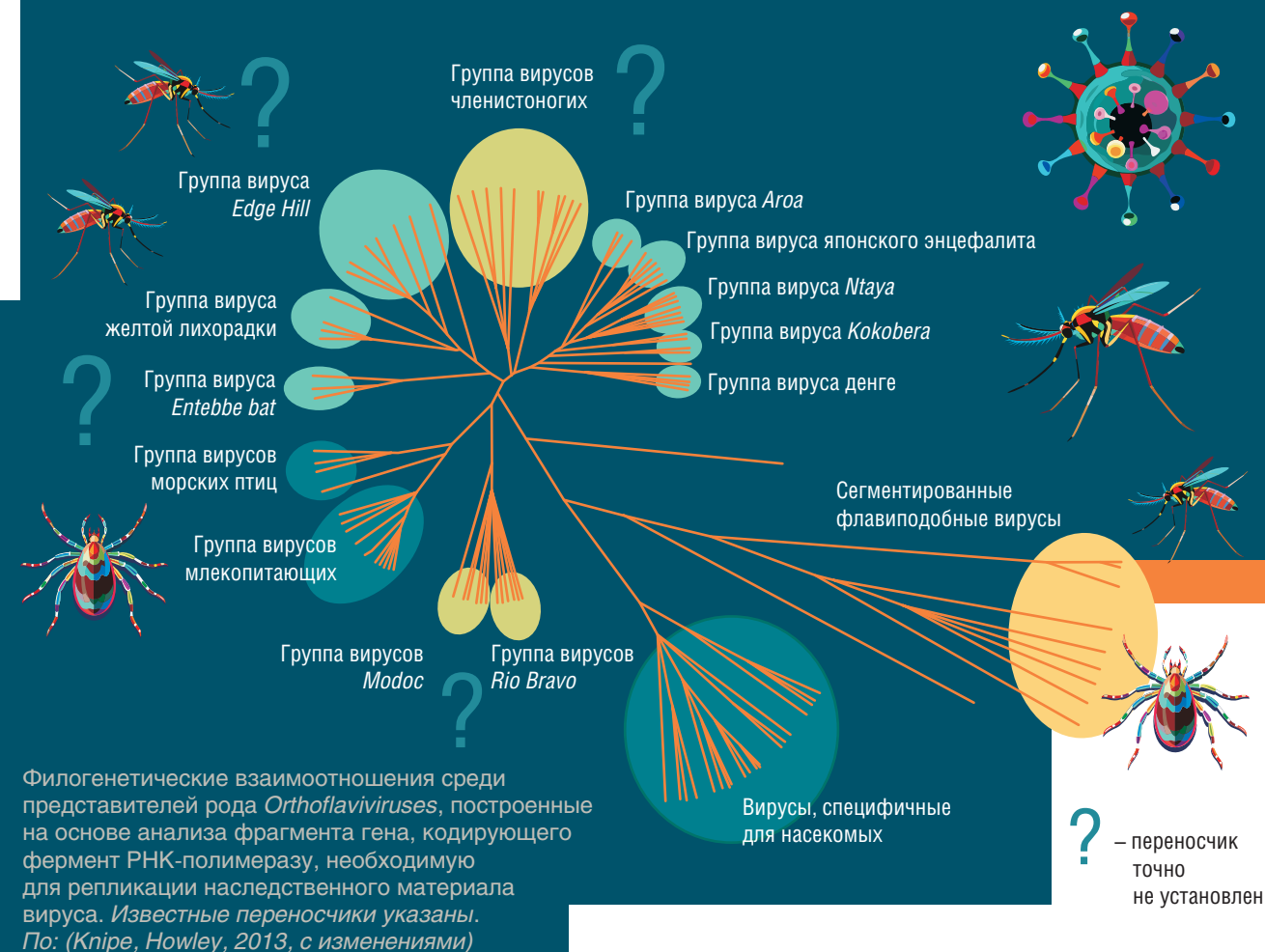
Особо стоит упомянуть *вирус гепатита С*, который входит в отдельный род *Hepacivirus*. По данным ВОЗ на 2022 г., этим патогеном заражено около 170 млн человек, причем у 71 млн отмечено хроническое течение заболевания. Болезнь без лечения кончается трагически, за что вирус гепатита С заслуженно получил неофициальное название «ласковый убийца».

Широкое распространение флавивирусных заболеваний в современном мире требует разработки средств диагностики, профилактики и лечения этих инфекций, а сами вирусы – углубленного научного изучения. Только так мы сможем победить эти опасные вирусные заболевания человека и установить контроль над циркуляцией их возбудителей в природе.

Под прицелом – человек

Изучение вспышек желтой лихорадки и установление их виновника показали, что принципиальную роль в передаче этой инфекции человеку играют комары. В 1931–1937 гг. был последовательно открыт целый ряд новых флавивирусов: *вирусы шотландского энцефаломиелиита овец*, *энцефалита Сент-Луис*, а также уже упомянутых японского и клещевого энцефалитов.

Появление около десяти лет назад новых противовирусных препаратов прямого действия против вируса гепатита С, ингибирующих только вирусные белки, кардинально изменило ситуацию в борьбе с этим смертельно опасным для человека флавивирусом. Эти химиопрепараты, выпускаемые сегодня под разными коммерческими названиями, способны всего за 8–12 недель остановить хроническую вирусную инфекцию, при этом успех достигается более чем в 95% случаев. Принципиально новые способы для борьбы с вирусным гепатитом С позволили Всемирной организации здравоохранения декларировать возможность полной ликвидации заболевания к 2030 г.



Общими чертами этих вирусов была их способность вызывать у человека тяжелые нейроинфекции.

Выяснилось, что флавивирусы могут инфицировать широкий круг организмов, включая млекопитающих, насекомых, птиц и рептилий. При этом в большинстве случаев передача вирусной инфекции осуществляется через укус переносчика-вектора – кровососущими комарами или клещами. В результате все флавивирусы были условно разделены на возбудителей клещевых и комариных инфекций, а также на тех, для которых такой вектор не известен.

Природные очаги флавивирусов, в том числе городские, распространены практически повсеместно. Они формируются членистоногими переносчиками инфекции и их теплокровными прокормителями. Человек, как правило, является случайным хозяином: попадая в природный очаг вирусной инфекции, он заражается, подвергнувшись нападению комара или клеща, инфицированного тем или иным патогеном.

Миграция населения, перестройка транспортных потоков и природных ландшафтов в результате хозяйственной деятельности человека постоянно меняют и картину распределения очагов флавивирусных инфекций. В частности, формируются новые очаги,

«НОБЕЛЕВКА» – ЗА ГЕПАТИТ С

В 2020 г. за открытие вируса гепатита С были удостоены Нобелевской премии по медицине и физиологии американец Х. Альтер, выделивший новую форму хронического вирусного гепатита, британец М. Хоутон, установивший генетическую последовательность вируса, и американец Ч. М. Райс, окончательно доказавший, что вновь открытый вирус действительно вызывает гепатит.

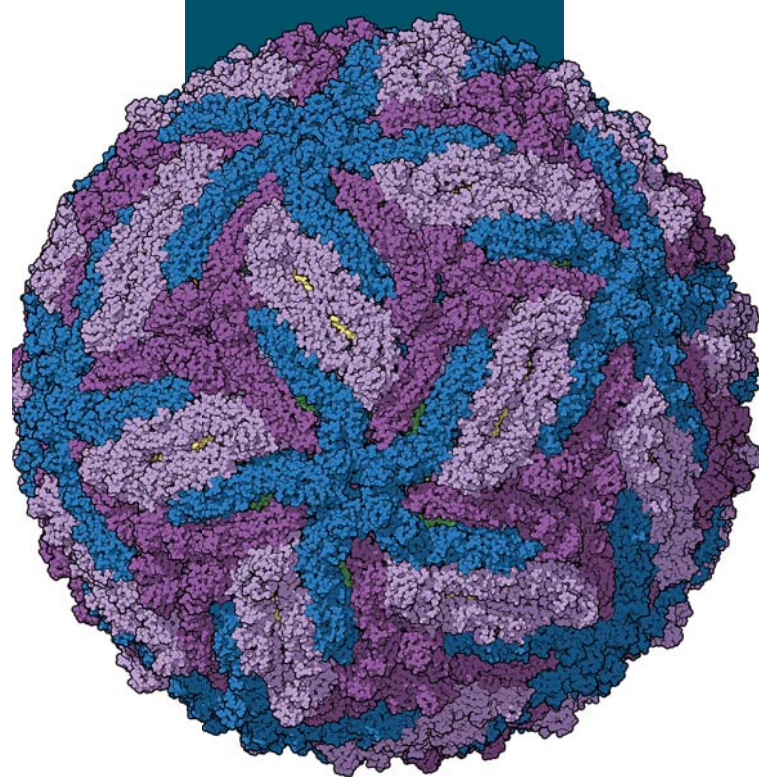
Решающим доказательством роли вируса гепатита С в развитии заболевания и поражения печени человека стали результаты исследования, в ходе которого был создан генно-инженерный вариант РНК-вируса, введенный затем в печень шимпанзе. У лабораторного животного развилось заболевание, сопровождавшееся патологическими изменениями, сходными с теми, которые наблюдаются у людей с хроническим гепатитом С.

В этой работе принимали непосредственное участие два сотрудника Всесоюзного научно-исследовательского института молекулярной биологии (будущего ГНЦ ВБ «Вектор»): А. А. Колыхалов и Е. В. Агапов. Публикация по результатам этого исследования (А. А. Kolykhalov, E. V. Agapov, K. J. Blight, K. Mihalik, S. M. Feinstone, C. M. Rice. *Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. Science*. 1997; 277: 570–574) указана на сайте Нобелевского комитета как одна из ключевых

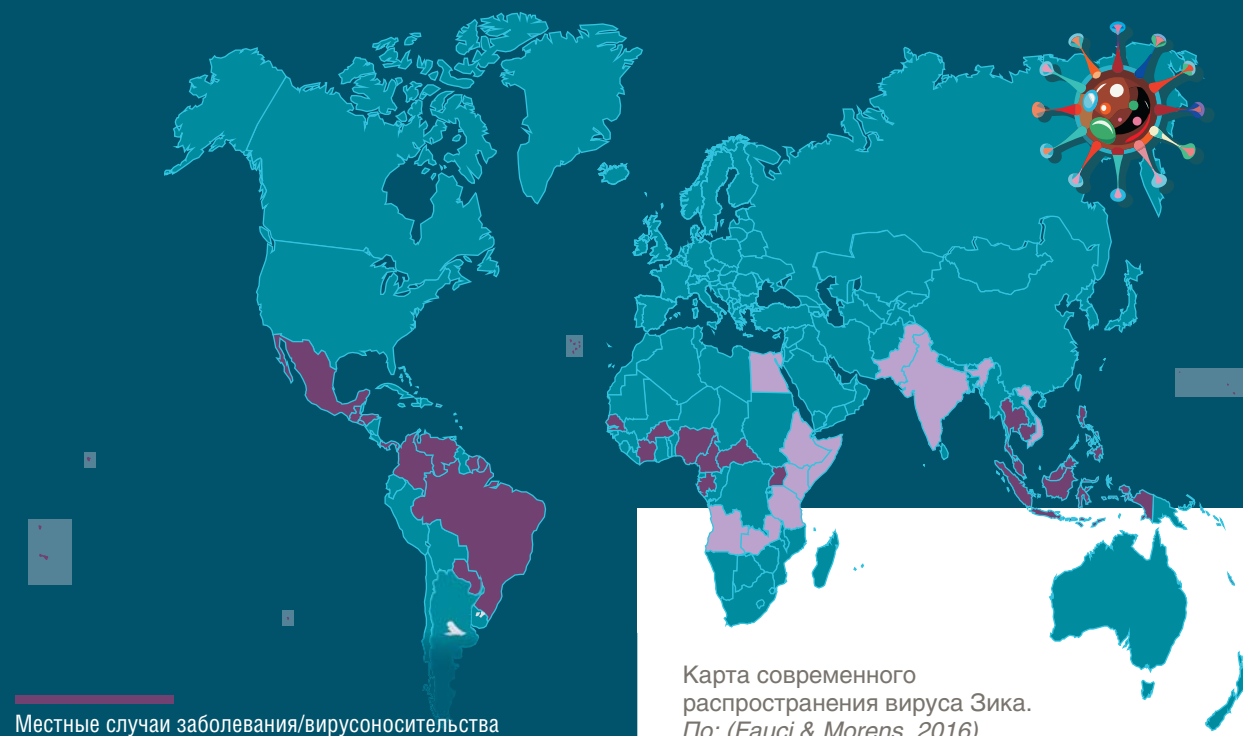


Со времени открытия вируса Зика в 1947 г. и до 2007 г. отмечались лишь эпизодические случаи заражения им людей в странах Африки и Азии. По: (Musso, Gubler, 2016)

Внизу – гликопротеиновая оболочка вируса Зика, определенная с помощью криоэлектронной микроскопии. От структур других известных флавивирусов ее отличают участки из примерно 10 аминокислот, которые могут быть местом прикрепления вируса к клеткам хозяина. © CC BY-SA 4.0/Manuel Almagro Rivas



Лихорадкой Зика в среднем заболевает лишь каждый пятый из инфицированных. Однако вирус способен достаточно долго циркулировать в организме без видимых проявлений, выделяясь с мочой и спермой. Так как вирус может поражать яички, есть вероятность заразиться половым путем: описано много доказанных случаев передачи инфекции от человека к человеку. Опасность вируса Зика в том, что в отличие от других флавивирусов он способен преодолевать плацентарный барьер и инфицировать эмбрион в первом триместре беременности. Это приводит к микроцефалии (уменьшению размеров головного мозга) у новорожденных. У взрослого вирус Зика может сыграть роль «пускового механизма» развития синдрома Гийена – Барре, неврологического аутоиммунного заболевания, которое ведет к нарушениям функционирования внутренних органов, работы мышц, включая дыхательную и сердечную мускулатуру, и даже к смерти. По: (Локтев, 2017)



Карта современного распространения вируса Зика. По: (Fauci & Morens, 2016)

наркотики, незащищенный секс, медицинские манипуляции и т. д.). Для этого вируса характерна высокая генетическая изменчивость: на сегодняшний день известно 8 генотипов и более 100 субтипов. Фактически вся популяция человека является для возбудителя этой инфекции природным резервуаром, что принципиально отличает его от других флавивирусов.

«Вектор» стартует

Успехи иммунологии в сочетании с появлением электронной микроскопии позволили создать первые классификации вирусных агентов. С развитием методов определения последовательностей ДНК и РНК стало понятно, что исследования структуры и принципов организации генома вирусов позволят получить надежные критерии для их классификации и обеспечить разработку диагностических средств и вакцин для профилактики вирусных инфекций. Так что с установления нуклеотидной последовательности генома все того же вируса желтой лихорадки в 1985 г. фактически началась новая эра в изучении флавивирусов.

Исследования флавивирусов в НПО «Вектор» стартовали в конце 1980-х гг., когда встал вопрос о необходимости развернуть борьбу с вирусными инфекционными заболеваниями, характерными для Новосибирской области и юга Западной Сибири. Выбор объекта был сделан сразу – вирус клещевого энцефалита. Из-за высокой конкуренции в этой области было принято решение сконцентрироваться на новых направлениях:

многие из которых связаны с перелетными птицами и грузовыми перевозками по суше и морю. Возникшая в начале нового тысячелетия глобальная вспышка лихорадки Западного Нила, переносимой комарами, стала яркой демонстрацией, что в современных условиях флавивирусы способны пересекать океаны и формировать природные очаги инфекции на новых континентах фактически на наших глазах.

Чуть позднее возможности флавивирусов вызывать глобальные вспышки заболеваний подтвердил *вирус Зика*, который с потрясающей скоростью пересек Индийский и Тихий океаны и сформировал природные очаги практически во всех странах Центральной и Южной Америки. Попутно «классический» комариный флавивирус преобразился и приобрел способность поражать мозг человеческого эмбриона и передаваться от человека к человеку, в том числе половым путем. Пока эти новые опасные американские варианты вируса Зика отделяет от его прародины – африканского континента – только Атлантический океан.

Природный источник вируса гепатита С, вызывающего тяжелое заболевание, приводящее к циррозу и раку печени, не установлен. Болезнь передается непосредственно от человека к человеку, чаще всего при контакте с кровью инфицированного (внутривенные

Вирус Западного Нила, открытый в 1937 г. и вызывавший лишь легкое недомогание, долгое время был известен только специалистам-вирусологам. Однако в конце XX в. в Средиземноморье появился его новый генотип, который в течение нескольких лет захватил практически все населенные материи. Опасность нового вируса в том, что у части заболевших развивается тяжелый энцефалит.

Заслуга сибирских вирусологов состоит в обнаружении факта распространения этого патогена в азиатскую часть России, включая юг Сибири и Дальний Восток. В результате было проведено генотипирование «местного» варианта вируса, разработаны наборы для диагностики лихорадки Западного Нила, а также метод генной терапии для профилактики и лечения тяжелых форм заболевания. По: (Локтев, 2009)

Частицы вируса Западного Нила (желтым цветом), размножающиеся в цитоплазме инфицированной клетки клеточной культуры VERO E6 (справа). Трансмиссионная электронная микроскопия. © CC BY 2.0/NIAID

Наборы для генетической диагностики вируса Западного Нила производства ЗАО «Вектор-Бест» совместно с ГНЦ ВБ «Вектор»



анализе геномных последовательностей и исследовании иммунологии с помощью моноклональных (вырабатываемых иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону) антител к вирусу. Позже в работу, помимо разных вариантов вируса клещевого энцефалита, были вовлечены и другие флавивirusы: вирус Западного Нила, эндемичный для Северной Америки клещевой вирус Повассан и вирус гепатита С.

В результате удалось сформировать базу геномных последовательностей этих опасных патогенов и оценить их генетическое разнообразие. Особый цикл исследований был связан с обнаружением и картированием клеточных рецепторов для вируса клещевого энцефалита. Все это позволило разработать методы генетической диагностики флавивirusных инфекций и открыло возможность конструирования нового поколения вакцин и терапевтических антител, и в том числе создания нескольких новых кандидатных вакцин против вируса клещевого энцефалита



За несколько лет один из генотипов вируса Западного Нила, предположительно появившийся в 1994 г. в Алжире, практически совершил кругосветное путешествие, распространившись в странах Африки, Северной и Южной Америки, Европы и Азии. По: (Локтев, 2009)

как одного из самых актуальных для нашей страны флавивirusов.

Исследования вируса гепатита С, выполненные в «Векторе», подтвердили его генетическую неоднородность в Сибирском регионе и доказали возможность «перемешивания» генетического материала разных вариантов, что обеспечивает появление новых штаммов. Полученные данные стали основой для разработки генетической диагностики этого безвредного агента в нашей стране. О важности этих работ говорит уже тот факт, что в России насчитывается от 3 до 5 млн больных хроническим гепатитом С, и ежегодно выявляется до 45 тыс. новых случаев (Kochneva, Kartashov, Krivosheina et al., 2021).

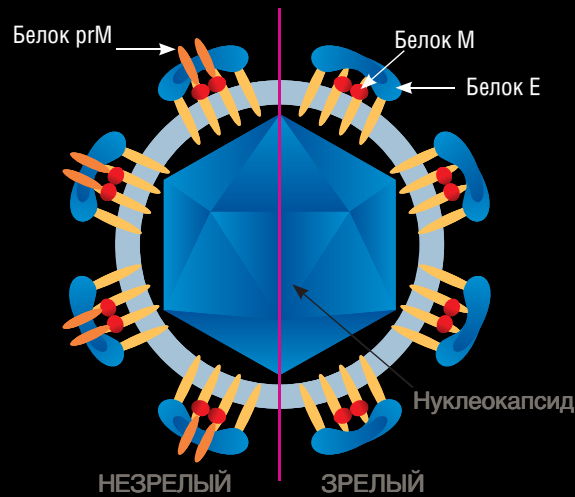
Родом из Африки?

Определение полногеномных последовательностей вирусных клещевого энцефалита и Повассан, которые вызывают очень сходные заболевания у человека, выполненное сотрудниками «Вектора», позволило по-новому взглянуть на эволюцию флавивirusов этой группы.

Как известно, вирус клещевого энцефалита был открыт в 1937 г. на Дальнем Востоке СССР, и долгое время считалось, что именно в этом регионе расположен основной очаг инфекции. Однако на деле вопрос происхождения этого патогена оказался намного более сложным.

Оценка времени эволюции вируса с помощью метода молекулярных часов, основанного на анализе частот возникновения мутаций в геноме, показала, что три основных генотипа вируса клещевого энцефалита – дальневосточный, восточносибирский (урало-сибирский) и европейский (западный) – образовались из общего предшественника примерно 2,25–2,75 тыс. лет назад, причем дальневосточный генотип оказался наиболее молодым. При этом на территорию Приморского края его предшественник – североамериканский вирус Повассан – попал, по-видимому, из Канады около 70 лет назад, в период Второй мировой войны (Leonova et al., 2009). Независимые исследования подтвердили эту оценку времени «расхождения» вирусных клещевого энцефалита и Повассан.

В результате появилась интересная гипотеза, что клещевые флавивirusы уже существовали на Африканском континенте около 30 тыс. лет назад и были схожи с современным Кадам-подобным вирусом (KADV). И лишь в дальнейшем, по мере потепления климата и окончании ледникового периода, они распространились по территории Азии, Европы и Северной Америки.

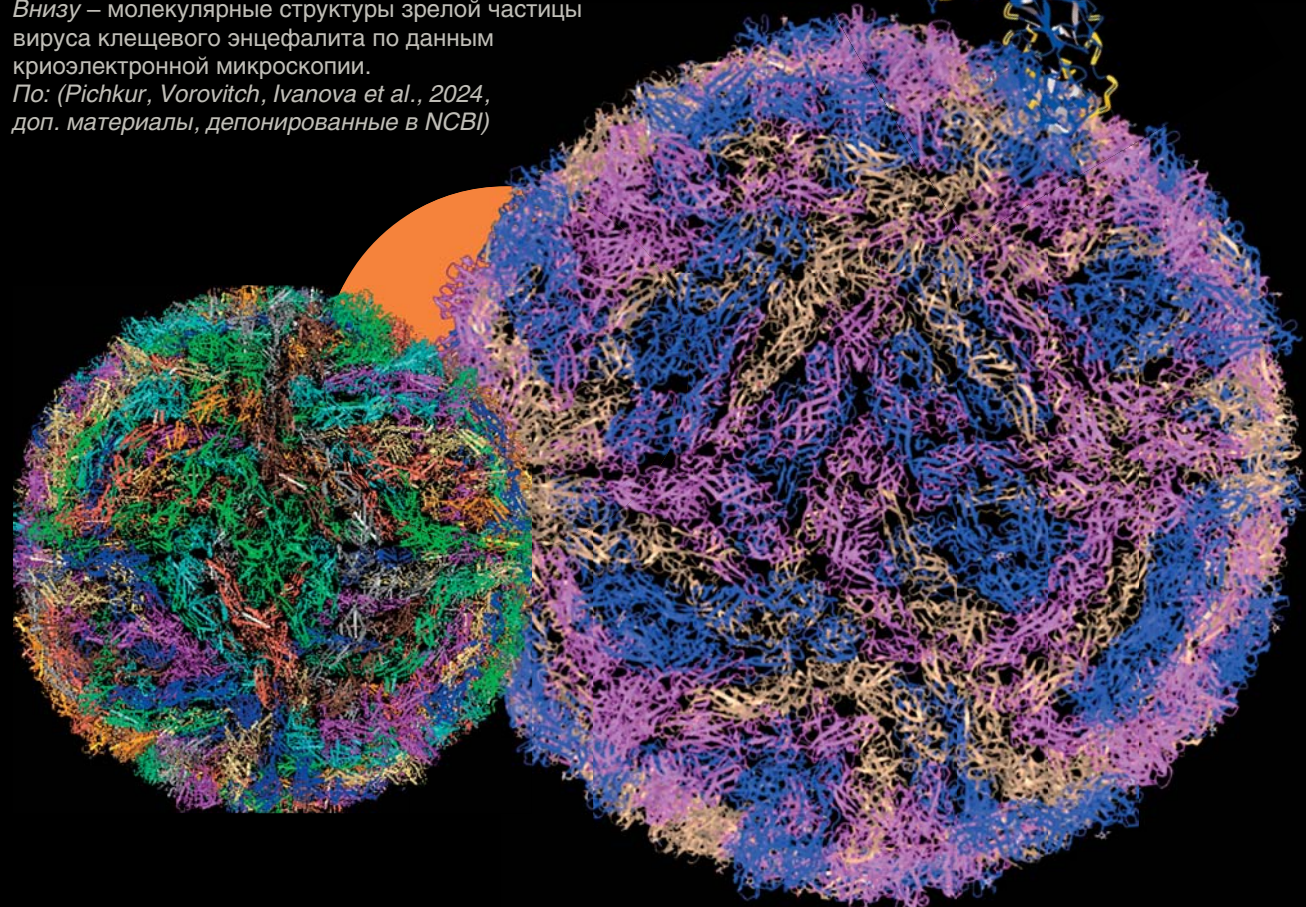


У вируса клещевого энцефалита, как и у других флавивирусов, различают две формы вирионов: незрелую и зрелую. Гликопротеидные шипы незрелой формы включают в себя предшественника белка М – белок prM, который протеолитически расщепляется в процессе созревания вирусной частицы. По: (Füzik et al., 2018)

Трансмембранный белок Е оболочки вируса клещевого энцефалита играет ключевую роль на начальных этапах инфекции, опосредуя взаимодействие с рецепторами клетки-мишени. Анализ последовательности гена Е используют для выявления генетической разнородности среди штаммов вируса клещевого энцефалита. Справа – общий вид димера выступающей части «шипа» белка Е.

Внизу – молекулярные структуры зрелой частицы вируса клещевого энцефалита по данным криоэлектронной микроскопии. По: (Pichkur, Vorovitch, Ivanova et al., 2024, доп. материалы, депонированные в NCBI)

Белок Е



Anc1-TBF	предполагаемый 1-й предшественник клещевых флавивирусов
Anc2-TBF	предполагаемый 2-й предшественник
KADV	вирус Кадам
TBEV-Sib	вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), сибирский генотип
TBEV-FE	ВКЭ, дальневосточный генотип
TBEV-Eu	ВКЭ, европейский генотип
TBEV-Hum	ВКЭ, гималайский генотип
TBEV-Bai	ВКЭ, байкальский генотип
OHFV	вирус омской геморрагической лихорадки
POWV	вирус Повассан
LIV	вирус шотландского энцефаломиелита овец
SSEV	вирус испанского энцефалита овец
GGEV	вирус греческого энцефалита коз
TSEV	вирус турецкого энцефалита овец
KSIV	вирус Карши
RFV	вирус Королевской фермы
AHEV	вирус Альхурма
Langat	вирус Лангат
GGYV	вирус Гаджета Галли
KFDV	вирус Кьясанурской лесной болезни
DTV	вирус оленьего клеща
Seabird-TBF	клещевой флавивирус морских птиц

Вирус клещевого энцефалита, по всей видимости, возник приблизительно 3 тыс. лет назад на юге Западной Сибири и затем начал свое шествие по Северной Евразии. Разнообразие существующих геновариантов этого патогена (сибирский, европейский, дальневосточный, обской, байкальский и т. д.) в Сибири только подтверждает гипотезу. «Мостиком» между африканским континентом и сибирским югом служат генетические варианты вируса, недавно обнаруженные в Гималаях,

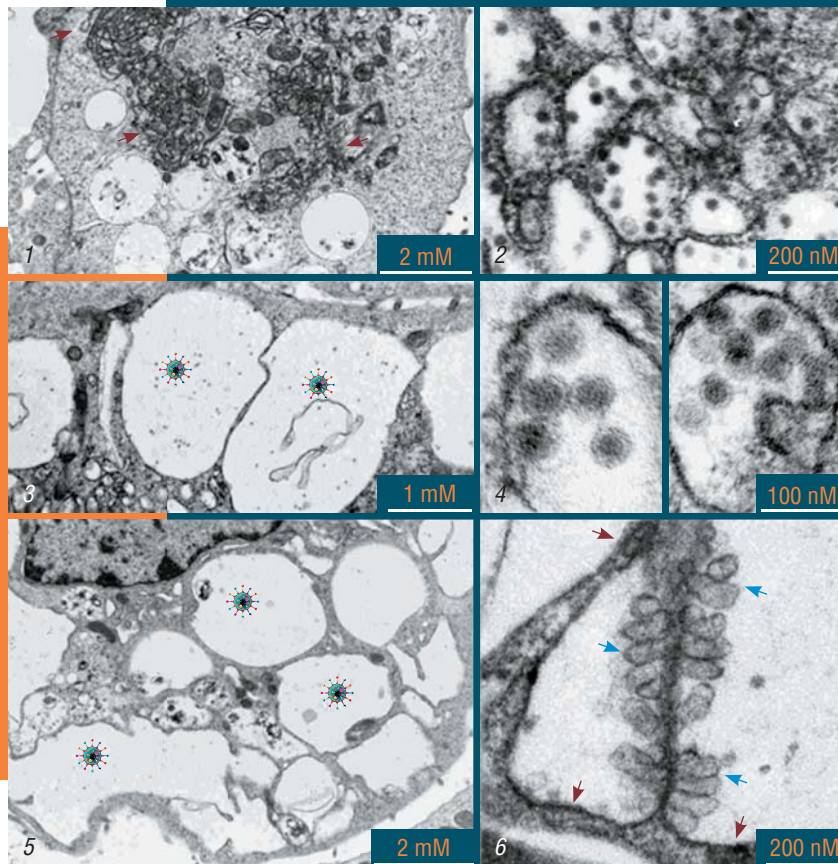
Вероятные пути распространения по планете флавивирусов – возбудителей клещевых инфекций, включая эпидемиологически значимые для РФ вирусы клещевого энцефалита, и примерное время их образования (цифры, тыс. лет назад). Для оценки времени расхождения (дивергенции) разных видов использовался метод молекулярных часов. По: (Локтев, 2021)

которые, вероятно, сохранились там со времен его «путешествия» на север Евразии по мере окончания последнего ледникового периода (Dai et al., 2018).

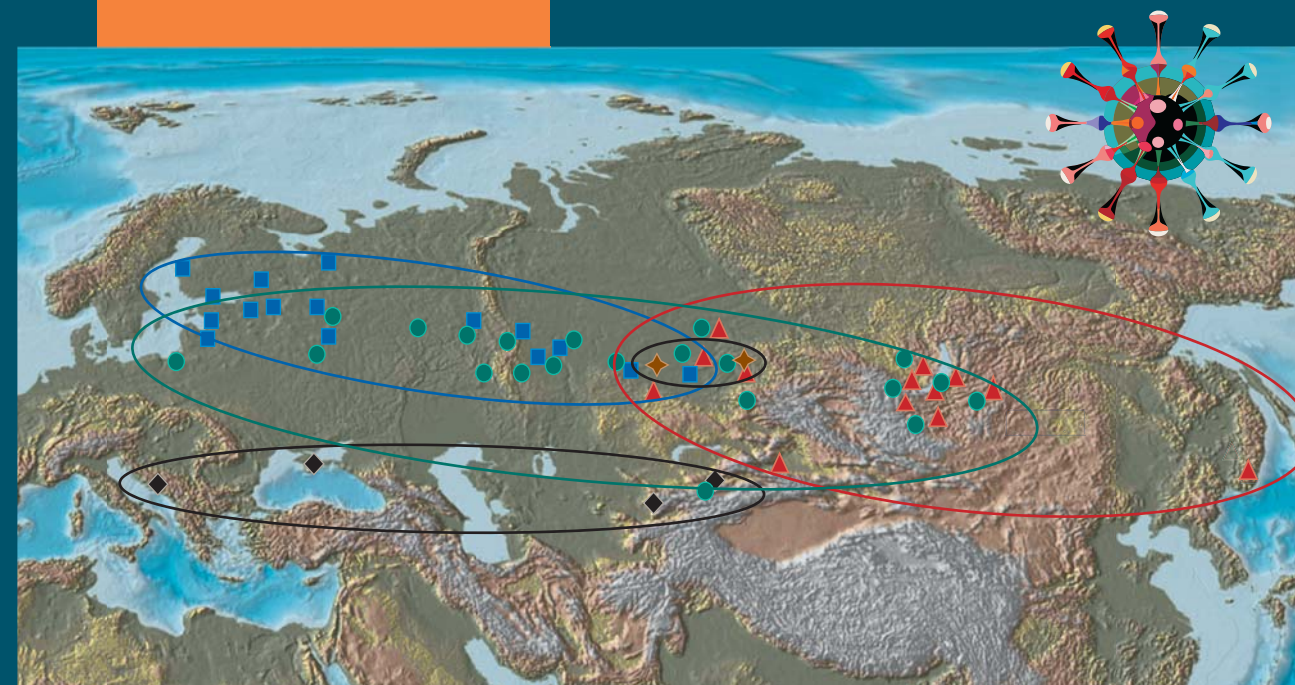
Но здесь возникает закономерный вопрос: каким образом инфицированные клещи и сам вирус клещевого энцефалита преодолели многие тысячи километров из центра Африки до юга Сибири?

Один из возможных ответов удалось получить в совместной работе с коллегами из Томского государственного университета, в ходе которой были отловлены дикие птицы 60 видов. У птиц и клещей, на них паразитирующих, было оценено наличие вирусных маркеров. В результате для 40 видов птиц было доказано вирусоносительство (Mikryukova et al., 2014). Подобный «воздушный транспорт» мог обеспечить быстрое распространение флавивирусов на огромные расстояния и формирование природных очагов в новых географических районах.

Недавно появилось сообщение об обнаружении вируса клещевого энцефалита на крайнем севере Африки,



Процесс размножения вируса Повассан в стандартной культуре клеток СПЭВ, полученной из эмбриональных клеток почки свиньи:
1 – типичная для начальных стадий флавивирусной инфекции агрегация цистерн (бордовые стрелки) эндоплазматического ретикулума – мембранной органеллы, важной для жизнеобеспечения клетки; 2–3 – внутри просветов цистерн видны частицы вируса Повассан; 4–5 – характерное для поздних стадий инфекции формирование цитоплазматических вакуолей (отмечены звездочками) из расширенных цистерн эндоплазматического ретикулума; 6 – гладкие мембранные структуры (голубые стрелки) на мембранах эндоплазматического ретикулума, служащие одним из диагностических признаков флавивирусной инфекции.
По: (Локтев, 2021)



Генетические линии:
▲ – Васильченко
● – Заусаев
■ – Балтийская
◆ – Боснийская
◆ – Обская

Все генетические линии сибирского субтипа вируса клещевого энцефалита имеют различное географическое распределение в Евразии. Наиболее высокое генетическое разнообразие характерно для южной части Западной Сибири, чем, вероятно, можно частично объяснить высокий показатель распространенности клещевого энцефалита в этом регионе. Штаммы байкальского субтипа по своей генетической структуре существенно отличаются от других субтипов и образуют независимый эволюционный кластер. По: (Ткачев, 2020)

в Тунисе. Фактически это означает, что он пересек Средиземное море и вернулся на свою историческую родину. Какие изменения произойдут в вирусном геноме в современных природных очагах Африки и не приобретет ли он свойства «агента X» – возбудителя новой пандемической инфекции? Ответа на эти вопросы сегодня нет.

Тайны клещевого энцефалита

Молекулярно-генетические исследования вируса клещевого энцефалита, проведенные сотрудниками «Вектора», выявили его неожиданно большое генетическое разнообразие. Так, в 1999 г. в Новосибирской области было зарегистрировано 8 случаев необычных летальных форм клещевого энцефалита (Ternovoi *et al.*, 2003). Их симптомами были тяжелая лихорадка, энцефалит и характерные *геморрагические* проявления – множественные кровотечения. Больные погибали на 15–17-й день заболевания. При анализе патогенов из образцов тканей заболевших людей было установлено, что эти вирусы относятся к дальневосточному субтипу вируса клещевого энцефалита. В последующие годы в НСО ретроспективно, по клинической картине,

были отмечены единичные случаи летальных форм такого геморрагического клещевого энцефалита.

К сожалению, тайна возбудителя этого смертельного заболевания до сих пор остается неразгаданной. Что он из себя представлял – необычный вариант флавивируса? Или это была редкая клещевая «смешанная» инфекция вирусной природы, сочетанная вирусно-бактериальная или вирусно-протозойная? Ответа нет, и пока никто не может сказать, когда будет поставлена точка в этой мрачной 25-летней истории.

Еще один необычный вирус клещевого энцефалита дальневосточного типа был выделен из мозга пациента, погибшего от остановки сердца в Приморском крае (Ternovoi *et al.*, 2007). Этот высокопатогенный штамм, названный *Глубинное/2004*, имеет уникальную генетическую структуру, отличаясь наличием множества мутаций и высокой скоростью репликации генома, особенно на ранних стадиях размножения в культуре клеток. Согласно молекулярно-генетическому анализу, этот штамм отделился от известных близкородственных китайских штаммов примерно 300–470 лет назад.

Достаточно давно на территории Западной Сибири были зарегистрированы и хронические формы клещевого энцефалита. В 2003 г. был полностью расшифрован

штамм *Заусаев*, выделенный в Томской области из мозга больного, умершего в 1986 г. от хронического энцефалита спустя многие годы (!) после укуса клеща. Результаты генетического анализа позволили отнести этот штамм к сибирскому типу вируса клещевого энцефалита. Проведенный в 2006–2008 гг. генетический мониторинг подтвердил существование схожих вариантов вируса в Томске и его пригородах. Сегодня Заусаев-подобные варианты вируса продолжают циркулировать на юге Западной Сибири, где их удельный вес достигает 11 %.

«Кровные» связи

Вирусы, вызывающие у человека тяжелые геморрагические лихорадки, всегда служили объектом пристального внимания исследователей. Такие заболевания человека, зачастую летальные, провоцирует в разных районах мира целый ряд флавивирусов из рода *Orthoflavivirus*, родственных вирусу клещевого энцефалита.

Речь идет о возбудителях таких клещевых инфекций, как *кьясанурская лесная болезнь* в юго-западной части Индии; *геморрагическая лихорадка Альяхурма*, которая

встречается преимущественно в Саудовской Аравии; распространенная в тропических широтах *лихорадка денге*; *омская геморрагическая лихорадка*, очаги которой обнаружены в Западной Сибири и пограничной Оренбургской области.

Омская геморрагическая лихорадка была описана в 1943 г., а через три года удалось выделить ее возбудителя. В наши дни единичные случаи этой болезни регистрируются преимущественно в Омской и Новосибирской областях, при этом они, как правило, являются результатом контакта человека с ондатрой, завезенной в Сибирь из Канады в 1928 г.

Ген этого вируса, кодирующий белок оболочки Е, участвующий в связывании вирусной частицы с клеточной мембраной, на 80–82 % совпадает с аналогичными генами трех основных геновариантов вируса клещевого энцефалита. По имеющимся оценкам, эти вирусы эволюционно «разошлись» примерно 5 тыс. лет назад.

Согласно наиболее весомой гипотезе, западносибирский очаг вируса омской геморрагической лихорадки представляет собой «след» древних вариантов ортофлавивирусов, вторгнувшихся на эти территории после завершения последнего ледникового периода. По всей вероятности, именно тот вирус и является предком



всех современных вариантов вируса клещевого энцефалита, и это хорошо согласуется с предположением, что именно южные районы Западной Сибири стали местом их зарождения.

Правда, имеется и альтернативная гипотеза, согласно которой возбудитель омской геморрагической лихорадки был завезен в СССР вместе с той же ондатрой. Однако до сих пор этот вирус не был обнаружен нигде в мире, включая Канаду, помимо южных районов Сибири и севера Казахстана. И это дает основание считать, что занос предшественников вируса клещевого энцефалита на юг Западной Сибири произошел в недавнем прошлом и был связан с потеплением климата и последующей миграцией в этот регион птиц и животных вместе с их паразитами. Именно так сформировались в Сибири первичные природные очаги флавивирусов, откуда они распространились по всей Северной Евразии.

Флавиподобные «новички»

В новом столетии семейство флавивирусов пополнилось новыми необычными членами. Особый интерес у вирусологов вызвали РНК-содержащие вирусы с так называемым *сегментированным геномом*, недавно открытые китайскими учеными (Qin *et al.*, 2014).

Первый из них, названный *Jingtmen tick virus* (JMTV), имеет геном, разделенный на четыре фрагмента. Для его структурных белков не нашлось известных аналогов

среди всех описанных ранее вирусных белков, однако важнейшие ферменты – РНК-зависимая РНК-полимераза (отвечает за синтез РНК по матрице РНК) и сериновая протеаза, расщепляющая белки, – оказались схожи с соответствующими ферментами известных флавивирусов. Это позволило отнести находку к неклассифицированным сегментированным флавиподобным вирусам. Позднее подобные вирусы, вызывающие у человека лихорадочное заболевание, стали появляться в разных регионах мира (Wang *et al.*, 2019a; 2019b).

Один такой вирус – *Kindia tick virus* (KITV) – был найден сотрудниками «Вектора» в 2017 г. в Западной Африке, конкретнее – в Гвинее около г. Киндия (Ternovoi *et al.*, 2020). Его генетический материал был обнаружен в иксодовых клещах и крови крупного рогатого скота.

Анализ полных последовательностей более 15 геномов этого вируса показал его схожесть с вирусами JMTV, а также с вирусом *Mogiana*, недавно обнаруженным на другом континенте – в Бразилии. На основе этих данных была выдвинута гипотеза, что возникновение *Mogiana* в странах Южной Америки произошло в результате завоза крупного рогатого скота через Атлантический океан (Villa *et al.*, 2017).

Сейчас невозможно определить, что представляет из себя группа всех этих вирусов с необычным геномом: новый род или даже новое семейство? Ответить на этот вопрос – дело будущего, пока же идет накопление и осмысление данных.

В частности, есть предположение, что местом выживания таких вирусов в ледниковый период была именно Африка, и она же стала центром их последующего глобального распространения. В этом нет ничего необычного – Африка является признанной родиной многих современных вирусов. Так что есть вероятность, что именно новосибирские вирусологи открыли современного потомка самых древних флавиподобных вирусов на планете.

Кстати сказать, позднее генетический материал вирусов комплекса JMTV был обнаружен сотрудниками «Вектора» на юге европейской части РФ в сыворотках крови больных крымской геморрагической лихорадкой. Вирус оказался генетически схож (уровень гомологии 94,4 %) с тем самым вирусом, найденным ранее в Гвинее (Терновой, Гладышева, Семенцова и др., 2020).

Еще одна необычная находка, сделанная новосибирскими вирусологами, – *Haseki tick virus* (HSTV), генетический материал которого был обнаружен в Приморском крае у 17 больных клещевыми инфекциями. Его геном оказался в полтора раза больше, чем у вируса клещевого энцефалита, причем уровень сходства с другими флавивирусами позволяет отнести его к этой группе. Выяснилось, что HSTV передавался человеку после контакта (укуса) с иксодовыми клещами, в которых он и был позднее найден. Уже первые исследования показали наличие генетических маркеров этого вируса в различных районах нашей страны (Kartashov, Gladysheva, Shvalov *et al.*, 2023).

Флавивирусы, из которых более половины способны вызвать у человека серьезные, вплоть до летальных, заболевания, являются для нас важнейшими патогенами. Исследования этой большой группы вирусов, которые ведутся в ГНЦ ВБ «Вектор» уже более 40 лет, позволили существенно расширить наши представления о генетике, иммунологии и молекулярной эпидемиологии возбудителей целого ряда опасных инфекций. Были созданы и сохраняются коллекции генетического материала актуальных для нашей страны штаммов флавивирусов, сформированы базы вирусных геномных последовательностей, описаны ранее неизвестные, необычные виды, обнаружены новые заболевания, вызываемые этими агентами.

При этом постоянное открытие новых флавивирусов и появление новых генных вариантов уже известных показывают, что наши знания о генетической изменчивости и разнообразии этой группы еще далеки от полноты. И получение новых фундаментальных знаний о различных представителях этого семейства имеет принципиальное значение для дальнейшего развития и совершенствования методов профилактики, лечения и диагностики вызываемых ими инфекций.



Самка таежного клеща *Ixodes persulcatus* – самого распространенного клеща на территории РФ, переносчика возбудителей наиболее тяжелых форм клещевого энцефалита. Фото С. Ткачева

Литература

- Локтев В. Б. Вирус Западного Нила: кругосветка // НАУКА из первых рук. 2009. Т. 3 (27). С. 46–53.
- Локтев В. Б. Вирус Зика: на гребне чрезвычайного положения // НАУКА из первых рук. 2017. Т. 1 (73). С. 6–11.
- Локтев В. Б. Таксономия флавивирусов и их генетическое разнообразие // Клещевой энцефалит XXI век / отв. ред. В. И. Злобин. М.: Наука, 2021. С. 39–61.
- Ткачев С. Е., Власов В. В. Клещевой энцефалит: характер нордический, к людям беспощаден // НАУКА из первых рук. 2020. № 4 (89). С. 36–49.
- Kartashov M. Y., Gladysheva A. V., Shvalov A. N. *et al.* Novel Flavi-like Viruses in Ixodid Ticks and Patients in Russia // Ticks and Tick-borne Diseases. 2023. V. 14 (2). P. 102101.
- Leonova G. N., Kondratov I. G., Ternovoi V. A. *et al.* The characterization of Powassan viruses from far eastern Russia // Arch. Virol. 2009. V. 154. P. 811–820.
- Mikryukova T. P., Moskvitina N. S., Kononova Yu. V. *et al.* Surveillance of tick-borne encephalitis virus in wild birds and ixodes ticks in Tomsk city and its suburbs (Western Siberia) // Ticks and Tick-Borne Dis. 2014. V. 5. P. 145–151.
- Ternovoi V. A., Kurzhukov G. P., Sokolov Yu. V. *et al.* Tick-Borne Encephalitis with Hemorrhagic Syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999 // Emerg. Inf. Dis. 2003. V. 9. P. 743–746.
- Ternovoi V. A., Protopopova E. V., Chausov E. V. *et al.* Novel variant of Tick Borne Encephalitis virus, Russia // Emer. Infec. Dis. 2007. V. 13 (10). P. 1574–1578.
- Ternovoi V. A., Protopopova E. V., Shvalov A. N. *et al.* Complete Coding Genome Sequence for Novel Multicomponent Kindia Tick Virus // BioRxiv preprint. 2020.

Работа поддержана Российской федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ГЗ-7/21)