

Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа

Е. П. Харченко*

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН

Резюме

Актуальность. Вакцинация по-прежнему является наиболее эффективным способом снижения заболеваемости и смертности от гриппа и вызываемых им осложнений. ВОЗ рекомендует штаммовый состав вакцин к каждому эпидсезону гриппа. К сожалению, соответствие вакцинных и циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа в силу их изменчивости не всегда является оптимальным. **Цель.** Разработать новый метод прогнозирования оптимальной структуры гемагглютинаина (HA) для вакцинных штаммов H1N1 и H3N2 для предстоящих эпидсезонов гриппа, сравнить их с рекомендованными ВОЗ и с циркулирующими. **Материалы и методы.** Для анализа были использованы доступные в Интернете базы данных первичных структур гемагглютинаина HA штаммов H1N1 и H3N2, выделенных в эпидсезон гриппа 2012/2013–2017/2018 гг. Для построения прогнозируемой аминокислотной последовательности HA использована адаптированная скрытая марковская модель. **Результаты.** Использованный биоинформативный подход показал возможность построения оптимальной первичной структуры HA вакцинных штаммов. Она максимально близка к HA циркулирующих в эпидсезон штаммов вирусов, распространена среди них и превосходит по критерию структурной близости HA штаммов, рекомендованных ВОЗ. **Заключение.** Данные по первичной структуре HA вируса гриппа можно рассматривать как надежную основу для прогнозирования вакцинных штаммов, снижающую риски для неоптимального или даже ошибочного выбора. Биоинформационный подход позволяет проводить непрерывный мониторинг изменения HA по прошествии эпидсезона и прогностически оценивать соответствие производимых к будущему эпидсезону вакцин.

Ключевые слова: прогнозирование, скрытая марковская модель, компьютерный анализ, вирусы гриппа, вакцинные штаммы, гемагглютинин, антигенные сайты

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Харченко Е. П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019; 18 (1): 4-17. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17>.

Optimization of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains

E. P. Kharchenko**

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract

Relevance. Vaccination is still the most effective way to reduce the incidence and mortality from influenza and the complications it causes. WHO recommends the composition of the vaccine strain for each influenza season. Unfortunately, the relevance of vaccines and strains of influenza virus circulating during the epidemic season cannot always coincide. The cause is flu variability. Aim is to develop a new computational method for predicting an optimal hemagglutinin (HA) structure in H1N1 and H3N2 human influenza vaccine strains for coming epidemic seasons and to compare its results with WHO recommendations. **Materials and method.** For this study HA sequences were used from data bases available in INTERNET and the modified hidden Markov model was used to construct the HA primary structures. **Results.** It was indicated that the new bioinformatics approach allowed to construct an optimal structure of HA for vaccine strains. It was at most close to HA of circulating virus strains in coming epidemic seasons, spreaded over them and was superior to WHO recommendations. **Conclusion:** HA sequences should be considered as reliable background for predicting vaccine strains to decrease risks of not optimal and even mistakable choices. Bioinformatics approach allows to continually monitor HA changes after epidemics and to estimate adequacy of manufacturing vaccines to the future epidemic season.

Key words: influenza virus, hemagglutinin, vaccine, predicting, Markov chain, computer analysis, antigen sites

No conflict of interest to declare.

For citation: Kharchenko E. P. Optimization of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2019; 18 (1): 4-17. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17>.

* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН, вед. научн. сотр. Тел./факс: 8 (812) 552-70-31 (служебн.); 8 904 338-22-80 (моб.). E-mail: neuro.children@mail.ru ©Харченко Е. П.

** For correspondence: Eugene P. Kharchenko Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, leader researcher. Phone/Fax: +7 (812) 552-70-31 (office); +7 904 338-22-80 (mobile). E-mail: neuro.children@mail.ru ©Kharchenko E. P.

Вакцинация по-прежнему является наиболее эффективным путем снижения заболеваемости и смертности от гриппа и вызываемых им осложнений. Высокая генетическая изменчивость вируса гриппа обуславливает необходимость ежегодной смены состава вакцинных штаммов. Современная противогриппозная вакцина включает либо три (два подтипа А – H1N1 и H3N2 и один тип В) либо 4 (два подтипа А – H1N1 и H3N2- и обе линии вируса гриппа В) штамма вируса гриппа. Традиционно каждый год специальный комитет Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) по гриппу публикует рекомендации по составу вакцинных штаммов для обоих полушарий. Они основываются на данных эпидемиологического, антигенного и генетического анализов. Ведущим фактором в определении вакцинного штамма служат данные серологического анализа. Этому есть объяснение: эпиднадзор с использованием серологических методов прост, дешев и доступен для стран с различным уровнем экономического развития.

Однако эффективность спрогнозированных ВОЗ вакцинных штаммов не гарантирована. С 2003 по 2016 гг. 13 из 26 рекомендаций ВОЗ по вакцинным штаммам не были оптимальными, а для эпидсезона 2003/2014 гг. были ошибочными, когда по H3N2 были рекомендованы соответственно штаммы A/Wellington/1/2004 и A/Switzerland/9715293/2013 [1]. В аспекте ежегодной глобальной заболеваемости гриппом и смертности от него, оцениваемой более 500 тыс. человек, разработка методов прогнозирования вакцинных штаммов предстоящего эпидсезона остро актуальна.

Поскольку роль гемагглютинина (НА) является определяющей в распространении вируса гриппа и в формировании популяционного иммунитета к нему, цель настоящего сообщения – описание нового биоинформационного подхода к прогнозированию оптимальной структуры НА для вакцинного штамма H1N1, H3N2 и В (Yamagata) для предстоящих эпидсезонов гриппа с использованием адаптированной скрытой марковской модели (СММ) [2], а также сравнение результатов предлагаемого метода с рекомендациями ВОЗ.

Задача исследования состояла в нахождении такой первичной структуры НА (и соответственно штамма, которому она принадлежит), которая максимально была бы близка НА подавляющего большинства циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа, т. е. структуры, представляющей собой обобщенный образ НА циркулирующих в конкретном эпидсезоне штаммов вируса гриппа.

Материалы и методы

Компьютерный анализ первичной структуры НА включал штаммы H1N1 и H3N2, выделенные в эпидсезоны 2012/2013–2017/2018 гг., охватывающие период с 1 октября текущего года по 1 февраля последующего года. Их общая численность

составила 16 346 штаммов. Эпидсезоны резко отличаются по численности циркулирующих штаммов, представленных в банке данных. Для развернутого анализа прогнозирования предстоящего эпидсезона 2018/2019 гг. были исследованы также 668, 704 и 890 штаммов соответственно подтипов H1N1, H3N2 и В (линия Yamagata), выявленных с 1 февраля по 30 сентября 2018 г., а также 1483 штаммов H1N1 и 8899 штаммов H3N2 – с 1 февраля по 30 сентября 2017 г. Источником первичных структур НА служила общедоступная в Интернете база данных (<http://www.platform.gisaid.org>). Во всех выборках были отсеяны штаммы со вставками или делециями в первичной структуре НА, а также штаммы с резко отличающейся структурой НА. Поскольку в данных отмечается резкая асимметрия по географическому представительству штаммов, частая многочисленность их из одного и того же источника с варьированием способа культивирования, как и множество штаммов с идентичными НА (их численность может составлять до 20–25% всей выборки), в анализ включался лишь один их представитель. После фильтрации численность штаммов в каждой из анализируемых выборок снижалась примерно на 75–80%.

Для сравнения дополнительно были использованы также НА штаммов

A/HongKong/1/68(H3N2),
A/BrevigMission/1918(H1N1),
A/California/04/2009(H1N1),
A/California/66/2017(H1N1),
A/Japan/305/1957(H2N2),
A/HUMAN/VietNam/1203/2004(H5N1),
A/Fujian/02151/2017(H7N9),
A/chicken/China/AH-10-01/2010(H9N2),
A/chicken/Jiangsu/RD5/2013(H10N9)

и штаммы, рекомендованные ВОЗ (<http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/>) для вакцин на соответствующие эпидсезоны: подобные

A/Victoria/361/2011 (H3N2) – 2012/2013 гг.,
A/Victoria/361/2011(H3N2) – 2013/2014 гг.,
A/Texas/50/2012 (H3N2) – 2014/2015 гг.,
A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) – 2015/2016 гг.,
A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) – 2016/2017 и 2017/2018 гг.,
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) – 2018/2019 гг.,
B/Phuket/3073/2013, (B,Yamagata) – 2018/2019 гг.

Предметом компьютерного сравнительного анализа были аминокислотный состав НА, дипептидный состав НА, аминокислотные замены НА среди штаммов и отличия НА штаммов каждого исследованного года от НА пандемического штамма, инвариантные последовательности штаммов по каждому году, изменения нуклеотидного состава гена НА и его трансляционного кода.

Для построения оптимальной первичной структуры НА возможного вакцинного штамма

использована СММ, адаптированная нами применительно к специфике структуры НА и его эволюции. Элементами СММ являются число состояний модели, число различных встречающихся символов в каждом состоянии и их распределение, матрицы вероятностей перехода от одного состояния в другое и вероятность начального состояния [2].

Процедура построения оптимальной первичной структуры НА возможного вакцинного штамма заключалась в следующем. Первоначально для каждого года в последовательности из 566 позиций (длина НА) определяли расположение инвариантных (консервативных) аминокислот или их блоков для всей выборки штаммов, выделенных и секвенированных с 1 октября предыдущего года по 1 февраля последующего года. На рисунке 1 представлена схема СММ для восстановления первичной структуры НА возможного вакцинного штамма. За начальное состояние СММ принимали цепь из 566 позиций, в которой распределены инвариантные блоки аминокислот (обозначены символами аминокислот) и позиции переменных аминокислот (обозначены точками). Задача состоит в размещении конкретных аминокислот в переменных позициях между инвариантными блоками. Для этого определяли все замены и их частоты по каждой переменной позиции для НА всех включенных в анализ штаммов анализируемого эпидсезона. В качестве иллюстрации на рисунке 1 для двух переменных позиций приведен ряд всех встречающихся в них аминокислотных замен и соответственно их частоты. Как видно на рисунке 1, позиции частоты встречаемости замещающих аминокислот резко отличались, что упрощает процедуру достраивания аминокислотных последовательностей между консервативными позициями, поскольку отпадает необходимость расчета вероятности нахождения конкретной аминокислоты в исследуемой позиции и вероятность соседства ее с другой. Аминокислота с наибольшей частотой встречаемости в ряду замен для конкретной позиции в первичной структуре НА названа нами как доминирующая, и поскольку сам

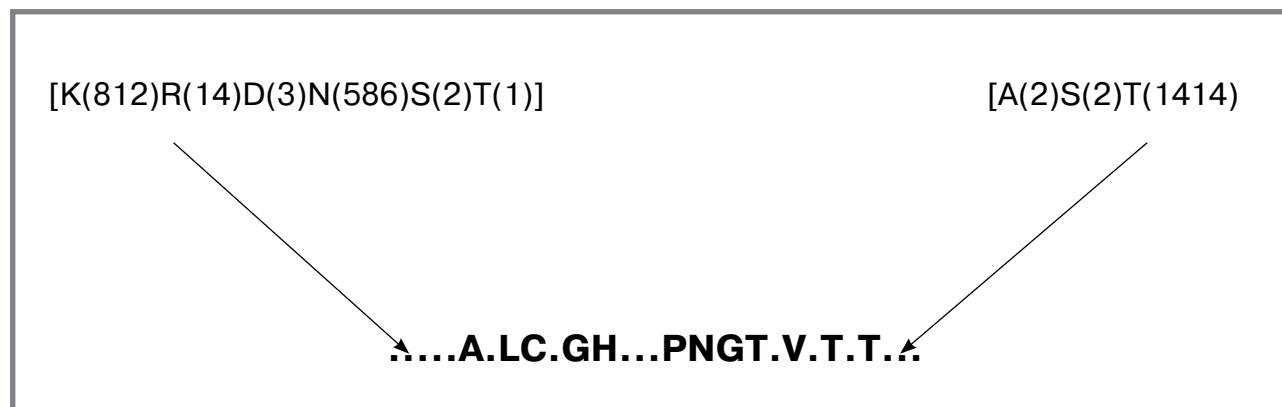
процесс восстановления первичной структуры НА возможного вакцинного штамма построен на заполнении «инвариантной» цепи доминирующими аминокислотами, то построенная (спрогнозированная) цепь НА названа также доминирующей (далее ради краткости она будет именоваться как «доминирующая последовательность» (ДП)). В некоторых позициях ряд замещающих аминокислот (пример, левая позиция на рис. 1) содержит две разные аминокислоты с очень близкими высокими частотами встречаемости, что служит свидетельством доминирования в эпидсезоне по крайней мере двух штаммов и предвестником того, что в любом варианте прогнозирования вакцинного штамма при иммунизации риск инфицирования в предстоящем эпидсезоне существенно не снизится, если обе эти доминантные аминокислоты входят в эпитопы НА, поскольку одним вакцинным штаммом невозможно охватить многообразие изменений НА.

Наличие двух доминирующих аминокислот в ряду замен в той или позиции требует уточнения допустимых соседствующих аминокислот, и для этого можно воспользоваться расчетами вероятности встречающихся в НА дуплетов (либо триплетов) аминокислот. Построенная доминирующая последовательность для грядущего эпидемического эпидсезона сравнивалась с НА штамма, рекомендованного ВОЗ для включения в состав вакцины. Возможно применение нескольких количественных критериев оценивания их близости к той выборке штаммов, на анализе которой был сделан их выбор. Поскольку успешность выбора вакцинного штамма будет определяться близостью его НА к НА циркулирующих в эпидсезоне штаммов, то иллюстрацией ее может служить такой простой интегральный показатель как частотное распределение штаммов по общему числу аминокислотных различий в первичной структуре НА между циркулирующими штаммами и вакцинными или доминирующей последовательностью соответственно по интервалам различий. Для этого были использованы интервалы различий НА на 0–5 (А), 6–10 (Б) и > 10 (В)

Рисунок 1.

Схема построения доминирующей последовательности

Figure 1. The scheme of building a dominant sequence



аминокислотных остатков. Достоверность различий распределений штаммов по этим интервалам для НА вакцинного штамма и доминирующей последовательности НА оценивали по статическому критерию для сравниваемых выборочных долей вариант [3]. Дополнительным показателем различий прогнозирования были средние (интервальные) значения различий первичной структуры НА всех штаммов эпидсезона соответственно от НА штаммов, рекомендованных ВОЗ, и доминирующей последовательностью. Статистическую значимость их различий оценивали по критерию Стьюдента [3].

Аналогично анализу различий между НА штаммов эпидсезона и доминирующей последовательностью и штаммов, рекомендованных ВОЗ, проводили анализ различий по антигенным сайтам НА, позиции которых рассматривались согласно их описаниям для H1 [4] и H3 [5].

После завершения построения доминирующей последовательности среди штаммов соответствующего эпидсезона (возможно и в общем банке данных по вирусу гриппа) отыскиваются штаммы с идентичными ей НА. С учетом других характеристик (например, по критерию успешности выращивания) среди последних выбирается штамм для рекомендации в качестве кандидата в вакцинный штамм.

Альтернативой описанному подходу выбора возможного вакцинного штамма может быть выявление в «отфильтрованной» выборке штамма с наименьшим различием первичной структуры его НА от НА всех других штаммов. При всей его соблазнительной простоте метод не позволяет увидеть полную картину изменений НА (т. е. по всем

штаммам эпидсезона), распознать существование в циркуляции нескольких доминантных линий (кладов) вируса гриппа, оценить тенденции изменения в НА от одного эпидсезона к другому, и поэтому далее не обсуждается.

В статье используется международный код аминокислот: А – аланин, С – цистеин, D – аспарагиновая кислота, Е – глутаминовая кислота, F – фенилаланин, G – глицин, H – гистидин, I – изолейцин, K – лизин, L – лейцин, M – метионин, N – аспарагин, P – пролин, Q – глутамин, R – аргинин, S – серин, T – треонин, V – валин, W – триптофан, Y – тирозин. Для обозначения нуклеиновых оснований используется следующая аббревиатура: А – аденин, Г – гуанин, Ц – цитозин, Т – тимин.

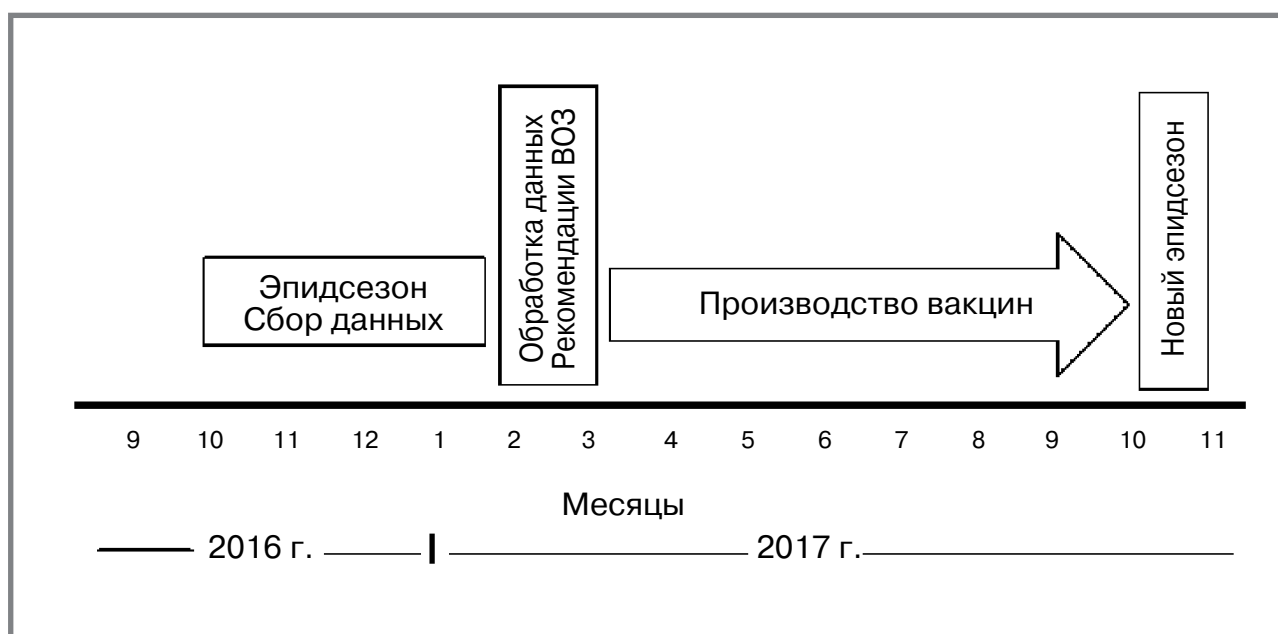
Результаты и обсуждение

В данной статье в качестве примера рассматриваются результаты анализа штаммов вируса гриппа только по северному полушарию. Для лучшего понимания сути нового подхода прогнозирования и полученных на его основе результатов необходимо дать краткое описание схемы (рис. 2) последовательности регулярной подготовки к предстоящему эпидсезону гриппа, определяемой ВОЗ, и пояснить, какие неопределенности связаны с выбором вакцинного штамма, взяв в качестве примера последовательности эпидсезон 2016/2017 гг. и 2017/2018 гг. Выбор ВОЗ (<http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/>) рекомендуемых вакцинных штаммов для эпидсезона 2017/2018 гг. (условно назовем его как «текущий») в северном полушарии утверждался на основе анализа штаммов 2016/2017 гг. (его временные границы

Рисунок 2.

Схема временной последовательности подготовки к эпидемическому сезону гриппа

Figure 2. Scheme of timeline preparation for the epidemic season of influenza



для выделения штаммов и секвенирования их НА по регламенту определены с 1 октября 2016 г. по 1 февраля 2017 г.) в феврале 2017 г., а затем, до 30 сентября 2017 г., шел процесс производства вакцин и их испытания. Циркулировавшие же в промежутке с февраля по октябрь 2017 г. штаммы вируса не учтены в рекомендациях ВОЗ, и в них за этот период возможны изменения, которые могут полностью опрокинуть прогнозы, сформулированные комитетом ВОЗ ранее (в феврале 2017 г.), и усилия стран по изготовлению вакцин против очередной эпидемии гриппа.

Штаммы, выделенные в текущем эпидсезоне (с 1 октября 2017 г. по 1 февраля 2018 г.), используются нами не только для прогнозирования доминирующей последовательности НА на будущий эпидсезон 2018/2019 гг., но и для оценивания ранее спрогнозированной для него доминирующей последовательности НА по данным эпидсезона 2016/2017 гг. Такая же двойная параллельная оценка прогнозирования осуществлялась для каждого эпидсезона и по вакцинным штаммам, рекомендованным ВОЗ (табл. 1). Такое двойное параллельное сравнение позволяет выявить эффективность прогнозирования разных подходов.

Этапы построения доминирующей последовательности НА описаны в разделе «Материалы и методы», и на рисунке 3 представлен ее фрагмент для выборки штаммов H3N2 эпидсезона 2016/2017 гг., являющейся наиболее многочисленной, по сравнению с выборками других эпидсезонов. На рисунке 3 спрессована информация об изменчивости первичной структуры НА всех штаммов эпидсезона. Сравнение таких таблиц по каждому эпидсезону служит ценным источником информации о тенденции изменения первичной структуры НА. Первый вертикальный ряд аминокислот в фрагменте является последовательностью НА вакцинного штамма, рекомендованного ВОЗ, (представлен для сравнения), а второй вертикальный ряд аминокислот – сама построенная доминирующей последовательность НА, параллельно ей правее – «скелет» молекулы с расположением инвариантных (представлены обозначениями аминокислот) и переменных (представлены точками) сайтов. За последними следует горизонтальный ряд всех замещающих аминокислот, обнаруженных в этих позициях НА у разных штаммов, с указанием (в скобках) для каждой аминокислоты частоты ее встречаемости.

Строилась доминирующая последовательность вставлением в цепь с инвариантными блоками доминантной аминокислоты из приводимого горизонтального ряда замещающих аминокислот. По существу доминирующая последовательность представляет ту первичную структуру НА, которая минимально отличается от подавляющего большинства НА штаммов текущего эпидсезона. Она не является абстрактной либо идеализированной, поскольку строилась на реальной выборке

штаммов и поэтому оказывается идентичной НА многих штаммов, число которых в выборке может составлять от нескольких единиц до сотен в зависимости от размера выборки, представляющей соответствующий эпидсезон. Дополнительные свойства этих штаммов (например, характеристика роста при культивировании, температурная чувствительность и др.) будут далее определяющими в окончательном выборе среди них возможного вакцинного штамма. Совершенно не исключено, что рассчитанная доминирующей последовательность может быть идентичной НА штаммов прошлых эпидсезонов различной давности.

Большая выборка штаммов H3N2 эпидсезона 2016/2017 гг. более реально отразила изменчивость молекулы НА: более короткими оказались инвариантные блоки и возросло число позиций с большим числом замен разными аминокислотами. Особенность распределения встречаемости замен – резкие различия их частот. Условно их можно разделить на доминантные и минорные. В ряду замещающих аминокислот доминантные (их частота встречаемости > 1000, если исходная выборка включает > 1000 штаммов), как правило, единственные. Лишь в позициях 187 и 422 в ряду замен выявлены две доминантные аминокислоты. К минорным заменам условно отнесены те, частота встречаемости которых варьирует от 1 до нескольких сотен. Максимально в одной и той же позиции выявлено до 8 замен (позиция 69 в выборке эпидсезона 2016/2017 гг.), чаще выявляются позиции с 6 заменами, а преобладают – с заменами от 2 до 4 аминокислот. Большая консервативность НА2, по сравнению с НА1, проявляется в наименьшей встречаемости позиций с 7 или 6 заменами

Уточнения по выбору аминокислоты в варьирующей позиции можно дополнить, используя ограничения по встречаемости дуплетов аминокислот в НА. Эти уточнения особенно полезны в случае встречаемости двух доминантных замен либо когда помимо доминантной замены имеются минорные замены с частотой в несколько сотен, служащие свидетельством того, что в текущем эпидемическом эпидсезоне циркулируют несколько преобладающих штаммов. Поскольку НА1 и НА2 субъединицы НА разные не только по функции, но и по длине и первичной и вторичной структуре, то более точным представляется использовать данные по запретам дуплетов для каждой из субъединиц. Для НА1 число запрещенных дуплетов составляет 48, а для НА2 – 111 дуплетов. В НА2 сильные ограничения накладываются на позиции гистидина, метионина, фенилаланина и тирозина.

Дополнительной информацией для построения доминирующей последовательности НА могут служить данные по анализу особенностей эволюции НА H1 и H3. Непрерывное в течение полувека наблюдение за H3N2 обусловило накопление более полной, чем по H1N1, информации об изменении

Таблица 1.

Распределение частот штаммов по интервалам различий первичной структуры их HA от доминантной последовательности HA и HA вакцинного штамма

Table 1. The frequency distribution of strains by the intervals of differences in the primary structure of their HA from the dominant sequence of the HA and HA of the vaccine strain

Эпидсезон (годы) Epidemic season (years)	Доминантная последовательность НА Dominant sequence of the HA								Штамм, рекомендованный ВОЗ* The strain recommended by WHO*								Σ
	до эпидсезона before the epidemic season				после эпидсезона after epidemic season				до эпидсезона before the epidemic season				после эпидсезона after epidemic season				
	А	Б	В	х _{ср}	А	Б	В	х _{ср}	А	Б	В	х _{ср}	А	Б	В	х _{ср}	
Штаммы H1N1 Strain H1N1																	
2013/ 2014	272	85	1	(4–5)	341	14	3	(2–3)	2	6	350	(12–13)	2	6	350	(12–13)	358
2014/ 2015	122	6	3	(2–3)	126	6	3	(2–3)	2	2	127	(12–13)	2	2	127	(12–13)	131
2015/ 2016	298	283	10	(5–6)	469	115	17	(3–4)	3	1	587	(16)	3	1	587	(16)	591
2016/ 2017	174	6	0	(4–5)	174	6	0	(2–3)	0	0	180	(17)	174	6	0	(2–3)	180
2017/ 2018	134	106	1	(5–6)	226	12	3	(2–3)	134	106	1	(5–6)	134	106	1	(5–6)	241
Штаммы H3N2 Strain H3N2																	
2013/ 2014	178	102	1	(5)	228	50	3	(4–5)	0	90	191	(11–12)	0	228	53	(9–10)	281
20 14/ 2015	91	500	334	(9–10)	586	52	287	(6–7)	1	60	864	(13–14)	93	74	758	(12–13)	928
2015/ 2016	324	26	52	(4–5)	324	26	52	(4–5)	37	15	360	(13–14)	324	26	52	(4–5)	402
2016/ 2017	598	766	54	(6–7)	865	491	62	(5–6)	598	766	54	(6–7)	598	766	54	(6–7)	1418
2017/ 2018	38	211	9	(7–8)	132	32	88	(6–7)	119	111	28	(6–7)	12	216	30	(8–9)	258

Примечание: * перечислены в разделе «Материалы и методы»; A, B и B – соответственно интервалы различий на 0–5, 6–10 и > 10 аминокислот. x_{ср} – интервал значения средней. Σ – численность штаммов выборки/

Note: * listed in the “Materials and Methods” section; A, B and B – respectively, the intervals of differences by 0–5, 6–10 and > 10 amino acids. x_{mean} is the interval of the mean value. Σ is the number of sample strains/

его молекулярных характеристик. По сравнению с пандемическим штаммом H3N2 1968 г. через полвека в HA отмечается сниженное количество треонина и повышение содержания лизина при неперменном постоянстве цистеина (содержание его, по сравнению с HA других подтипов, наиболее высокое – 18 остатков) и триптофана. Заметным изменениям подверглось также содержание изолейцина (повышение) и валина (понижение). Между эпидсезонами выявлены существенные колебания по общему числу позиций в HA, подвергнутых заменам. Они зависели от размера выборки: чем больше выборка, тем больше число замещений. Для эпидсезона 2016/2017 гг. их

число составило 354 и соответственно на инвариантные области приходится 212 позиций в молекуле, т. е. заменам подвергалась по меньшей мере каждая вторая позиция. Нельзя не отметить особенности неравномерного распределения аминокислотных замен по длине молекулы HA. В давно известной консервативности ствовой части HA наиболее консервативной оказывается цепь HA2, а N- и C-концевые фрагменты цепи HA1, также формирующие ствовую часть HA, также подвержены частым мутациям. Следует подчеркнуть, что мутации в HA2 не являются редкостью, особенно в ее прилежащем к C-концу фрагменте. Максимально различия между отдельными

Рисунок 3. Фрагмент доминирующей последовательности гемагглютинина для штаммов H3N2 эпидсезона 2016/2017 гг.

Figure 3. Fragment of the dominant hemagglutinin sequence for strains H3N2 of the epidemic season 2016/2017

130 S S • L(3)S(1415)
 131 S S • Y(1)S(1417)
 132 G G G
 133 T T • K(1)S(1)T(1416)
 134 L L L
 135 E E • D(3)E(1415)
 136 F F F
 137 N K • K(901)D(1)E(3)I(2)Y(1)N(508)S(2)
 138 N N • K(1)D(133)N(1280)S(4)
 139 E E E
 140 S S • R(2)I(3)G(8)N(12)S(1393)
 141 F F • L(1)F(1417)
 142 N N • K(1)D(3)I(2)N(1409)S(1)T(2)
 143 W W W
 144 T T • I(2)A(42)N(3)T(1371)
 145 G G • R(3)G(1415)
 146 V V • I(1)V(1417)
 147 T T • K(201)A(1)S(1)T(1215)
 148 Q Q Q
 149 N N • D(2)N(1413)S(1)T(2)
 150 G G G
 151 T T • K(204)R(2)A(6)Q(1)T(1205)
 152 S S S
 153 S S • A(1)Y(1)F(3)S(1413)
 154 A A • A(1370)S(48)
 155 C C C
 156 I I • K(1)R(1)I(1284)V(2)M(127)T(3)
 157 R R • K(1)R(1417)
 158 R R • K(220)R(916)E(5)G(277)
 159 S S • P(2)Y(2)S(1414)
 160 S S • K(321)R(19)G(3)N(43)S(1031)T(1)
 161 S S • R(1)G(2)N(9)S(1406)
 162 S S • G(2)N(1)S(1415)
 163 F F F
 164 F F • L(1)F(1417)
 165 S S • R(1)G(1)N(1)S(1415)
 166 R R • K(4)R(1414)
 167 L L • L(1417)S(1)
 168 N N • K(3)N(1415)
 169 W W W
 170 L L L

штаммами затрагивали 25–30 позиций, а по всей выборке исследованных нами штаммов, выделенных в эпидсезон 2016\2017 гг., различия с пандемическим штаммом A/Hong Kong/1/68(H3N2) затрагивают 379 позиций HA. Выявленные сдвиги аминокислотного состава HA отражены в изменении нуклеотидного состава их генов: А – 539 G:407 T:404 C:351 у A/Aichi/2/1968 (H3N2) и A:582 G:376 T:416 C:327 у A/California/25/2017 (H3N2). Сдвиг наиболее заметен в повышении содержания

аденина и снижении – гуанина, в меньшей мере он проявляется в отношении пиримидинов, что соответственно отразилось в использовании триплетов в трансляционном коде HA. С большим постоянством отмечалось отсутствие в трансляционном коде гена HA триплета ЦГУ, а у некоторых штаммов и триплета ЦГЦ, кодирующих аргинин.

Если рассматривать изменения в HA H1 с 2009 г. преобладанием в 2017 г., то они характеризовались преобладанием в структуре HA

лизина, аспарагина, серина и треонина. Серин чаще других аминокислот подвергся заменам. Другой из выявленных особенностей H1 является его трансляционный код. Особенность заключается в исключении в нем квартета (CGA, CGG, CGC и CGT) триплетов, кодирующих аргинин, и остается неизменной в H1, выделенных с 1918 г. по настоящее время. У подавляющего большинства аминокислот отмечается предпочтительное использование триплетов с максимальным содержанием аденина и/или тимина с явной тенденцией наименьшего вовлечения триплетов с содержанием гуанина и/или цитозина, что отражается в нуклеотидном составе мРНК H1, например A/California/66/2017(H1N1): A-602, G-375, T-404 и C-320.

Хотя множество позиций в HA H1 и H3 подвергаются заменам, имеются некоторые строгие ограничения в возникновении тех или иных замен. Они связаны с особенностями первичной структуры HA как белка и с ограничениями на уровне гена и генетического кода, что особенно явно в случае HA H1. При инвариантности по числу и позициям в первичной структуре HA H3 триптофана, а также пролина вероятность их изменения либо возникновения в других позициях молекулы очень мала. Анализ замен во всех позициях белка HA свидетельствует о том, что они не беспорядочны в нескольких аспектах. Во-первых, замены аминокислот на порядок чаще осуществляются за счет транзитий нуклеиновых оснований в геноме, чем трансверсий. Во-вторых, эти замены, как правило, изофункциональны. В-третьих, сами мутации в подавляющем числе случаев одноступенчаты, т. е. замена реализуется за счет какой-то одной мутации преимущественно по первому или второму основанию в триплете. В позициях с заменами по 2–4 аминокислотам мутации превалирует либо по первому либо по второму основанию кодона. В позициях с 7–8 заменами они также одноступенчаты, но у разных штаммов они осуществляются по разным позициям основания в кодоне.

В таблице 1 приведена сводка данных анализа прогнозирования прошлых эпидсезонов по близости первичной структуры HA штаммов эпидсезонов

2013/2018 гг. к HA вакцинных штаммов, рекомендованных ВОЗ, и к доминирующей последовательности HA. Из таблицы 1 очевидно превосходство доминирующих последовательностей HA по близости к HA циркулирующих штаммов как по HA H1, так и по HA H3. В случае оценок по доминирующей последовательности HA прослеживается регулярность в их изменениях: высокая степень родства спрогнозированной (по данным текущего эпидсезона) доминирующей последовательности HA (для будущего эпидсезона) к HA штаммов текущего эпидсезона (данные представлены в столбце «после эпидсезона») и снижение родства спрогнозированной в прошлом доминирующей последовательности HA к HA штаммам текущего эпидсезона. Последняя особенность объясняется накоплением мутаций в генах циркулирующих штаммов за 8-месячный период изготовления и испытания вакцин и под-сказывает необходимость оценивания этих изменений, чтобы сделать предварительные выводы относительно «защитного потенциала» произведенных к наступающему эпидсезону вакцин. В таблице 2 иллюстрируется ее полезность.

Для HA H1 и H3 штаммов, рекомендованных ВОЗ, не прослеживается такая близость их первичных структур к HA штаммов соответствующих эпидсезонов. Для HA H1 лишь смена в эпидсезоне 2016/2017 гг. вакцинного штамма A/California/7/2009 (H1N1) на A/Michigan/45/2015 (H1N1) резко «исправила» показатели близости между HA вакцинных штаммов и HA циркулирующих. По подтипу H3N2 замена вакцинного штамма A/HongKong/4801/2014 (H3N2) была сделана ранее, в эпидсезон 2015/2016 гг., и она также резко улучшила показатель соответствия. Что касается рекомендаций ВОЗ на эпидсезон 2018/2019 гг., то ни для H1N1, ни для H3N2, при сравнении с доминирующей последовательностью HA, они не выглядят оптимальными. Рекомендованный ВОЗ новый штамм на эпидсезон 2018/2019 гг. A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) по критерию близости его HA к HA циркулировавшим штаммов эпидсезона 2017/2018 гг. заметно уступает его предшественнику A/Hong Kong/4801/2014

Таблица 2.

Изменения от одного сезона к другому различий первичной структуры HA штаммов H3N2 от доминирующей последовательности HA и HA вакцинного штамма A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)

Table 2. Changes from one season to another of the differences in the primary structure of HA strains H3N2 from the dominant sequence HA and the HA vaccine strain A / Hong Kong / 4801/2014 (H3N2)

Исследованный период Investigated period	Доминантная последовательность HA Dominant sequence HA			Вакцинный штамм Vaccine strain			Σ
	А	Б	В	А	Б	В	
01.10.2016–01.02.2017	865	191	62	538	766	54	1418
01.02.2017–01.10.2017	492	523	100	346	677	99	1115
01.10.2017–01.02.2018	38	211	9	119	111	28	258

Примечание: обозначения в таблице 2 те же, что в таблице 1.

Note: the designations in table 2 are the same as in table 1.

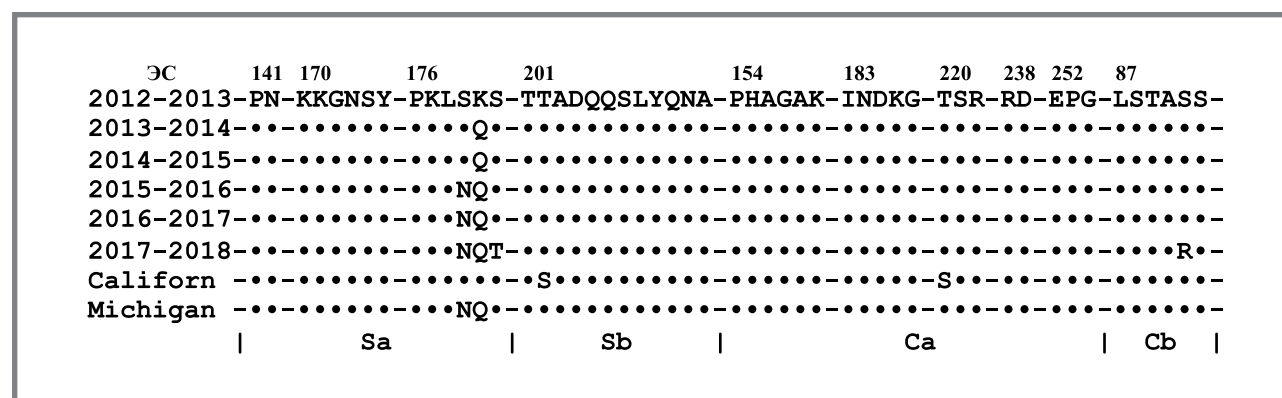
(H3N2) и особенно предсказанной доминирующей последовательности HA (см. табл. 1). Повторно рекомендованный ВОЗ на эпидсезон 2018/2019 гг. штамм A/Michigan/45/2015 (H1N1) не изменил показатели близости, но существенно уступает в этом доминирующей последовательности HA. Рекомендация ВОЗ по изменению вакцинного штамма для H3N2 мотивирована, как отмечено в очередном бюллетене ВОЗ от 22 февраля 2018 г., результатами серологических анализов.

Специальный комментарий необходим по поводу резкого изменения показателей родства штаммов H3N2 к спрогнозированной в эпидсезон 2016/2017 гг. доминирующей последовательности HA для эпидсезона 2017/2018 гг. (см. табл. 1). Оно может быть обусловлено двумя причинами. Первая связана с резкими различиями численности выборки штаммов, на которой формировалось прогнозирование (2016/2017 гг. – 1418 штаммов), от выборки, для которой предназначалось это прогнозирование (2017/2018 гг. – 258 штаммов). Очевидно, что выборки различаются более, чем в 5 раз, и само прогнозирование при таком различии выборок можно уподобить ситуации, когда платье, сшитое для великана, примеряется на карлике. Прогнозирование следует выполнять по выборке, близкой по численности той, для которой оно предназначено. Для выяснения второй причины выполнен дополнительный анализ. Выделенные в промежутке с февраля по октябрь 2017 г. штаммы, как отмечалось, не были учтены ни в нашем прогнозе, ни в рекомендациях ВОЗ, и в циркулирующих за этот период штаммах возможны изменения, которые могут полностью опрокинуть прогнозы, сформулированные ВОЗ в феврале 2017 г. Располагая данными по штаммам H3N2 эпидсезона 2016/2017 и 2017/2018 гг. и в промежутке между ними, можно

оценить распределение отличий первичной структуры HA циркулирующих штаммов в каждом из этих временных промежутков. В таблице 2 дано сравнение отличий первичной структуры HA штаммов каждого периода от HA штамма, рекомендованного ВОЗ (A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)), и доминирующей последовательности HA (по штаммам эпидсезона 2016/2017 гг.) для эпидсезона 2017/2018 гг. Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют об изменении распределения штаммов по интервалам А, Б и В и по штаммам, рекомендованным ВОЗ, и по доминирующей последовательности HA. В случае доминирующей последовательности уже на этапе производства вакцин и их испытаний (т. е. в промежутке между эпидсезонами) стало очевидным резкое возрастание изменений в первичной структуре HA циркулировавших штаммов, так как существенно изменилось распределение штаммов по интервалам А, Б и В, что служит предвестником малой эффективности изготовленных к эпидсезону 2017/2018 гг. вакцин в отношении вируса H3N2 и подтвердилось малой эффективностью вакцин в США именно к вирусу H3N2 в первых месяцах 2018 г. [6]. Вакцинный штамм, рекомендованный ВОЗ, уступал доминирующей последовательности в предшествующем прогнозировании, по отношению к нему не было изменений в распределении по интервалам А, Б и В для штаммов на этапе производства вакцины и лишь в ретроспективном прогнозировании (по прошествии эпидсезона) выявилась реверсия показателей частоты в интервалах А, Б и В. Таким образом, выполненный анализ изменения штаммов в рассмотренном выше примере показал, что доминирующая последовательность HA перспективна также для выявления динамики изменений антигенности циркулирующих штаммов до наступления эпидсезона и позволяет

Рисунок 4. Антигенные сайты H1 в доминантных последовательностях и штаммах вируса гриппа, рекомендованных ВОЗ для вакцинации

Figure 4. H1 antigenic sites in dominant sequences and influenza virus strains recommended by WHO for vaccination



Примечания: Цифры в верхней строке у каждого сайта указывают позицию первой аминокислоты в первичной структуре H1. В последней строке указаны области антигенных сайтов H1. ЭС – эпидсезон. Californ-A/California/7/2009 (H1N1); Michigan-A/Michigan/45/2015 (H1N1)

Notes: The numbers in the top line at each site indicate the position of the first amino acid in the primary structure of H1. The last line indicates the areas of the antigenic sites H1. ES – epidemic season. Californ-A/California/7/2009 (H1N1); Michigan-A/Michigan/45/2015 (H1N1)

прогнозировать эффективность производимой вакцины к предстоящему эпидсезону.

Прицельный анализ вариабельности антигенных сайтов циркулирующих штаммов, используя полный вариант рисунка 3, дополняет объяснение особенности эпидсезона 2017/2018 гг. (наиболее тяжелого после пандемии 2009/2010 гг. и превалированием в нем штаммов H3N2 [6]) и низкой эффективности штамма, рекомендованного ВОЗ. Следует особо подчеркнуть, что в каждом эпидсезоне антигенные сайты подвержены изменениям, и в каждом из них своя мозаика изменений. Более того штаммы одного и того же эпидсезона характеризуются различиями по позициям, затронутым изменениями, и их числу. Из сравнения данных по охваченным исследованием эпидсезонам следует, что в каждом из них в циркулирующих штаммах представлено множество вариантов изменений антигенных сайтов, и было бы иллюзией полагать, что один вакцинный штамм охватит все это многообразие. В частности, в эпидсезон 2017/018 гг. примерно поровну встречаются штаммы H3N2 с разными аминокислотами в позиции 137 (аспарагин > лизин) антигенной области А, а наиболее сильно подвержена изменениям антигенная область В, в которой часто встречаются три (аргинин, лизин и глицин) аминокислоты в позиции 158 и две (серин и лизин) в позиции 160.

Обоснованием для решения ВОЗ рекомендовать в качестве вакцинного штамма на эпидсезон 2018/2019 гг. вместо A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) штамм A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) послужило плохое распознавание антисывороткой к A/Hong Kong/4801/2014 циркулировавших штаммов H3N2, в то время как новые штаммы лучше ингибировались антисывороткой к A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016.

Сравнение антигенных областей штаммов H3N2 эпидсезона 2017/2018 гг. и A/Singapore/

INFIMH-16-0019/2016 выявило их сходство по наличию лизина в позиции 137 области А. У A/Hong Kong/4801/2014 в этой позиции находится аспарагин. Почти двукратное преобладание штаммов с лизином в позиции 137 НА было характерно лишь для эпидсезона 2016/2017 гг., и оно сохранялось до недавнего времени. Но анализ штаммов H3N2 эпидсезона 2017/2018 гг. свидетельствует уже о сдвиге в составе штаммов в сторону преобладания тех, у которых в позиции 137 находится аспарагин, и в этой связи рекомендация A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 в качестве вакцинного штамма предстает явно неоптимальной. К тому же, у него в позиции 158 антигенной области В находится глицин, в то время как у большинства циркулирующих штаммов лизин или аргинин, несущие положительный заряд.

Если для H3N2 на эпидсезон 2018/2019 гг. ВОЗ рекомендовала смену вакцинного штамма, то для H1N1 «полномочия» A/Michigan/45/2015 (H1N1) продлены, но опять-таки сравнение его антигенных сайтов с таковыми циркулирующих штаммов свидетельствует о их несоответствии. В НА циркулирующих штаммов H1N1 в позиции 181 сайта Sa и в позиции 91 сайта Cb, в отличие от НА A/Michigan/45/2015 (H1N1), другие аминокислоты – соответственно треонин и аргинин (рис. 4).

Другое дополнение к объяснению особенностей эпидсезона 2017/2018 гг. связано с сопоставлением доминирующей последовательности НА текущего эпидсезона с доминирующей последовательностью НА последующего эпидсезонов с 2012 г. по 2018 г. (табл. 3) с графическими распределениями частот подтипов циркулировавших штаммов за этот период, представленными на сайте ВОЗ <http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/>.

Таблица 3.

Сравнение доминантных последовательностей смежных эпидсезонов

Table 3. Comparison of dominant sequences of adjacent epidemic seasons

Сравниваемые ДП Compared dominant sequences	Мутации в ДП Mutations in dominant sequences	Σ
H1		
ДП 2012/2013–ДП 2013/2014	K180Q, I254V, A273T	3
ДП 2013/2014–ДП 2014/2015	идентичны identical	0
ДП 2014/2015–ДП 2015/2016	S101N, S179N, I233T	4
ДП 2015/2016–ДП 2016/2017	идентичны identical	0
ДП 2016/2017–ДП 2017/2018	S91R, S181T, I312V	3
H3		
ДП 2012/2013–ДП 2013/2014	T144A R158G	2
ДП 2013/2014–ДП 2014/2015	L19I A144T G158R N160S F175Y K176T N241D Q327H D505N	9
ДП 2014/2015–ДП 2015/2016	идентичны identical	0
ДП 2015/2016–ДП 2016/2017	N137K N187K I422V G500E	4
ДП 2016/2017–ДП 2017/2018	K137N T147K R158K K187N R277Q V422I E500G	7

Сопоставление позволило выявить взаимосвязанные повторяющиеся тенденции в смене частот подтипов H1N1 и H3N2 в эпидсезонах. Из данных таблицы 3 очевидна большая робастность структуры доминирующей последовательности для HA H1: для 3 пар эпидсезонов доминирующие последовательности HA отличались лишь по 3–4 позициям, а для двух пар эпидсезонов они были идентичными. Нельзя не отметить асимметричность этих замен – 10 мутаций затрагивают позиции лишь 3 (серина, изолейцина и аланина) из 20 возможных аминокислот. Для доминирующей последовательности HA H3 свойственна большая вариабельность – от 2 до 9 замен от одного эпидсезона к другому и лишь 1 случай идентичности. Примечательным является связь между идентичностью доминирующих последовательностей смежных эпидсезонов и возникавшими в них заменами с превалированием подтипа вируса гриппа. Так, для структуры доминирующей последовательности H3 2014/2015 гг. характерно 9 новых замен, в то время как структуры доминирующих последовательностей HA H1 эпидсезонов 2013/2014 и 2014/2015 гг. идентичны. Сильное обновление доминирующей последовательности H3 в эпидсезоне 2014/2015 при ее неизменности для HA H1 привело к экспансии в этом эпидсезоне подтипа H3N2. В эпидсезон 2015/2016 гг. отмечается реверсия превалирования подтипов, при этом доминирующая последовательность H3 эпидсезонов 2014/2015 гг. и 2015/2016 гг. идентичны, а в структуре доминирующей последовательности H1 эпидсезона 2015/2016 гг. произошли изменения. В последующем эпидсезоне 2016/2017 гг. отмечается вновь подавляющее преобладание подтипа H3N2 при идентичности доминирующих последовательностей H1 эпидсезонов 2015/2016 гг. и 2016/2017 гг. Наконец, в структурах доминирующих последовательностей H1, и H3 эпидсезона 2017/2018 гг. произошли изменения, но в отношении H3 они оказались большими, что, по-видимому, обусловило большую патогенность подтипа H3N2 и преобладание его по частоте распространения над подтипом H1N1 и объясняет особенности эпидсезона 2017/2018 гг.

Для уточнения прогноза превалирования подтипов вируса гриппа в эпидсезон 2018/2019 гг. оценивали распределение количества штаммов H1N1, H3N2 и B (Yamagata) по интервалам различий первичной структуры их HA от доминирующей последовательности HA и HA штаммов, рекомендованных ВОЗ, в эпидсезон 2017/2018 гг. и после него, а также изменения структур интервалов у доминирующих последовательностей. Из таблицы 4 очевидны (и без расчета статистических уровней достоверности) резкие отличия в распределении частот штаммов по интервалам А, Б и В между штаммами, рекомендованными ВОЗ, и доминирующей последовательностью соответствующего эпидсезона. В целом бесспорно, что наибольшим

изменениям по каждому из рассмотренных периодов подвержены HA H3, а наименьшим – HA B (Yamagata). О большей «отдаленности» структуры H1 и H3 штаммов, рекомендованных ВОЗ, от их структур в циркулирующих штаммах свидетельствует значительное преобладание среди них таких, которые охвачены интервалом Б, т.е. отличающиеся от H3 ВОЗ по 6–10 позициям аминокислот. Для доминирующей последовательности по каждому периоду выделения штаммов как для H1, так и H3 свойственно многократное преобладание циркулирующих штаммов в интервале А, но в распределении циркулирующих подтипов H1N1 по интервалам А и Б произошло существенное перераспределение при неизменности их для подтипа H3N2. Доминирующие последовательности H3 для периодов 01.10.2017–01.02.2018 гг. и 01.02.2018–01.10.2018 г. оказались идентичными, а в доминирующую последовательность H1 для периода 01.02.2018–01.10.2018 добавилась мутация S199P, которая может заметно повлиять на структуру H1, поскольку пролин противодействует образованию α -спиралей в белковой молекуле. Ориентируясь на неизменность показателей распределения циркулирующих штаммов H3N2 по интервалам А, Б и В и доминирующей последовательности H3 для периодов 01.10.2017–01.02.2018 гг. и 01.02.2018–01.10.2018 г. (см. табл. 4) и рассмотренную выше предысторию смен преобладания подтипов H1N1 и H3N2 в 5 предшествующих эпидсезонах (см. табл. 3) можно предсказать, что в эпидсезон 2018/2019 гг. подтип H3N2 уже не будет резко превалирующим, что уже подкрепляется данными ВОЗ по частоте выделяемых подтипов вируса гриппа в текущем эпидсезоне 2018/2019 гг.

О большей эффективности построения доминирующей последовательности для прогнозирования свидетельствует и то, как по-разному распределяются по интервалам А, Б и В циркулирующие штаммы относительно доминирующей последовательности и штамма, рекомендованного ВОЗ (A/Michigan/45/2015 (H1N1)), за период 01.02.2018–01.10.2018 гг. в составе популяции штаммов H1N1. Если в случае доминирующей последовательности пропорции распределения штаммов по интервалам А, Б и В сохранились, то по отношению к штамму, рекомендованному ВОЗ, среди циркулирующих штаммов произошел сдвиг, проявившийся в преобладании штаммов интервала Б, т.е. в структуре их H1 накопилось больше мутаций, что может существенно снизить эффективность иммунизации в эпидсезон 2018/2019 гг. Еще большие различия в прогностической релевантности между доминирующей последовательностью HA и HA штамма, рекомендованного ВОЗ (A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)), видны для периодов 01.10.2017–01.02.2018 г. и 01.02.2018–01.10.2018 г. в составе популяции штаммов H3N2: первичные

Таблица 4.

Распределение количества штаммов по интервалам различий первичной структуры их HA от доминантной последовательности HA и HA вакцинного штамма для эпидсезона 2017/2018 гг.

Table 4. The frequency distribution of strains by the intervals of differences in the primary structure of their HA from the dominant sequence of the HA and HA of the vaccine strain in 2017/2018 years.

Период выделения штаммов The period of isolation of strains	Штаммы, рекомендованные ВОЗ (ШРВОЗ), доминирующие последовательности (ДП) The strains recommended by WHO (SRWHO), the dominant sequence (DS)	A	Б	В	x_{cp} x_{mean}	Σ
H1						
01.10.2017–01.02.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)*	134	106	1	(5–6)	241
01.02.2018–01.10.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)*	189	473	6	(6–7)	668
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	226	12	3	(2–3)	241
01.02.2018–01.10.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	542	124	2	(3–4)	668
01.02.2018–01.10.2018	ДП/DS (01.02.2018–01.10.2018)	606	61	1	(3–4)	668
H3						
01.10.2017–01.02.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)**	12	216	30	(8–9)	258
01.02.2018–01.10.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)**	9	467	228	(10–11)	704
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	138	32	88	(6–7)	258
01.02.2018–01.10.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	457	26	221	(6)	704
01.02.2018–01.10.2018	ДП/DS (01.02.2018–01.10.2018)	457	26	221	(6)	704
B (Yamagata) HA						
01.10.2017–01.02.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)***	334	15	1	(3–4)	350
01.02.2018–01.10.2018	ШР ВОЗ/SR WHO (2018–2019)***	171	8	0	(3–4)	179
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	348	1	1	(1–2)	350
01.02.2018–01.10.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	179	0	0	(1–2)	179
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.02.2018–01.10.2018)	179	0	0	(1–2)	179

Примечание: x_{cp} – интервал значения средней. Σ – численность штаммов выборки; А, Б и В – соответственно интервалы различий на 0–5, 6–10 и >10 аминокислот. * – A/Michigan/45/2015 (H1N1), ** – A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2); *** – B/Phuket/3073/2013.

Note: x_{mean} is the interval of the mean value. Σ – the number of strains of the sample; A, B and B – respectively, the intervals of differences by 0–5, 6–10 and > 10 amino acids. * – A/Michigan/45/2015 (H1N1), ** – A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2): *** – B/Phuket/3073/2013.

структуры H3 подавляющего большинства циркулирующих штаммов отличались больше от штамма, рекомендованного ВОЗ, чем от доминирующих последовательностей соответствующих периодов. Резюмируя данные, представленные в таблице 4, можно сделать вывод, что HA штаммов, рекомендованных ВОЗ (A/Michigan/45/2015 (H1N1) и A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)) на эпидсезон 2018/2019 гг., проявляют меньшую близость к HA циркулирующих штаммов, чем доминирующие последовательности, и выбор их для вакцинных штаммов не представляется оптимальным.

Разработанный новый на основе СММ компьютерный подход к прогнозированию вакцинных штаммов вируса гриппа H1N1 и H3N2, используя данные о первичной структуре HA циркулирующих в текущем эпидсезоне штаммов, оказался полезным в нескольких аспектах. На его основе показана возможность построения оптимальной

первичной структуры HA вакцинного штамма, максимально близкой к HA циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа, распространенной среди них и превосходящей по критерию структурной близости HA штаммов, рекомендованных ВОЗ.

Преимущественная ориентация на серологические показатели при диагностике гриппа, идентификации его возбудителя или прогнозировании вакцинного штамма сопряжены с риском возникновения ошибок из-за свойственного иммунной системе полиспецифического узнавания. К сожалению, еще бытует миф о моноспецифичности моноклональных антител, хотя давно показана их полиспецифичность [7].

Данные по первичной структуре HA циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа можно рассматривать как надежную основу для прогнозирования вакцинного штамма и снижения риска выбора неоптимального или даже ошибочного

штамма. В дополнение к серологическим данным, сравнение структур антигенных областей НА циркулирующих штаммов и кандидатов в вакцинные штаммы может служить более строгим критерием для прогнозирования.

Новый метод позволяет проводить непрерывный мониторинг изменения НА по прошествии эпидсезона и прогностически оценивать соответствие производимых вакцин для будущего эпидсезона путем сравнения структур НА вакцинных штаммов, рекомендованных ВОЗ, и штаммов, выделенных после принятия рекомендаций ВОЗ до наступления нового эпидсезона гриппа, что продемонстрировано на примере эпидсезона 2017/2018 гг.

Близость доминирующих последовательностей НА 6 эпидсезонов (как H1, так и H3) служит свидетельством наличия структурных ограничений у вируса гриппа. Условно можно выделить, по крайней мере, три уровня ограничений:

Первый уровень – на уровне самого вируса гриппа ограничением прежде всего служит малый размер его генома, обрекающий вирус к повторяющимся циклам изменений, и примером этого служит близость H1 пандемических штаммов 1918 и 2009 гг.

Второй уровень – структурно-функциональный, связанный с сохранением функции вирусных белков и их взаимной совместимости.

Третий уровень – совместимость с функциональными системами поражаемого хозяина.

Сохранение идентичности доминирующей последовательности НА (см. табл. 3) от одного эпидсезона к другому подкрепляет возникающие в последние годы все большие и большие сомнения относительно пользы ежегодной противогриппозной вакцинации одного и того же субъекта, восходящие из концепта «первородного греха», связанного с реципрокными эффектами повторного инфицирования вирусом гриппа и иммунной памятью о предшествующих вакцинациях [8, 9].

В данном исследовании новый метод использован лишь для прогнозирования вакцинных штаммов H1N1 и H3N2 по структурным особенностям НА, поскольку функционально его роль является определяющей в адаптации к хозяину, трансмиссивности и в формировании популяционного иммунитета к вирусу гриппа. Нет ограничений для применения этого метода к птичьим вирусам гриппа А, по-прежнему, рассматриваемым как возможной причины возникновения новой пандемии, к вирусу Эбола и другим вирусам с быстро мутирующим геномом (ВИЧ, вирус гепатита С, вирус Денге, ротавирус).

Другим приложением метода могло бы быть использование его для мониторинга возникновения препандемических или пандемических штаммов. Для этой цели информация только по НА была бы недостаточна. Вирус пандемии гриппа 2009 г. имел первичную структуру НА, сильно

отличную от НА штаммов, циркулировавших в предшествующем эпидсезоне. При фильтрации базы данных вируса гриппа для выполненного нами исследования встречаемость аномальных НА (резко отличающихся от НА других штаммов) не была редкостью, и их отсеивание мотивировалось тем, что это были ошибки секвенирования. Однако при мониторингировании текущей эпидемической ситуации в глобальном масштабе такая процедура отсеивания штаммов представляется рискованной. Совершенно не исключено, что благодаря высокой изменчивости (дрейфа и шифта) вируса гриппа, помноженной на огромную скорость репродукции и повторяющуюся цикличность изменений, штаммы с пандемическим потенциалом (предпандемические штаммы) возникают постоянно, но их распространение блокируется различными факторами, и нередко наблюдаемая скоротечная летальность инфицированных – возможно, один из следов их краткого существования. Поэтому у штаммов с аномальным НА необходимо дополнительно просматривать особенности их внутренних белков с целью выявления в них особенностей, свойственных только пандемическим штаммам.

Заключение

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что не умаляя роли развертывания медицинской помощи при эпидемиях гриппа, предупреждение их, бесспорно, более предпочтительно и стоит человечеству меньших усилий. Защищенность населения планеты от гриппа ныне в большей степени зависит от организации глобального надзора за циркуляцией возбудителя, предполагающей активное вовлечение в него прогнозирования, результаты которого в ближайшем будущем будут определять усилия по предотвращению эпидемии и развертыванию вакцинации [1, 10].

Эффективность же самого прогнозирования будет зависеть от полноты и регулярности поступления информации не только по молекулярным характеристикам циркулирующих штаммов вируса гриппа, но и о иммунном реагировании населения как на гриппозную инфекцию, так и на вакцинацию.

Современные разработки вакцин против гриппа сфокусированы на поиске новых иммуногенов и новых платформ их доставки [11, 12]. При существующем множестве форм используемых иммуногенов и изменчивости вируса гриппа всегда маячит неопределенность в отношении доминантности и иерархии иммунных эпитопов. Описанный на примере НА метод отыскания структуры белка вируса гриппа, которая максимально близка к белкам циркулирующих в эпидсезоне штаммов и распространена среди них, может быть полезным в осуществлении поиска оптимальных структур различных иммуногенов и снижения неопределенности в поисках.

Литература

1. Klingen T.R. Reimering S., Guzman C.A., et al. In silico vaccine strain prediction for human influenza viruses // *Trends in Microbiology*. 2018. Vol. 26, N 2. P.119–131.
2. Rabiner L.R. A tutorial on Hidden Markov Models and selected applications in speech recognition // *Proceedings of the IEEE*. 1989. N 77. P. 257–286.
3. Урбах В.Ю. Биометрические методы. Москва; 1964. 415 с. 4. Sriwilaijaroen N., Suzuki Y. Molecular basis of the structure and function of H1 hemagglutinin of influenza virus // *Proc Jpn Acad Ser B*. 2012. N 88. P. 226–249.
5. Lees W.D., Moss D.S., Shepherd A.J. Analysis of antigenically important residues in human influenza a virus in terms of B-cell epitopes // *Journal of virology*. 2011. Vol. 85, N 17. P. 8548–8555.
6. Budd A.P., Wentworth D.E., Blanton L., et al. Update: Influenza activity - United States, October 1, 2017 – February 3, 2018 // *MMWR Morb Mortal Wkly*. 2018. Vol. 67, N 6. P. 169–179.
7. Laver W.G., Air G.M., Webster R.G., et al. Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities // *Cell*. 1990. N 61. P. 553–556.
8. Henry C., Palm A.-K.E., Krammer F., et al. From original antigenic sin to the universal influenza virus vaccine // *Trends in Immunology*. 2018. Vol. 39, N 1. P. 70–79.
9. Souquette A., Thomas P.G. Past life and future effects — how heterologous infections alter immunity to influenza viruses // *Front Immunol*. 2018. N 9. Article 1071.
10. Morris D.H., Gostic K.M., Pompei S., et al. Predictive modeling of influenza shows the promise of applied evolutionary biology // *Trends in Microbiology*. 2018. Vol. 26, N 2. P. 102–8.
11. Rajao D.S., Perez D.R. Universal Vaccines and Vaccine Platforms to Protect against Influenza Viruses in Humans and Agriculture // *Front Microbiol*. 2018. N 9. Article 123.
12. Kumar A., Meldgaard T.S., Bertholet S. Novel Platforms for the Development of a Universal Influenza Vaccine // *Front Immunol*. 2018. N 9. Article 600.

References

1. Klingen TR, Reimering S, Guzman CA, et al. In silico vaccine strain prediction for human influenza viruses. *Trends in Microbiology*. 2018;26(2):119–131. doi: 10.1016/j.tim.2017.09.001
2. Rabiner LR. A tutorial on hidden Markov models and selected applications in speech recognition. *Proceedings of the IEEE*. 1989;77:257–86.
3. Urbakh VJ. Biometric methods. Moscow; 1964. (In Russ.)
4. Sriwilaijaroen N, Suzuki Y. Molecular basis of the structure and function of H1 hemagglutinin of influenza virus. *Proc Jpn Acad Ser B*. 2012;88:226–9. doi: 10.2183/pjab.88.226
5. Lees WD, Moss DS, Shepherd AJ. Analysis of antigenically important residues in human influenza a virus in terms of B-cell epitopes. *Journal of virology*. 2011;85(17):8548–55. doi:10.1128/JVI.00579-11
6. Budd AP, Wentworth DE, Blanton L, et al. Update: influenza activity – United States, October 1, 2017 – February 3, 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly*. 2018;67(6):169–79. doi: 10.15585/mmwr.mm6706a1
7. Laver WG, Air GM, Webster RG, et al. Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities. *Cell*. 1990;61:553–6.
8. Henry C, Palm A-KE, Krammer F, et al. From original antigenic sin to the universal influenza virus vaccine. *Trends in immunology*. 2018;39(1):70–9. doi: 10.1016/j.it.2017.08.003
9. Souquette A, Thomas PG. Past life and future effects — how heterologous infections alter immunity to influenza viruses. *Front. Immunol*. 2018;9:article 1071. doi: 10.3389/fimmu.2018.01071
10. Morris DH, Gostic KM, Pompei S, et al. Predictive modeling of influenza shows the promise of applied evolutionary biology. *Trends in Microbiology*. 2018;26(2):102–8. doi: 10.1016/j.tim.2017.09.004
11. Rajao DS, Perez DR. universal vaccines and vaccine platforms to protect against influenza viruses in humans and agriculture. *Front Microbiol*. 2018;9:article 123. doi: 10.3389/fmicb.2018.00123
12. Kumar A, Meldgaard TS, Bertholet S. Novel Platforms for the development of a universal influenza vaccine. *Front Immunol*. 2018;9:article 600. doi: 10.3389/fimmu.2018.00600

Об авторах

- **Евгений Петрович Харченко** — к. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, РАН. 194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Поступила: 12.11.2018 Принята к печати: 24.01.2019

About the Authors

- **Eugene P. Kharchenko** — Dr. Sci. (Biol.), leader researcher of I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy Sciences. 194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Received: 12.11.2018 Accepted: 24.01.2019

ИНФОРМАЦИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Об утверждении плана поэтапного перехода на использование квадривалентных вакцин для профилактики гриппа (пресс-релиз от 25.01.2019 г.)

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека информирует, что Минздравом России и Роспотребнадзором разработан и утвержден План поэтапного перехода на использование квадривалентных вакцин для профилактики гриппа в рамках Национального календаря профилактических прививок в период 2019–2021 гг. Всемирная организация здравоохранения рекомендует странам для специфической профилактики гриппа наряду с наиболее распространенными трехкомпонентными вакцинами против гриппа использовать квадривалентные вакцины, содержащие в своем составе четыре актуальных штамма вирусов гриппа: A(H1N1)09, A(H3N2) и двух линий вирусов гриппа В.

До настоящего времени в Российской Федерации, как и в большинстве стран, применялись только трехкомпонентные вакцины против гриппа. Создание квадривалентных противогриппозных вакцин с использованием передовых технологий является значительным достижением отечественной науки. Квадривалентные вакцины позволяют исключить возможные риски, связанные с появлением в циркуляции вирусов гриппов В двух линий, что усиливает ресурс страны в борьбе с гриппом. Использование квадривалентных вакцин – это новый этап в работе по специфической

профилактике гриппа, достигнутый благодаря последним научным разработкам.

В настоящее время одна из созданных отечественными учеными квадривалентных вакцин для профилактики гриппа, прошедшая все необходимые контрольные исследования и испытания, показавшие ее высокую безопасность и эффективность, зарегистрирована в установленном порядке. Принятые меры по организации производства этого препарата, что позволяет начать практический переход на использование квадривалентных вакцин.

Планом поэтапного перехода на использование квадривалентных вакцин для профилактики гриппа на первоочередном этапе предусмотрена вакцинация такими вакцинами лиц из групп риска – работников медицинских, транспортных, образовательных организаций, коммунальных служб, студентов вузов, лиц от 18 до 60 лет с хроническими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой системы, метаболическими нарушениями, ожирением, лиц, призываемых на военную службу, беременных, детей, лиц старше 60 лет.

Квадривалентная вакцина для профилактики гриппа будет закупаться за счет средств федерального бюджета.

Источник: <http://rospotrebnadzor.ru>