

Поиски универсальной противогриппозной вакцины: возможности и ограничения

Е. П. Харченко*

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

Резюме

Актуальность. При несомненной полезности регулярной сезонной вакцинации эффективность противогриппозных вакцин (ПГВ) варьирует в зависимости от соответствия вакцинальных штаммов гриппа циркулирующим в эпидсезоне штаммам, т.е. по существу используемые ПГВ являются штаммоспецифичными и не способны формировать длительный иммунитет к разным штаммам вируса гриппа. **Цель** продемонстрировать, используя методы биоинформатики, что доминантные последовательности гемагглютинаина (НА) предшествующих эпидсезонов содержат в себе практически все протяженные консервативные, идентичные для всех штаммов последующего сезона последовательности и соответственно могут служить в качестве УПГВ на уровне подтипов для будущих эпидсезонов, а также обсудить в широком аспекте возможности и ограничения в поисках УПГВ. **Материалы и методы.** Для компьютерного анализа были использованы доступные в Интернете базы данных первичных структур НА штаммов H1N1 и H3N2, выделенных у человека в эпидсезон гриппа 2009-2019 гг. Для каждого эпидсезона строили доминантную и инвариантную последовательности НА, представляющие собой обобщенные образы НА циркулирующих штаммов, и по ним сравнивали эпидсезоны друг с другом. В качестве характеристик НА десятилетнего периода использовали доминантную последовательность доминантных последовательностей НА и инвариантную последовательность доминантных последовательностей НА составляющих эпидсезонов. **Результаты.** Доминантные последовательности НА эпидсезонов в течение последних 10 лет мало отличались друг от друга, т.е. их структуры обладали устойчивостью, и каждая из них содержит в себе практически все идентичные консервативные последовательности НА штаммов последующих сезонов. За прошедшее десятилетие в первичных структурах НА H1 и НА H3 свиньи и особенно птиц, в отличие от этих подтипов НА у человека, претерпели значительно большие изменения. **Заключение.** Вакцинные структуры с доминантными последовательностями НА H1 и H3 штаммов предшествующих эпидсезонов могут быть эффективны против множества различных штаммов их подтипов в последующих эпидсезонах.

Ключевые слова: вирус гриппа, эпидсезон, эволюция, прогнозирование, универсальная вакцина

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Харченко Е. П. Поиски универсальной противогриппозной вакцины: возможности и ограничения. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019; 18 (5): 70–84. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84>.

The Search for a Universal Influenza Vaccine: Possibilities and Limitations

E. P. Kharchenko*

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

Abstract

Relevance. Upon the unquestionable utility of regular season vaccination influenza vaccine effectiveness varies depending on how vaccinal strains to be in accord with seasonal circulating influenza strains, i.e. the influenza vaccines are virtually strain-specific and not able to elicit broad, protective immune responses. **Aim** is widening the scope of bioinformatics applications to show the possibility to construct H1 and H3 hemagglutinin structures that contain long identical invariant (conservative) sequences from various strains and can accordingly be used as a universal influenza vaccine at the level of strain subtypes for the future seasons and also to discuss possibilities and limitations in the search for the universal influenza vaccine. **Materials and methods.** For the computer analysis, the database of the hemagglutinin (HA) primary structures of the H1N1 and H3N2 strains isolated in the influenza epidemiological season 2009/2010–2018/2019 were used from the Internet. For every epidemical season dominant and invariant H1 sequences (presenting the generalized HA images of circulating strains) are constructed and used for the comparison of seasons. The dominant sequence of the seasonal dominant sequences and the invariant sequences of the seasonal dominant sequences are used as the HA characteristics for ten year period. **Results.** The seasonal dominant HA sequences of the last ten year period contain a few changes, i.e. their structures are robust and each structure contains practically all identical conservative sequences of the HA of the following seasons. During the last ten years the bird and swine HA H1 and H3, in contrast to human HA H1 and H3, have required

* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Харченко Е. П.

** For correspondence: Kharchenko Eugene P., Dr. Sci. (Biol.), leader researcher Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, 44 Toreza pr., St. Petersburg, Russian Federation, 194223, +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Kharchenko E. P.

significant changes. **Conclusion.** The vaccines using the H1 and H3 dominant sequences for preceding epidemical seasons could be effective against the various strain subtypes in the future seasons.

Key words: influenza virus, evolution, prediction, epidemic season, universal vaccine

No conflict of interest to declare.

For citation: Kharchenko EP. The Search for a Universal Influenza Vaccine: Possibilities and Limitations. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019; 18 (5): 70–84. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84>.

Введение

По данным ВОЗ, никакая другая инфекция, а только грипп ежегодно поражает до миллиарда населения планеты, в 3–6 млн случаев протекает в тяжелой форме, приводящей к 300–500 тыс. смертельных исходов. И нет другой вакцины, такой, как противогриппозная вакцина (ПГВ), которую во всех уголках планеты ежегодно на протяжении более полувека используют для иммунизации населения перед наступлением эпидемического сезона. При несомненной полезности регулярной сезонной вакцинации эффективность ПГВ варьирует от 10 до 60% в зависимости от соответствия вакцинных штаммов гриппа циркулирующим в эпидемическом сезоне штаммам, т. е. по существу используемые ПГВ являются штамм-специфичными и не способны формировать длительный иммунитет к гриппу.

Многообразие подтипов вирусов гриппа и их извечная изменчивость повернули вектор поисков ПГВ к ее универсальной версии, чему способствовало наличие консервативных эпитопов в стволовой части гемагглютинаина (НА) разных подтипов и типов вируса гриппа и обнаружение (аналогично ВИЧ-инфекции) у ряда субъектов, перенесших грипп, антител с широким спектром действия, способных нейтрализовать разные подтипы вируса гриппа. В 2017 г. в США принят стратегический план поиска универсальной ПГВ (УПГВ), в котором выделены 3 области исследования: 1. углубленное изучение процесса трансмиссии, естественной истории и патогенеза гриппозной инфекции, 2. точная характеристика иммунитета к гриппу и корреляторы иммунной защиты, 3. поддержка рационального дизайна универсальной УПГВ [1]. В специальном приложении журнала «J. Infectious Diseases» [2] ведущие исследователи поделились своими мнениями относительно проблем по созданию УПГВ. В конце же 2018 г. обсуждение специалистами возможности создания УПГВ привело к заключению, что новые научные технологии последнего десятилетия еще не приблизили нас к этой цели, и она остается «алхимической мечтой» [3].

В начале 2019 г. ВОЗ одобрила на 2019–2030 гг. специальную стратегию по предотвращению и контролю гриппозной инфекции и готовности к противостоянию новым пандемиям [4]. В ней выделены 4 основные цели, охватывающие 10 приоритетных направлений. Априорно возможны два пути поисков УПГВ: первый заключается в продолжении

множить новые ее модели, второй – в совершенствовании существующих ПГВ. Для обоих путей насущная задача – выявление доминантных в эпидемическом сезоне штаммов вируса гриппа для наибольшего антигенного соответствия вакцинного штамма циркулирующим, и идентификация тех изменений в поверхностных белках (НА и нейраминидазе), которые влекут изменение иммуногенных свойств доминирующего штамма и преодоление сформировавшегося популяционного иммунитета у населения, обеспечивая вирусу высокую трансмиссивность и соответственно высокую заболеваемость населения.

Возможность успешного использования в поисках УПГВ принципа «один иммуноген для всех», применяемого сегодня в разработках вакцины против ВИЧ, маловероятна. Существование у вируса гриппа двух типов А и двух линий типа В (не считая типы С и D) предопределяют формулу УПГВ с валентностью не менее 4. В современных вакцинах они представлены по одному штамму подтипов H1N1 и H3N2 и типа В линий Yamagata и Victoria. Предлагаемая ранее подход к оптимизации прогнозирования вакцинного штамма, мы обратили внимание, что зачастую рекомендуемые комитетом по гриппу ВОЗ вакцинные штаммы не отражают всего антигенного многообразия циркулирующих в эпидемическом сезоне штаммов, что можно рассматривать как один из факторов, ограничивающих эффективность используемых инактивированных и живых ПГВ [5].

Для прогнозирования вакцинных штаммов против гриппа нами были введены понятия «доминантная и инвариантная последовательности» НА циркулирующих в эпидемическом сезоне штаммов вируса гриппа, которые отображают два разных «портрета» НА популяции штаммов каждого эпидемического сезона и позволяют проследить изменения НА в различные периоды [5].

Цель данного сообщения – продемонстрировать, используя методы биоинформатики, что доминантные последовательности НА предшествующих эпидемических сезонов содержат в себе практически все протяженные консервативные, идентичные для всех штаммов последующего сезона последовательности и соответственно могут служить в качестве УПГВ на уровне подтипов для будущих эпидемических сезонов, а также обсудить в широком аспекте возможности и ограничения в поисках УПГВ.

Материалы и методы

Для обобщенной характеристики первичной структуры HA штаммов вируса гриппа и прогнозирования ее эволюции нами был предпринят компьютерный анализ доминантной структуры HA штаммов для каждого эпидсезона и инвариантных (консервативных) позиций в структуре HA [5]. В анализ были включены 17 854 штаммов подтипа H1N1 и 25 782 штаммов подтипа H3N2 с известной первичной структурой HA, выделенные у человека в эпидсезонах (с 1 октября предыдущего года по 1 февраля предыдущего года) с 2009 по 2019 гг., а также единичные данные по штаммам H1N1 с 1918 по 2008 г. Источником первичных структур HA служила общедоступная в Интернете база данных по гриппу (<http://www.platform.gisaid.org>). Из составленной выборки штаммов отсеивались штаммы со вставками, делециями или неидентифицированными аминокислотами в первичной структуре HA, а также штаммы с резко отличающейся структурой и идентичные по HA штаммы из одного и того же источника. Последние составляли подавляющую часть исключаемых из анализа данных. После фильтрации численность выборок штаммов по эпидсезонам снижалась примерно на 80–90%. Аналогичный анализ был выполнен со штаммами подтипа H3N2, выделенными с 1968 г. по 2009 г.

Для каждого эпидсезона последнего десятилетия строились инвариантная и доминантная последовательности из 566 позиций (длина HA), что подробно описано в предыдущих наших публикациях [5,6], и здесь приводится краткое изложение процедуры. Первоначально для каждой вариабельной позиции инвариантной цепи HA эпидсезона определяли все аминокислотные замены и их частоты, выявленные во всей выборке штаммов, выделенных и секвенированных с 1 октября предыдущего года по 1 февраля последующего года (рис. 1). Следующий этап заключается в размещении конкретных аминокислот в вариабельных позициях между инвариантными блоками. По каждой вариабельной позиции частота встречаемости замещающих аминокислот резко отличается, 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 HA названа нами как доминантная, и так как сам процесс восстановления первичной структуры HA возможного вакцинного штамма построен на заполнении инвариантной цепи доминантными аминокислотами, то построенная цепь HA названа также доминантной (далее ради краткости она будет именоваться как «доминантная последовательность HA»). Структура, которая включает в себе доминантную и инвариантную последовательности с указанием в последней по каждой

вариабельной позиции замещаемых аминокислот и их встречаемости в популяции штаммов эпидсезона, названа нами штамм-компактом HA, поскольку она отображает особенности первичной структуры HA всей популяции штаммов эпидсезона. В качестве примера на рисунке 1 приводится фрагмент штамм-компакта для HA штаммов H3N2 эпидсезона 2018–2019 гг.

Аналогично для интеграции информации по изменчивости HA за десятилетие строились доминантная и инвариантная последовательности более высокого порядка: доминантная доминантных последовательностей эпидсезонов и инвариантная доминантных последовательностей эпидсезонов, а также инвариантная последовательность эпидсезонов 2009–2019 гг. (рис. 2 А-Г и рис. 3А-Г).

Для прослеживания траектории эволюции вируса гриппа в последнем десятилетии сравнивали доминантные последовательности смежных эпидсезонов, выявляя произошедшие в них замены (табл. 1).

Оценку близости HA доминантных последовательностей и рекомендованных ВОЗ штаммов в качестве вакцинных выполняли по такому простому интегральному показателю как частотное распределение штаммов по общему числу аминокислотных различий первичной структуры HA циркулирующих штаммов от доминантной последовательности HA или HA рекомендованного ВОЗ вакцинного штамма соответственно по интервалам различий. Для этого были использованы интервалы различий HA на 0–5 (А), 6–10 (Б) и 11–15 (В) и > 15 (Г) аминокислотных остатков (табл. 2–4, 6). Достоверность различий распределений штаммов по этим интервалам оценивали по статическому критерию для сравниваемых выборочных долей вариантов. Дополнительным показателем различий прогнозирования были средние (интервальные) значения отличий первичной структуры HA всех штаммов эпидсезона соответственно от доминантной последовательности HA и HA рекомендованного ВОЗ штамма. Статистическую значимость их различий оценивали по критерию Стьюдента.

Различия между HA в отдельных парах штаммов H1N1 и H3N2 оценивали по количеству неидентичных позиций в их первичной структуре (табл. 5).

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

Создание УПГВ рассматривается как длительный и многоэтапный процесс [1,4], и в ее создании

Рисунок 1. Фрагмент доминирующей последовательности гемагглютинаина для штаммов H3N2 эпидсезона 2018–2019 гг.

Figure 1. Fragment of the dominant hemagglutinin sequence for H3N2 strains of the epidemic seasons 2018–2019

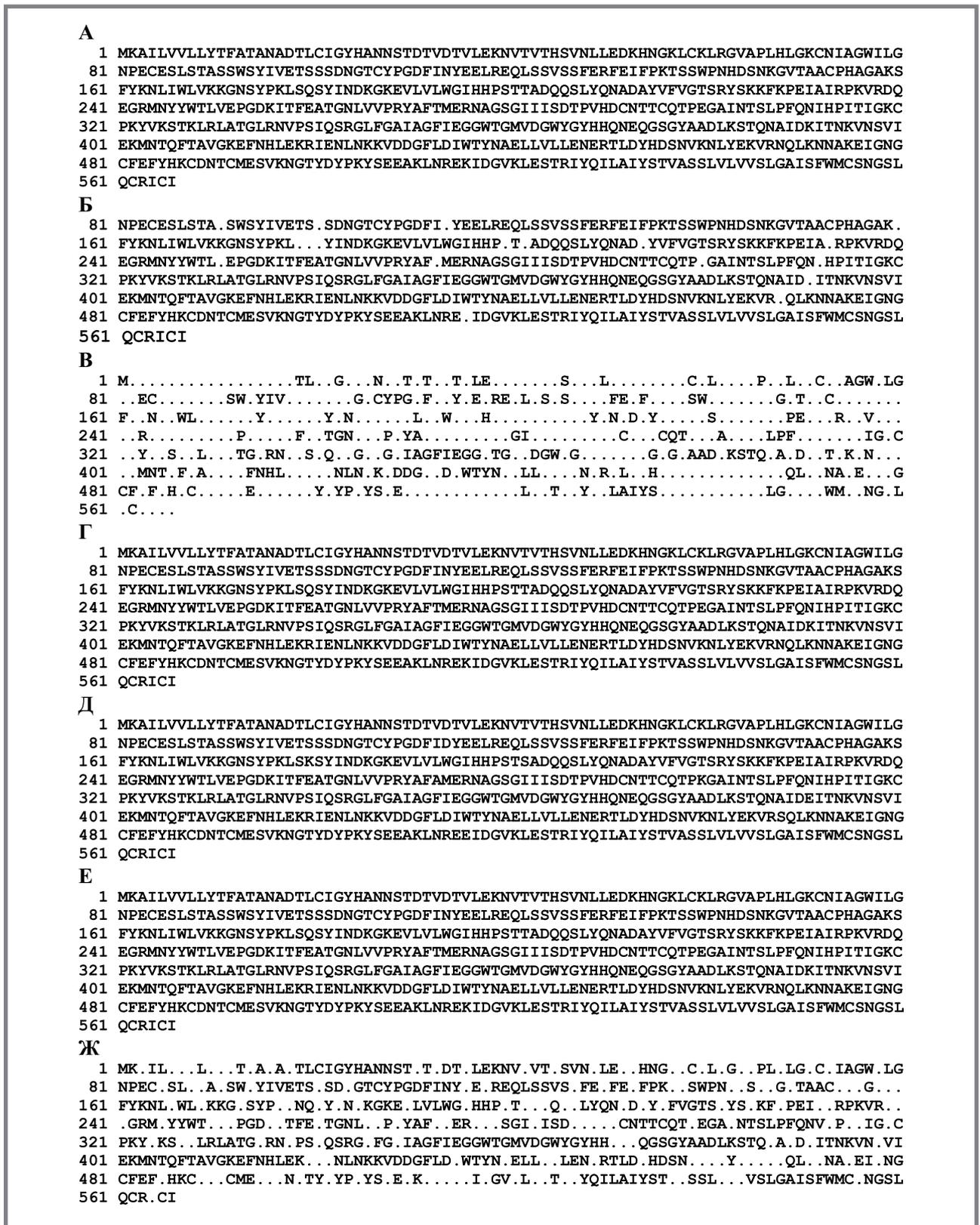
51 E E	124 L L	197 G G
52 V V	125 R R	198 V .I[2]V[376]
53 T T	126 S S	199 H H
54 N N	127 L .L[377]I[1]	200 H H
55 A A	128 V V	201 P P
56 T T	129 A A	202 G .V[1]G[376]S[1]
57 E E	130 S S	203 T .M[1]T[377]
58 L L	131 S S	204 D .D[377]N[1]
59 V V	132 G G	205 K K
60 Q Q	133 T T	206 D D
61 N .D[2]N[376]	134 L L	207 Q Q
62 S S	135 E E	208 I .I[371]V[5]T[2]
63 S S	136 F F	209 F .F[303]S[75]
64 I .R[5]I[371]V[2]	137 K .K[278]D[5]E[2]N[93]	210 L L
65 G .D[1]G[376]S[1]	138 N .D[1]I[1]N[373]T[3]	211 Y Y
66 E .K[3]E[375]	139 E E	212 A A
67 I I	140 S .G[1]S[377]	213 Q .R[21]H[2]Q[355]
68 C C	141 F F	214 S .P[44]S[334]
69 D .D[341]N[37]	142 N .K[8]N[370]	215 S .P[1]S[377]
70 S .N[1]S[377]	143 W W	216 G G
71 P P	144 A .V[1]A[213]T[164]	217 R .K[1]R[377]
72 H .H[374]Y[4]	145 G G	218 I I
73 Q .R[5]H[1]L[2]Q[370]	146 V .I[2]V[375]A[1]	219 T .I[1]T[377]
74 I .I[377]V[1]	147 T .K[138]T[240]	220 V .I[1]V[377]
75 L L	148 Q Q	221 S S
76 D D	149 N N	222 T T
77 G G	150 G .E[1]G[377]	223 K .K[373]R[5]
78 G .K[2]E[111]G[265]	151 T .K[175]A[2]N[1]T[200]	224 R R
79 N .K[1]N[377]	152 S S	225 S .N[1]S[377]
80 C C	153 S .F[7]S[371]	226 Q Q
81 T T	154 A .A[309]S[69]	227 Q Q
82 L .L[377]I[1]	155 C C	228 A .A[348]T[30]
83 I .I[377]V[1]	156 I .L[1]I[375]V[1]T[1]	229 V V
84 D D	157 R R	230 I .I[362]S[2]T[14]
85 A A	158 G .K[35]R[6]E[1]G[336]	231 P P
86 L L	159 S S	232 N N
87 L L	160 S .K[79]R[2]G[2]S[295]	233 I .I[377]V[1]
88 G G	161 S .R[1]S[377]	234 G .E[1]G[377]
89 D D	162 S .N[1]S[377]	235 S .Y[2]F[51]S[325]
90 P P	163 F F	236 R R
91 Q .H[1]Q[377]	164 F F	237 P .H[1]P[377]
92 C C	165 S S	238 R R
93 D D	166 R .K[10]R[367]S[1]	239 I I
94 G .G[377]S[1]	167 L L	240 R R
95 F .L[2]F[376]	168 N N	241 D D
96 Q .K[1]Q[377]	169 W W	242 I .I[377]V[1]
97 N .D[4]N[374]	170 L L	243 P P
98 K .K[370]R[8]	171 T T	244 S S
99 K .K[370]E[8]	172 H H	245 R R
100 W W	173 L L	246 I I
101 D D	174 N .K[1]N[377]	247 S .N[1]S[377]
102 L L	175 Y .Y[316]F[1]S[61]	248 I I
103 F F	176 T .K[72]I[2]A[1]T[303]	249 Y Y
104 V .I[2]V[376]	177 Y .H[1]Y[377]	250 W W
105 E E	178 P .P[377]S[1]	251 T T
106 R R	179 A A	252 I I
107 S .N[62]S[316]	180 L L	253 V V
108 R .K[115]R[263]	181 N N	254 K K
109 A A	182 V V	255 P .P[376]S[2]
110 Y Y	183 T T	256 G G
111 S S	184 M M	257 D D
112 N N	185 P P	258 I .L[1]I[377]
113 C C	186 N N	259 L L
114 Y Y	187 K .K[266]N[112]	260 L L
115 P P	188 E E	261 I .I[377]V[1]
116 Y Y	189 Q .H[2]Q[376]	262 N .N[377]S[1]
117 D D	190 F F	263 S S
118 V .L[1]V[377]	191 D D	264 T T
119 P P	192 K K	265 G G
120 D .D[377]N[1]	193 L .L[377]M[1]	
121 Y Y	194 Y Y	
122 A .V[3]A[375]	195 I I	
123 S S	196 W W	

можно выделить ближайшие и отдаленные цели. Поскольку в настоящее время реально используется 4-компонентная ПГВ, в составе которой обязательны штаммы подтипов H1N1 и H3N2, вызывающие более тяжелое проявления инфекции, по сравнению со штаммами вируса гриппа типа В, то именно

их следует рассматривать как ближайшие мишени при создании УПГВ с широкой и долговременной эффективностью. В качестве цели первого этапа можно было бы обозначить создание ПГВ против всех штаммов как подтипа H1N1, так и подтипа H3N2 с длительностью действия не менее 1 года [1].

Рисунок 2. Доминирующие и инвариантные последовательности H1

Figure 2. Dominant and invariant H1 hemagglutinin sequences

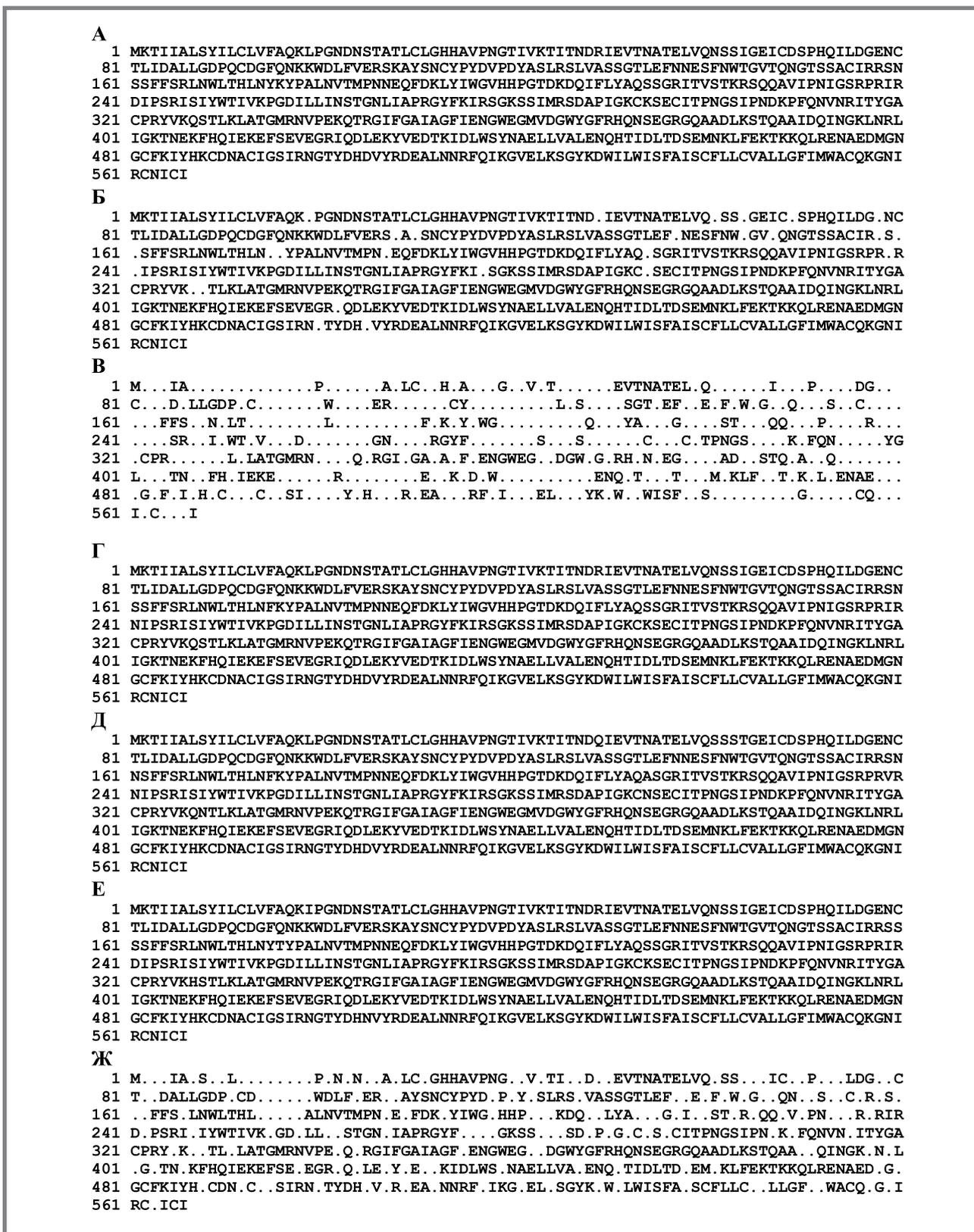


Примечание: А – доминирующая последовательность доминирующих последовательностей H1 эпидемических сезонов 2009–2019 гг.; Б – инвариантная последовательность доминирующих последовательностей H1 эпидемических сезонов 2009–2019 гг.; В – инвариантная последовательность H1 штаммов эпидемических сезонов 2009–2019 гг.; Г – доминирующая последовательность доминирующих последовательностей H1 эпидемических сезонов 2009–2018 гг.; Д – доминирующая последовательность H1 эпидемического сезона 2009–2010 гг.; Е – доминирующая последовательность H1 эпидемического сезона 2014–2015 гг.; Ж – инвариантная последовательность H1 штаммов эпидемического сезона 2018–2019 гг.

Note: A – the dominant sequence of dominant H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019; Б – the invariant sequence of dominant H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019; В – the invariant sequence of H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2018; Г – the dominant sequence of dominant H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2018; Д – the dominant sequence of H1 hemagglutinin sequences for the epidemic season 2009–2010; Е – the dominant sequence of H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2014–2015; Ж – the invariant sequence of H1 hemagglutinin sequences for the epidemic season 2018–2019.

Рисунок 3. Доминирующие и инвариантные последовательности H3:

Figure 3. Dominant and invariant H3 hemagglutinin sequences



Примечание: А – доминирующая последовательность доминирующих последовательностей H3 эпидсезонов 2009–2019 гг.; Б – инвариантная последовательность доминирующих последовательностей H3 эпидсезонов 2009–2019 гг.; В – инвариантная последовательность H3 штаммов эпидсезонов 2009–2019 гг.; Г – доминирующая последовательность доминирующих последовательностей H3 эпидсезонов 2009–2018 гг.; Д – доминирующая последовательность H3 эпидсезона 2009–2010 гг.; Е – доминирующая последовательность H3 эпидсезона 2014–2015 гг.; Ж – инвариантная последовательность H3 штаммов эпидсезона 2018–2019 гг.

Note: A – the dominant sequence of dominant H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019; B – the invariant sequence of dominant H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019; B – the invariant sequence of H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2018; Г – the dominant sequence of dominant H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2018; Д – the dominant sequence of H3 hemagglutinin sequences for the epidemic season 2009–2010; E – the dominant sequence of H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2014–2015; Ж – the invariant sequence of H3 hemagglutinin sequences for the epidemic season 2018–2019.

Таблица 1. Сравнение доминантных последовательностей H1 и H3 смежных эпидсезонов

Table 1. Comparison of the dominant H3 and H1 sequences of adjacent epidemic seasons for the changes in them

Сравниваемые сезоны Compared seasons	Изменения в ДП Changes in the dominant sequences	
	H1	H3
ДП 2009/2010-ДП 2010/2011	S202T E391K S468N	D69N Y110H
ДП 2010/2011-ДП 2011/2012	S160G	N69D H110Y N161S A214S V239I N328S
ДП 2011/2012-ДП 2012/2013	D114N G160S V251I K300E E516K	Q49R S61N T64I N294K
ДП 2012/2013-ДП 2013/2014	K180Q I251V A273T	T144A R158G
ДП 2013/2014-ДП 2014/2015		L19I A144T G158R N160S F175Y K176T N241D Q327H D505N
ДП 2014/2015-ДП 2015/2016	S101N S179N I233T	
ДП 2015/2016-ДП 2016/2017		N137K N187K I422V G500E
ДП 2016/2017-ДП 2017/2018	S 91R S181T I312V	K137N T147K R158K K187N R277Q V422I E500G
ДП 2017/2018-ДП 2018/2019	S200P	E78G K108R N137K T144A K147T K158G N187K Q277R H327Q I422V G500E

Таблица 2. Распределение количества штаммов H1N1 по интервалам различий первичной структуры их H1 от доминантной последовательности доминантных последовательностей H1 эпидсезонов 2009-2019 гг.

Table 2. The distribution of the number of H1N1 strains by the intervals of differences in the primary structure of their H1 from the dominant sequence of dominant H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019

Эпидсезоны Epidemic seasons		А	Б	В	Г	X _{ср}	Σ
2009/2010	Доминантная доминантных последовательностей H1 эпидсезонов 2009-2019 гг. The dominant sequence of dominant H1 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019	1	271	50	0	9.2	322
2010/2011		41	69	7	3	8.0	140
2011/2012		2	27	15	0	9.4	44
2012/2013		102	47	15	5	6	169
2013/2014		211	8	0	0	1-2	219
2014/2015		137	2	0	0	1	139
2015/2016		265	57	1	0	4-5	323
2016/2017		71	61	0	0	5-6	132
2017/2018		2	224	50	0	8-9	276
2018/2019		0	65	306	6	12	377

Таблица 3. Распределение количества штаммов H3N2 по интервалам различий первичной структуры их H3 от доминантной последовательности доминантных последовательностей H3 эпидсезонов 2009–2019 гг.

Table 3. The distribution of the number of H3N2 strains by the intervals of differences in the primary structure of their H3 from the dominant sequence of dominant H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019

Эпидсезоны Epidemic seasons		А	Б	В	Г	X _{ср}	Σ
2009/2010	Доминантная доминантных последовательностей H3 штаммов H3N2 эпидсезонов 2009-2019 гг. The dominant sequence of dominant H3 hemagglutinin sequences for the epidemic seasons 2009–2019	0	10	24	6	12-13	40
2010/2011		2	18	80	36	9-10	136
2011/2012		51	116	51	25	9-10	243
2012/2013		151	31	11	10	5-6	203
2013/2014		96	147	3	0	6	246
2014/2015		99	194	30	5	7	328
2015/2016		33	180	3	0	7	216
2016/2017		3	289	132	3	9-10	427
2017/2018		0	188	121	6	10-11	315
2018/2019		0	7	293	64	14	378

Таблица 4. Распределение количества штаммов H1N1 эпидсезонов 2009–2019 гг. по интервалам различий первичной структуры их HA от доминантной последовательности HA

Table 4. The distribution of the number of H1N1 strains by the intervals of differences in the primary structure of their H1 from the dominant H1 hemagglutinin sequence for the epidemic seasons 2009–2019

Эпидсезоны Epidemic seasons	ДП The dominant sequence	А	Б	В	Г	X _{ср}	Σ
2009/2010	ДП HA 2009/2010	319	3	0	0	1.9	322
2010/2011	ДП HA 2010/2011	98	37	5	0	4.0	140
2011/2012	ДП HA 2011/2012	27	14	3	0	5.3	44
2012/2013	ДП HA 2012/2013	111	41	14	3	4.3	169
2013/2014	ДП HA 2013/2014	211	8	0	0	1.5	219
2014/2015	ДП HA 2014/2015	137	2	0	0	1.6	139
2015/2016	ДП HA 2015/2016	278	45	1	0	2.1	323
2016/2017	ДП HA 2016/2017	132	0	0	0	1.6	132
2017/2018	ДП HA 2017/2018	268	9	0	0	2.2	276
2018/2019	ДП HA 2018/2019	305	72	0	0	4.2	377

Таблица 5. Количества неидентичных позиций в первичных структурах HA сравниваемых пар штаммов

Table 5. The number of non-identical positions in the HA primary structures of compared strain pairs

Сравниваемые штаммы Compared strains	Δ
H1N1	
South Carolina/1/18- California/07/2009	78
California/07/2009 - California/ 158/2019	21
California/ 158/2019 - swine/Indiana/A02430689/2019	51
California/ 158/2019 - chicken/Pennsylvania/16-002590-1/2016	105
H3N2	
A/AICHI/2/196820 - Singapore/MOH0015/2019	83
Singapore/C2009.863/2009 - Singapore/MOH0015/2019	28
Singapore/MOH0015/2019 - swine/Chachoengsao/NIH117865-086/2017	78
Singapore/MOH0015/2019 - chicken/Ganzhou/GZ43/2016	92

Так как формирование гуморального иммунитета к вирусу гриппа определяется в большей степени доминантными иммунными эпитопами глобулы (головки) HA, то далее анализ будет сосредоточен на фрагменте HA1 в H1 и H3, в котором локализируются антигенные и рецептор-распознающий сайты вируса гриппа. Выполненный нами анализ позволил выявить полезность доминантной и инвариантной последовательностей не только для оптимизации прогнозирования вакцинного штамма на следующий эпидсезон [5], но и для поисков УПГВ на уровне подтипа на несколько лет вперед [6]. Рассмотрим применение обеих последовательностей для различных временных периодов.

Первоначально зададимся целью проанализировать насколько эффективны как вакцинные доминантные последовательности HA штаммов H1N1 и H3N2 более ранних эпидсезонов

для будущего эпидсезона, приняв в качестве примера эпидсезон 2018–2019 гг. за будущий и оценивая полезность для него доминантной последовательности HA эпидсезона 2014–2015 гг. Охарактеризуем подробнее, каким оказался штамм-компакт HA H3N2 эпидсезона 2018–2019 гг. (рис. 1) с параллельными комментариями по H1N1. На рисунке 1 в самом фрагменте штамм-компакта первый вертикальный числовой ряд – нумерация позиций аминокислот в HA, второй вертикальный ряд аминокислот – собственно сама построенная доминантная последовательность HA эпидсезона, 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

Таблица 6. Распределение количества штаммов по интервалам различий первичной структуры их HA от доминантной последовательности HA и HA вакцинного штамма для эпидсезонов 2016–2019 гг.
Table 6. The distribution of the number of strains by the intervals of differences in the primary structure of their HA from the HA dominant sequence and HA of the vaccine strain for epidemic seasons 2016–2019

Эпидсезон Epidemic seasons	ДП/вакцинный штамм The dominant sequence/The vaccine strain	А	Б	В	Г	X _{ср}	Σ
Н1							
2016/2017	ДП 2016/2017 The dominant sequence 2016/2017	132	0	0	0	1-2	132
2017/2018		177	99	0	0	5	276
2018/2019		29	320	28	0	8	377
2016/2017	A/California/7/2009 H1N1	0	0	49	83	16.2	132
2017/2018		0	0	1	275	19.8	276
2018/2019		0	0	0	377	22.2	377
Н3							
2016/2017	ДП 2016/2017 The dominant sequence 2016/2017	287	121	7	12	4.8	427
2017/2018		57	238	11	9	7-8	315
2018/2019		6	272	39	61	10	378
2016/2017	A/Kansas/14/2017 H3N2	3	3	231	190	15.2	427
2017/2018		8	1	145	161	15.4	315
2018/2019		58	4	27	289	15-16	378

позициях HA у разных штаммов эпидсезона, с указанием (в скобках) для каждой аминокислоты частоты ее встречаемости. Строилась доминантная последовательность HA вставлением в цепь с инвариантными блоками доминантной аминокислоты из приводимого горизонтального ряда заменяемых аминокислот.

В реальности в каждом эпидсезоне у подтипа вируса гриппа социркулируют несколько доминирующих штаммов. Ценность структуры штамм-компакта определяется наличием информации по первичной структуре всех «отфильтрованных» и включенных в анализ штаммов эпидсезона. Как компактное представление информации о HA всей совокупности штаммов эпидсезона штамм-компакт позволяет более глубоко, чем данные серологического анализа, вникнуть в особенности изменений HA и проследить их по нескольким эпидсезонам, определяя позиции аминокислот, в которых произошли изменения, какие аминокислоты вовлечены в замены, у какого количества штаммов произошли замещения данной аминокислотой и принадлежность вариабельной позиции антигенным сайтам и компонентам рецептор-связывающего сайта.

Особенность доминантной последовательности Н3 эпидсезона 2018–2019 гг. – появление в ней 11 замен, что является наибольшим показателем среди доминантных последовательностей эпидсезонов за десятилетие (см. табл. 1). 9 замен в ней не являются мутациями и проявились в результате смены доминировавших штаммов на штаммы, имевшие ранее в соответствующих позициях аминокислоты с промежуточной частотой встречаемости [6]. Внимательный просмотр варьирующих позиций полного варианта штамм-компакта позволяет выявить, что представленная в нем

доминантная последовательность HA H3N2 эпидсезона 2018–2019 гг. явно недостаточно отображает антигенное многообразие штаммов. К примеру, в позициях 78, 108, 137, 144, 147, 151, и 187 встречаются две доминантные аминокислоты, а в позициях 69, 107, 154, 158, 160, 175, 176, 209, 214, 228 и 235 доминантной аминокислоте сопутствует аминокислота с «промежуточной» частотой встречаемости. Почти все отмеченные сочетания доминантных и «промежуточных» аминокислот в одной и той же позиции неизофункциональные и, если принять, что глобула HA формируется фрагментом 116–261, то основная доля сочетаний доминантных и «промежуточных» аминокислот в одной и той же метастабильной позиции приходится на глобулу HA H3N2. На «стебель» же HA H3N2 приходятся 3 позиции с двумя доминантными аминокислотами и 7 позиций с сочетанием доминантной и «промежуточной» аминокислот, что согласуется с большей его консервативностью. Подтверждением существования не только одного доминирующего штамма H3N2 в циркуляции служит задержка комитетом ВОЗ по гриппу в начале этого года на месяц с рекомендацией по вакцинному штамму для подтипа H3N2. При сравнении первичной структуры HA, рекомендованного в качестве вакцинного штамма A/Kansas/14/2017/H3N2, с циркулирующими в 2019 г. штаммами H3N2 в России и США (с идентифицированной первичной структуры H3 и представленных в банке данных, (<http://www.platform.gisaid.org>)) выявлено, что практически все штаммы России отличались от него в среднем по 21–22 позициям. В США же примерно в половине штатов штаммы H3N2 были близки к штамму A/Kansas/14/2017/H3N2, отличаясь от него не более, чем по 4–5 позициям, а в другой половине штатов ситуация была как

в России. Очевидно, что не только время, но и пространство определяет природу изменчивости HA вируса гриппа.

Применительно к штаммам H1N1, которые мутирует с меньшей, по сравнению с штаммами подтипа H3N2, частотой, возможна ситуация, когда одна доминантная последовательность отображает антигенное многообразие штаммов в эпидсезоне. К примеру, в глобуле HA H1 штаммов эпидсезона 2018–2019 гг. отмечены всего 2 позиции с 2 доминантными аминокислотами и 2 позиции с сочетанием доминантной и «промежуточной» аминокислот. В обоих случаях доминантные и промежуточные аминокислоты изофункциональны, что позволяет принять для этого эпидсезона одну доминантную последовательность. Примечательно, что за минувшее десятилетие для всех эпидсезонов доминантная последовательность HA H1 отображала антигенное многообразие штаммов в эпидсезоне.

Сравним теперь доминантные и инвариантные последовательности HA H1 и H3 эпидсезонов 2018–2019 гг. и 2014–2015 гг. (рис. 2 Ж с рис. 2 Е и рис. 3 Ж с рис. 3 Е), имея в виду, что доминантная последовательность HA отражает наиболее часто встречающуюся аминокислоту в каждой ее позиции у штаммов эпидсезона, а в инвариантной последовательности представлены консервативные последовательности, идентичные и свойственные HA всех штаммов эпидсезона, что делает последовательность ценной при разработке УПГВ по крайней мере на уровне подтипа. В минимальном варианте УПГВ по подтипу должна быть эффективна против всех штаммов соответствующего подтипа будущего эпидсезона, и это можно достичь, если в HA вакцинного штамма представлены все (либо большинство) инвариантные последовательности HA штаммов будущего эпидсезона. Оказалось, что обе доминантные последовательности HA (H1 и H3) эпидсезона 2014–2015 гг. (рис. 2 Е и рис. 3 Е) содержат соответственно все инвариантные последовательности HA штаммов эпидсезона 2018–2019 гг. (сравнить рис. 2 Ж с рис. 2 Е и рис. 3 Ж с рис. 3 Е). Следовательно, вакцинный штамм с доминантной последовательностью как HA H1, так и HA H3 эпидсезона 2014–2015 гг. (рис. 2 Е, рис. 3 Е) может быть рекомендован в качестве вакцинного для «будущего» эпидсезона 2018–2019 гг.

Обратимся далее к доминантной доминантных последовательностей эпидсезонов, инвариантной последовательности доминантных последовательностей эпидсезонов и инвариантной последовательности HA эпидсезонов 2009–2019 г. (рис. 2 А, Б, В и рис. 3 А, Б, В). Выбор последнего десятилетия предопределен был тем, что с него начинается новый, уже десятилетний этап эволюции штаммов подтипа H1N1, порожденных пандемией 2009–2010 гг. Штаммы подтипа H3N2 ведут свою родословную уже 50 лет от возбудителя пандемии гриппа 1968–1969 гг. Анализ HA штаммов вируса гриппа (обоих подтипов) эпидсезонов

последнего десятилетия показал, что при известной изменчивости штаммов вируса их обобщенный образ – доминантная последовательность HA – изменяется незначительно от одного эпидсезона к другому. Контраст между доминантной доминантных последовательностей HA эпидсезонов и инвариантной последовательностью эпидсезонов 2009–2019 гг. (рис. 2 А и 2 В, рис. 3 А и 3 В) подтипов H1N1 и H3N2 свидетельствует о том, что, с одной стороны, в популяции штаммов мутациям за 10 лет может быть подвергнуто большинство позиций первичной структуры H1 и H3 и существуют позиции, которые не подвергаются мутациям, с другой стороны, реверсия мутаций сохраняет на популяционном уровне у каждого штамма структуру HA в обоих подтипах такой, что она отличается от доминантной доминантных последовательностей HA за десятилетие в среднем не более чем по 12 и 14 позициям соответственно у подтипов H1N1 и H3N2 (см. табл. 2, 3). Существенно менее выражено отличие первичной структуры HA штаммов от доминантных последовательностей HA эпидсезонов (табл. 4). Инвариантная последовательность доминантных последовательностей HA эпидсезонов за десятилетие по подтипу H1N1 содержит лишь 17 переменных позиций (рис. 2 Б), а по подтипу H3N2 – 27 (рис. 3 Б), что значительно меньше количества переменных позиций в инвариантных последовательностях в каждом эпидсезоне для обоих подтипов. Все эти соотношения сохраняются и для доминантной доминантных последовательностей эпидсезонов и инвариантной последовательности доминантных последовательностей 2009–2018 гг. (рис. 2 Г и рис. 3 Г).

Самая ценная особенность доминантной доминантных последовательностей эпидсезонов 2009–2019 (рис. 2 А и рис. 3 А) и 2009–2018 гг. (рис. 2 Г и рис. 3 Г), как и доминантных последовательностей HA отдельных эпидсезонов (рис. 2 Д, Е и рис. 3 Д, Е), – представленность в них инвариантных последовательностей штаммов принятого нами для анализа как «будущего» эпидсезона 2018–2019 гг. (рис. 2 Ж и рис. 3 Ж), что позволяет рассматривать их в качестве возможных кандидатов для включения в состав инактивированных, живых либо для рекомбинантных (субъединичных) вакцин. У разных штаммов замены в 12–14 позициях в структуре HA мало влияют на представленность в ней идентичных консервативных фрагментов и на робастность (устойчивость) доминантных последовательностей HA в эпидсезонах.

Веским аргументом в пользу такого вывода служат данные по перекрестной протективной активности (против разных штаммов одного подтипа) антител, индуцированных консенсусными последовательностями HA, построенными по алгоритму COBRA [7,8]. Хотя алгоритм COBRA [7] и наш алгоритм построения доминантных и инвариантных последовательностей [5] базируются на разных принципах и разных базах данных, общность

между консенсусными и доминантными последовательностями HA в том, что в них отражены общие консервативные последовательности разных штаммов, Особенность этих консервативных блоков заключается в их расположении вне переменных позиций HA, и по длине своей они соответствуют пептидным эпитопам, презентуемым главными комплексами гистосовместимости классов I и II. Выявление пределов мутирования HA на уровне штамма подтипов H1N1 и H3N2 человека объясняет, почему обе последовательности могут служить в качестве индукторов антител с широким спектром действия, т. е. служить прообразом УПГВ по крайней мере на уровне подтипа.

Следует заметить, что только лишь для штаммов H3N2 и H1N1 человека действует ограничение по числу возможных мутаций в структуре HA, порожденных соответственно пандемиями гриппа 1968 и 2009 гг., и удивительно то, насколько к 2019 г. большие различия между первичной структурой HA и HA соответствующих подтипов штаммов цыпленка и особенно свиньи, поскольку пандемия 2009 г., вызванная вирусом смешанного происхождения – источником гена HA являлся вирус гриппа свиньи. Сильные расхождения между HA штаммов South Carolina/1/18 H1N1 и California/07/2009 H1N1 при их принадлежности к одному тому же подтипу служат свидетельством, что они ведут свое происхождение от штаммов разных хозяев (табл. 5).

Адаптация вируса гриппа к разным видам определяет особенности различий первичной структуры HA, которые, как видно из таблицы 5, могут быть очень существенными и, вероятно, приводить к различным последствиям. Во-первых, возникновение пандемического штамма в пределах популяции штаммов подтипов H3N2 и H1N1 человека маловероятно из-за сравнительно низкой (как показано в данном исследовании) скорости изменения их HA. Внезапное возникновение штамма с пандемическим потенциалом, HA которого сильно отличался бы от доминантных последовательностей, не представляется возможным. Это подтверждается историей пандемий гриппа минувшего столетия – пандемические штаммы возникали в результате реассортации между штаммами разных хозяев.

Во-вторых, инфицирование человека штамма вируса подтипов H3N2 и H1N1 от другого хозяина из-за антигенных различий между их HA будет протекать тяжелее. В-третьих, диагностика возбудителя гриппа при заражении штаммами от других хозяев из-за сильных антигенных различий, например, штаммов птиц (см. табл. 5) и при ограниченном числе специфических диагностикомов может приводить к неопределенности. Более слабая изменчивость HA штаммов H3N2 и H1N1 человека, по сравнению со штаммами этих же подтипов других хозяев, определяется, очевидно, большей продолжительностью жизни человека,

формированием у него иммунной истории к гриппозной инфекции и регулярной вакцинацией.

Различия в скорости мутации HA у подтипов H3N2 и H1N1 известны давно и подтверждаются выполненным нами анализом. За десятилетие в доминантных последовательностях HA H1 и H3 выявлено соответственно 19 и 45 замен (см. табл. 1). При таких весьма существенных различиях структура доминантных последовательностей HA H1 (как обобщенный образ HA циркулирующих в конкретном эпидсезоне штаммов вируса гриппа) представляется более резистентной к изменениям. Однако нельзя не подчеркнуть, что подавляющее большинство замен в доминантных последовательностях HA H3 приходится на последние 5 лет и являются результатом смены доминировавших штаммов на штаммы, имевшие ранее в соответствующих позициях аминокислоты с промежуточной частотой встречаемости [6], что можно рассматривать как проявление другого, по сравнению с HA H1, сценария робастности структуры доминантных последовательностей HA H3.

Одной из причин ограничения мутаций в HA H1 является запрет в его гене на кодоны аргинина с корнем ЦГ [6], что ограничивает соответственно замены по 8 аминокислотам: глицина, триптофана, цистеина, серина (в случае кодирования его кодонами с корнем АГ), пролина, лейцина (в случае кодирования его кодонами с корнем ЦУ), гистидина и глутамина. Эта особенность HA H1 представляется привлекательной для создания новых вариантов живой вакцины. Современные живые вакцины представляют собой реассортантные штаммы, полученные на основе холодадаптированных температурочувствительных доноров аттенуации [9,10]. Новые стратегии разработки живых ПГВ для обеспечения аттенуации вируса гриппа используют штаммы с усеченным NS геном, штаммы с перекодировкой генов на субоптимальные кодоны, штаммы с реорганизованным геномом (например, включение дополнительного гена HA другого подтипа), штаммы с модифицированными M и NS генами или штаммы с единственным циклом инфицирования [10,12]. Объединением стратегий перекодировки кодонов на субоптимальные и программирования генома вируса с единственным циклом инфицирования (последнее является технически сложной процедурой) могла бы быть синонимичная перекодировка кодонов аргинина HA H1 (как и других подтипов HA первой группы типа А, которым свойственно также, хотя и не полное, ограничение использования кодонов аргинина с корнем ЦГ) с разрешенным корнем АГ на кодоны с корнем ЦГ.

Безвыходная ситуация в поисках вакцины против ВИЧ стимулировала развитие в вакцинологии принципиально новых методов, вторгающихся в естественный онтогенез В-лимфоцитов с целью изменить клеточный гомеостаз их предшественников, стимулируя тех из них, которые синтезируют

антитела с широким профилем активности [13]. Поиски редких по своей природе антител с широким профилем активности и создание по ним иммуногенных слепков, как и конструирование структур эпитопов, индуцирующих синтез антител с широким профилем активности, стали другим ведущим направлением в разработке вакцины против ВИЧ [13–16]. Другое направление связано с построением векторных мозаичных вакцин. Разработка новых подходов расширила возможности вакцинологии и способствовала успеху в создании вакцины против респираторного синцитиального вируса [17]. Новый виток в поисках вакцины против ВИЧ повлиял на развитие новых поисков УВПГ через «индукцию неестественного иммунитета» [18]. Однако синтез антител с широким профилем активности является редким событием, пул В-клеток-предшественников, запрограммированных на синтез таких антител, многочисленный, а сами эти антитела обладают аномальной структурой – более длинными переменными структурами Н-цепей, порождаемыми множеством соматических мутаций их генов в герминальных центрах [13–16]. Нельзя обойти молчанием и то, что возникают такие моноклональные широко нейтрализующие антитела через месяцы и годы после инфекции, т. е. появляются, что важно подчеркнуть, в контексте хронической инфекции ВИЧ-1 и не защищают пациента от прогрессии самого заболевания [19]. В этой связи хотелось бы заметить, что в случае с ВИЧ наука столкнулась с труднейшей практической проблемой и новые методы в разработке вакцины против ВИЧ после 30 лет бесплодных поисков породили оптимизм. Но пока множится число проблем и барьеров, которые предстоит долго преодолевать.

Не находимся ли мы у границ невозможности и неопределенности в биологии в случае проблемы создания вакцины против ВИЧ. Возможно, что проблема трудностей борьбы с хроническими инфекциями обусловлена не столько неполнотой наших знаний об иммунной системе, сколько необходимостью введения в иммунологию таких фундаментальных понятий физики как сложность, необратимость, невозможность и оценивания с их помощью разрешимость проблемы. Природа породила патологические состояния и реакции на них иммунной системы различной сложности [20], и некоторые из них, возможно, следует признать как неизбежную угрозу для человечества, памятуя слова математика Р. Тома (R. Thom): «Познание не обязательно будет обещанием успеха или выживания: оно может вести также к уверенности в нашем поражении, в нашем конце» [21]. Попытки переступить границы возможного в наших поисках обречены на провал.

Сейчас в биологии и медицине существуют проблемы, решение которых ограничены не только недостаточностью фундаментальных знаний, но и тем, что мы приблизились к границе невозможного. В физике известны несколько принципов

невозможности. Один из них, устанавливаемый вторым законом термодинамики, связан с невозможностью создать вечный двигатель. Другой устанавливает невозможность передать информацию быстрее скорости света и послужил отправной точкой для построения Эйнштейном теории относительности. Третий введен Гейзенбергом и связан с невозможностью одновременного описания скорости движения электрона и его локализации.

В области иммунологии, например, при создании вакцин против хронических вирусных инфекций, мы тоже должны быть готовы признать их «невозможность» по ряду причин. Во-первых, следует признать ограниченность возможностей иммунной системы и ее защитного потенциала. Она не в состоянии противостоять не только ВИЧ. Во-вторых, функции иммунной системы не только в защите от инфекций, и попытки навязать ей действия и состояния, желаемые нашему разуму, чреватые ломкой существующего в ней клеточного гомеостаза и программ его функционирования. В-третьих, создавая шаг за шагом свои многочисленные усложняющиеся творения из клеток, эволюция позаботилась одарить их вирусами, рассеивая возникавшие их вариации по всей созданной ею иерархии живых организмов и устанавливая с хозяином различные по характеру отношения, и они особенные для ретровирусов. До 8% генома человека представлены эндогенными ретровирусами [22]. «Если бы Чарльз Дарвин появился сегодня, он, вероятно, удивился бы, узнав, что люди произошли как от обезьян, так и от вирусов» [23]. Поэтому борьба против ВИЧ – это противостояние сложившимся в эволюции механизмам интеграции геномов человека и ретровирусов, и предлагаемые сегодня методы лечения от ВИЧ посредством редактирования генома связаны с большим риском навредить поселившимся давно в геноме человека эндогенным ретровирусам, играющим важную роль в его организации и определяющим тем самым границу невозможности в борьбе с ВИЧ посредством индукции «неестественного иммунитета».

Использование штамма с доминантной последовательностью HA в качестве УПГВ по существу является созданием естественного иммунитета к вирусу гриппа. Существенные различия между подтипами и типами вируса гриппа обрекают УПГВ быть поливалентной либо мозаикой консервативных иммунных эпитопов разных вирусов гриппа, представленных в одном векторе. Попытка создать УПГВ к нескольким подтипам, используя родство подтипов HA в обеих группах вируса гриппа типа А по стеблям HA, хотя экспериментально оказалась успешной [24], по своей природе являются индукцией «неестественного иммунитета» [18], поскольку как иммунные эпитопы фрагменты стебля HA являются субдоминантными и слабыми иммуногенами [25]. Непредсказуемо, насколько успешной окажется трансляция этого подхода на человеческий организм.

В попытках преодолеть при создании УПГВ природу иммунитета следует помнить пронизательное предупреждение Ф. Крика по поводу сложности мозга: «Биолог должен руководствоваться хорошим рабочим правилом, что эволюция гораздо умнее его» [26], подчеркивающее, что работа человеческого мозга окутана глубокой тайной. Структурно-функциональная организация иммунной системы сложна и наши возможности заблуждаться относительно ее механизмов безграничны. Частичный успех, достигнутый при лечении рака путем блокирования ключевых точек иммунной системы, обернулся серьезными осложнениями [27,28].

Что повторяется с переносом идеологии и методологии разработки вакцины против ВИЧ в поиски УПГВ? Во-первых, и к антителам с перекрестной активностью еще на экспериментальном доклиническом этапе испытаний небезуспешно возникают резистентные к ним мутанты вируса гриппа, что окажется нежелательным сюрпризом для вакцин, находящихся уже на стадии клинических испытаний [29–31]. Во-вторых, анализ моноклональных антител с перекрестной активностью против разных подтипов вируса гриппа показал, как и в случае моноклональных широко нейтрализующих антител против ВИЧ, наличие выраженной аутореактивности [32]. В-третьих, у исследователей наступило прозрение относительно неадекватности экспериментальной модели гриппа: используемые в опытах грызуны наивны в отношении того многократного инфицирования вирусом гриппа, которое человек претерпевает на протяжении своей жизни, они лишены иммунного импринтинга к вирусу, свойственного человеку [10]. В-четвертых, новая волна поисков УПГВ – создание химерных и мозаичных вакцинных структур. Можно ли ожидать от них формирование прочного иммунитета? В этой связи естественно задать вопрос: почему оказались столь успешными поиски вакцин против кори, краснухи и др., а также новые поливалентных вакцины, нацеленные на несколько патогенов? Не исключено, что успех пастеровского подхода в получении вакцин (из убитых или слабовирулентных живых возбудителей) предопределяется полнотой представленности в них иммуногенных эпитопов и, соответственно, выработкой к ним поликлональных антител, обеспечивающих вовлечение разных защитных механизмов иммунной системы, что трудно достичь посредством вакцин, полученных методами генной или белковой инженерии и лишь частично отображающих антигенный образ вириона.

Разработка УПГВ – процесс длительный. Имеются ли какие-нибудь возможности для улучшения ныне используемых ПГВ? Нельзя не заметить, что рекомендуемые ВОЗ штаммы в качестве вакцинных по выделению отстают от будущего сезона, для которого они рекомендованы, как минимум на 2 года, а для H1N1 вплоть до эпидсезона 2017–2018 гг. бессменно в качестве вакцинного

предлагался штамм A/California/7/2009 H1N1. В таблице 6 приведены данные по различию между HA штаммов соответствующих последовательностей эпидсезонов и доминирующими последовательностями их HA, с одной стороны, и HA штаммов, рекомендованных ВОЗ для подтипов H3N2 и H1N1. Существенные различия, выявляемые для штаммов рекомендованных ВОЗ, особенно в случае A/Kansas/14/2017 H3N2 для предстоящего эпидсезона, аргументируют выбор вакцинных штаммов для будущего эпидсезона по доминантной последовательности HA циркулирующих в текущем эпидсезоне штаммов, что позволит снизить риски ошибочного выбора вакцинных штаммов, повысив и стабилизировав уровень эффективности ПГВ в эпидсезоны.

Пришедшее признание иммунного импринтинга в отношении гриппа открывает перспективу использовать этот феномен уже на самом раннем этапе жизненного пути человека, индуцируя иммунную память к широкому спектру разных штаммов вируса гриппа посредством вакцин с включенными в них консенсусной или доминантной последовательностями HA. Успешно развивающиеся методы белковой инженерии и реверсивной генетики снимают барьеры для трансляции их в реальность из полученных биоинформатикой последовательностей.

Завершая обсуждение возможностей и ограничений в поисках УПГВ хотелось бы подчеркнуть существование устойчивости структуры HA в вирусе гриппа H3N2 и H1N1 человека на популяционном уровне, что проявляется в ограниченности изменений доминантных последовательностей HA от одного эпидсезона к другому и сохранением в них общих протяженных идентичных фрагментов HA большинства штаммов, способных проявлять себя как иммунные эпитопы. Из этого вытекают два вывода. Первый – использование в вакцинных штаммах доминантной последовательности HA потенциально может привести к отказу от регулярного реформулирования ВОЗ состава штамма вакцин. Второй – из-за ограниченной частоты мутирования генома маловероятна возможность возникновения пандемического штамма подтипа H3N2 и H1N1 в популяции циркулирующих штаммов человека. Подверженность инфицированию вирусом гриппа многих видов животных, окружающих человека, обеспечивает ему, по сравнению с другими вирусами, превосходство по распространенности в природе и служит неиссякаемым резервуаром его воспроизведения и изменений генома, результатом которых может быть формирование штаммов с пандемическим потенциалом. Сильные отличия HA штаммов H3N2 и H1N1 птиц и свиньи от штаммов человека не исключают возможности возникновения новых возбудителей пандемии, и поэтому не следует усматривать птичьих подтипы H5N1, H7N9 и др. как наиболее потенциальную угрозу в возникновении новых пандемий.

Возбудитель пандемии гриппа 2009–2010 гг. под-типа H1N1, резко отличаясь структурой своего HA, вытеснил циркулировавшие до него штаммы H1N1. Не исключено, что история с возникновением пандемии гриппа может повториться и виновником новой пандемии окажется новый реассортант под-типа H1N1 с иной комбинацией источников генов. Поэтому для ВОЗ в противостоянии пандемиям

гриппа более реалистичной представляется не стратегия изготовления, тестирования и складирования нескончаемого множества вакцин без шанса быть использованными [1], а непрерывный глобальный мониторинг молекулярных (генетических) характеристик циркулирующих в природе штаммов вируса гриппа, нацеленный на выявление траектории формирования препандемических штаммов.

Литература

1. Erbeling EJ, Post DJ, Stemmy EJ et al. Universal Influenza Vaccine: The Strategic Plan for the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. // *Journal of Infectious Diseases* 2018. Vol. 218. P. 347–354. doi: 10.1093/infdis/jiy103. *J. Infect. Dis.* 2019. Vol. 219 (Supplement_1). doi: 10.1093/infdis/jiy696.
2. Zost SJ, Wu NC, Hensley SE. Immunodominance and Antigenic Variation of Influenza Virus Hemagglutinin: Implications for Design of Universal Vaccine Immunogens. *J Infect Dis.* 2019 Apr 8; 219 (Supplement_1). doi: 10.1093/infdis/jiy696.
3. https://www.who.int/influenza/global_influenza_strategy_2019_2030/en/
4. Cohen J. Universal flu vaccine is 'an alchemist's dream'. // *Science*. 2018. Vol. 362.N 6419. P. 1094. doi: 10.1126/science.362.6419.1094. https://www.who.int/influenza/global_influenza_strategy_2019_2030/en/.
5. Харченко Е.П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019. Т. 18, № 1. С. 4–17.
6. Харченко Е.П. Три уровня прогнозирования штаммов вируса гриппа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019. Т. 18, № 2. С. 4–17.
7. Giles BM, Ross TM. A computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) based H5N1 VLP vaccine elicits broadly reactive antibodies in mice and ferrets. // *Vaccine*. Vol. 29, P. 3043–3054. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.100.
8. Sautto GA, Kirchenbaum GA, Ross TM. Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. // *Virology Journal*. 2018. Vol. 15, P. 17–31. DOI 10.1186/s12985-017-0918-y.
9. Isakova-Sivak I, Rudenko L. Safety, immunogenicity and infectivity of new live attenuated influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2015; Vol. 14. N 10. P:1313–1329. doi: 10.1586/14760584.2015.1075883.
10. Rudraraju R, Mordant F, Subbarao K. How live attenuated vaccines can inform the development of broadly cross-protective influenza vaccines. // *J Infect Dis.* 2019. Vol. 219 (Supplement_1): S81–S87. doi: 10.1093/infdis/jiy703.
11. Blanco-Lobo P, Nogales A, Rodriguez L. et al. Novel approaches for the development of live attenuated influenza vaccines. // *Viruses*. 2019. Vol. 11, N 2. pii: E190. doi: 10.3390/v11020190.
12. Martínez MA, Jordan-Paiz A, Franco S, et al. Synonymous virus genome recoding as a tool to impact viral fitness. // *Trends Microbiol.* 2016. Vol. 24. N 2. P. 134–147. doi: 10.1016/j.tim.2015.11.002.
13. Kwong PD, Mascola JR. HIV-1 Vaccines based on antibody identification, b cell ontogeny, and epitope structure. // *Immunity*. 2018. Vol. 48, N 5. P. 855–871. doi: 10.1016/j.immuni.2018.04.029.
14. Burton DR. Advancing an HIV vaccine advancing vaccinology. // *Nat Rev Immunol.* 2019. Vol. 19, N 2. P. 77–78. doi: 10.1038/s41577-018-0103-6.
15. Sok D, Burton DR. Recent progress in broadly neutralizing antibodies to HIV. // *Nat Immunol.* 2018. Vol. 19, N 11. P. 1179–1188. doi: 10.1038/s41590-018-0235-7.
16. Andrabi R, Bhiman JN, Burton DR. Strategies for a multi-stage neutralizing antibody-based HIV vaccine. // *Curr Opin Immunol.* 2018. Vol. 53. P. 143–151. doi: 10.1016/j.coi.2018.04.025.
17. Graham BS, Gilman M.S.A., McLellan JS. Structure-based vaccine. // *Annu. Rev. Med.* 2019. Vol. 70, P. 91–104. doi: 10.1146/annurev-med-121217-094234.
18. Nabel GJ, Fauci AS. Induction of unnatural immunity: prospects for a broadly protective universal influenza vaccine. // *Nat Med.* 2010. Vol. 16, N. 12. P. 1389–1391. doi: 10.1038/nm1210-1389.
19. Benmira S, Bhcilachaiyu V, Schmid M. L. An effective HIV vaccine: A combination of humoral and cellular immunity? // *Curr. HIV Res.* 2010. Vol. 8, P. 44 1–449.
20. Харченко Е. П. Иммунная привилегия: патологический аспект // *Иммунология*. 2009. Т. 30. N. 4. С. 249–255.
21. Thom R. Catastrophe theory: its present state and future perspectives. Warwick. Springer Verlag. 1974. 75 p.
22. Johnson WE. Endogenous retroviruses in the genomics era. // *Annu. Rev. Virol.* 2015. Vol. 2, P. 135–159. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-054945.
23. Walkup L 'Junk' DNA: evolutionary discards or God's tools? // *Journal of creation (Technical Journal)* 2000. Vol. 14, P. 18–30.
24. Krammer F, Palese P. Universal influenza virus vaccines that target the conserved hemagglutinin stalk and conserved sites in the head domain. // *J. Infect. Dis.* 2019. Vol. 219 (Supplement_1): S62–S67. doi: 10.1093/infdis/jiy711.
25. Tan H. -X., Jegaskanda S., Juno JA et al. Subdominance and poor intrinsic immunogenicity limit humoral immunity targeting influenza HA-stem. // *J. Clin. Invest.* 2018. Vol. 129, N 2. P. 850–862. doi: 10.1172/JCI123366.
26. Crick FH. Thinking about the brain. // *Sci. Am.* 1979. Vol. 241, N 3. P. 181–188.
27. June CH, Warshauer JT, Bluestone JA. Is autoimmunity the Achilles' heel of cancer immunotherapy? // *Nature Medicine* 2017. Vol. 23, N. 5. P. 540–547. doi:10.1038/nm.4321.
28. Chang LS, Barroso-Sousa R, Tolaney SM, et al. Endocrine toxicity of cancer immunotherapy targeting immune checkpoints. // *Endocr Rev.* 2019. Vol. 40, N 1. P. 17–65. doi: 10.1210/er.2018-00006.
29. Chai N, Swem LR, Reichelt M, et al. Two escape mechanisms of influenza A virus to a broadly neutralizing stalk-binding antibody. // *PLoS Pathog.* 2016. Vol. 12, N 6. P. e1005702. doi: 10.1371/journal.ppat.1005702.
30. Prachanonarong KL, Canale AS, Liu P, et al. Mutations in influenza A virus neuraminidase and hemagglutinin confer resistance against a broadly neutralizing hemagglutinin stem antibody. // *J. Virol.* 2019. Vol. 93, N 2. P. e01639–18. doi: 10.1128/JVI.01639-18.
31. Zost S.J., Wu N.C., Hensley S.E. et al. Immunodominance and antigenic variation of influenza virus hemagglutinin: implications for design of universal vaccine immunogens. // *J. Infect. Dis.* 2019. Vol. 219 (Supplement_1): S38–S45. doi: 10.1093/infdis/jiy696.
32. Bajic G, van der Poel C.E., Kuraoka M. et al. Autoreactivity profiles of influenza hemagglutinin broadly neutralizing antibodies. // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, N 1. P. 3492. doi: 10.1038/s41598-019-40175-8.

References

1. Erbeling EJ, Post DJ, Stemmy EJ et al. Universal Influenza Vaccine: The Strategic Plan for the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. // *Journal of Infectious Diseases* 2018. Vol. 218. P. 347–354. doi: 10.1093/infdis/jiy103.
2. Zost SJ, Wu NC, Hensley SE. Immunodominance and Antigenic Variation of Influenza Virus Hemagglutinin: Implications for Design of Universal Vaccine Immunogens. *J Infect Dis.* 2019 Apr 8; 219 (Supplement_1). doi: 10.1093/infdis/jiy696. doi: 10.1093/infdis/jiy696.
3. https://www.who.int/influenza/global_influenza_strategy_2019_2030/en/
4. Cohen J. Universal flu vaccine is 'an alchemist's dream'. // *Science*. 2018. Vol. 362.N 6419. P. 1094. doi: 10.1126/science.362.6419.1094.
5. Kharchenko EP. Optimization of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18 (1): 4–17. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17.
6. Kharchenko EP. Three Levels of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18 (2): 4–17. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-2-4-17.
7. Giles BM, Ross TM. A computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) based H5N1 VLP vaccine elicits broadly reactive antibodies in mice and ferrets. // *Vaccine*. Vol. 29, P. 3043–3054. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.100.
8. Sautto GA, Kirchenbaum GA, Ross TM. Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. // *Virology Journal*. 2018. Vol. 15, P. 17–31. DOI 10.1186/s12985-017-0918-y.
9. Isakova-Sivak I, Rudenko L. Safety, immunogenicity and infectivity of new live attenuated influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2015; Vol. 14. N 10. P: 1313–1329. doi: 10.1586/14760584.2015.1075883.
10. Rudraraju R., Mordant F., Subbarao K. How live attenuated vaccines can inform the development of broadly cross-protective influenza vaccines. // *J Infect Dis.* 2019. Vol. 219(Supplement_1): S81–S87. doi: 10.1093/infdis/jiy703.
11. Blanco-Lobo P, Nogales A, Rodriguez L. et al. Novel approaches for the development of live attenuated influenza vaccines. // *Viruses*. 2019. Vol. 11, N 2. pii: E190. doi: 10.3390/v11020190.
12. Martínez MA, Jordan-Paiz A, Franco S, et al. Synonymous virus genome recoding as a tool to impact viral fitness. // *Trends Microbiol.* 2016. Vol. 24. N 2. P. 134–147. doi: 10.1016/j.tim.2015.11.002.

13. Kwong PD., Mascola JR. HIV-1 Vaccines based on antibody identification, b cell ontogeny, and epitope structure. // *Immunity*. 2018. Vol. 48, N 5. P. 855-871. doi: 10.1016/j.immuni.2018.04.029.
14. Burton DR. Advancing an HIV vaccine advancing vaccinology. // *Nat Rev Immunol*. 2019. Vol. 19, N 2. P. 77–78. doi: 10.1038/s41577-018-0103-6.
15. Sok D, Burton DR. Recent progress in broadly neutralizing antibodies to HIV. // *Nat Immunol*. 2018. Vol. 19, N 11. P. 1179–1188. doi: 10.1038/s41590-018-0235-7.
16. Andrabi R, Bhiman JN, Burton DR. Strategies for a multi-stage neutralizing antibody-based HIV vaccine. // *Curr Opin Immunol*. 2018. Vol. 53. P. 143–151. doi: 10.1016/j.coi.2018.04.025.
17. Graham BS., Gilman M.S.A., McLellan JS. Structure-based vaccine. // *Annu. Rev. Med*. 2019. Vol. 70, P. 91–104. doi: 10.1146/annurev-med-121217-094234.
18. Nabel GJ, Fauci AS. Induction of unnatural immunity: prospects for a broadly protective universal influenza vaccine. // *Nat Med*. 2010. Vol. 16, N. 12. P. 1389–1391. doi: 10.1038/nm1210-1389.
19. Benmira S., Bhcilachaiyu V., Schmid M. L. An effective HIV vaccine: A combination of humoral and cellular immunity? // *Curr. HIV Res*. 2010. Vol. 8, P. 44 1–449.
20. Харченко Е. П. Иммунная привилегия: патологический аспект // *Иммунология*. 2009. Т. 30. N. 4. С. 249–255.
21. Thom R. Catastrophe theory: its present state and future perspectives. Warwick. Springer Verlag. 1974. 75 p.
22. Johnson W.E. Endogenous retroviruses in the genomics era. // *Annu. Rev. Virol*. 2015. Vol. 2, P. 135–159. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-054945.
23. Walkup L 'Junk' DNA: evolutionary discards or God's tools? // *Journal of creation (Technical Journal)* 2000. Vol. 14, P.18–30.
24. Krammer F, Palese P. Universal influenza virus vaccines that target the conserved hemagglutinin stalk and conserved sites in the head domain. // *J. Infect. Dis*. 2019. Vol. 219 (Supplement_1): S62–S67. doi: 10.1093/infdis/jiy711.
25. Tan H.-X., Jegaskanda S., Juno JA et al. Subdominance and poor intrinsic immunogenicity limit humoral immunity targeting influenza HA-stem. // *J. Clin. Invest*. 2018. Vol. 129, N 2. P. 850–862. doi: 10.1172/JCI123366.
26. Crick FH. Thinking about the brain. // *Sci. Am*. 1979. Vol. 241, N 3. P. 181–188.
27. June CH., Warshauer JT., Bluestone JA. Is autoimmunity the Achilles' heel of cancer immunotherapy? // *Nature Medicine* 2017. Vol. 23, N. 5. P. 540–547. doi:10.1038/nm.4321.
28. Chang LS., Barroso-Sousa R., Tolaney SM. et al. Endocrine toxicity of cancer immunotherapy targeting immune checkpoints. // *Endocr Rev*. 2019. Vol. 40, N 1. P. 17–65. doi: 10.1210/er.2018-00006.
29. Chai N, Swem LR, Reichelt M, et al. Two escape mechanisms of influenza A virus to a broadly neutralizing stalk-binding antibody. // *PLoS Pathog*. 2016. Vol. 12, N 6. P. e1005702. doi: 10.1371/journal.ppat.1005702.
30. Prachanronarong KL., Canale AS., Liu P. et al. Mutations in influenza A virus neuraminidase and hemagglutinin confer resistance against a broadly neutralizing hemagglutinin stem antibody. // *J. Virol*. 2019. Vol. 93, N 2. P. e01639–18. doi: 10.1128/JVI.01639-18.
31. Zost S.J., Wu N.C., Hensley S.E. et al. Immunodominance and antigenic variation of influenza virus hemagglutinin: implications for design of universal vaccine immunogens. // *J. Infect. Dis*. 2019. Vol. 219 (Supplement_1): S38–S45. doi: 10.1093/infdis/jiy696.
32. Bajic G., van der Poel C.E., Kuraoka M. et al. Autoreactivity profiles of influenza hemagglutinin broadly neutralizing antibodies. // *Sci Rep*. 2019. Vol. 9, N 1. P. 3492. doi: 10.1038/s41598-019-40175-8.

Об авторе

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

Поступила: 12.08.2019. **Принята к печати:** 20.09.2019.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Author

- **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: 12.08.2019. **Accepted:** 20.09.2019.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ERRATA

В журнале Эпидемиология и Вакцинопрофилактика (2019;18 (4): 93-100) допущена ошибка в инициалах одного из авторов статьи «Влияние вакцинации против пневмококковой инфекции и гриппа на клиническое течение бронхиальной астмы» указано Протасов А. В. должно быть – Протасов А. Д.