

УДК578:23 578.1/2 578.08

§. К. ЧУВАКОВА, Р. ИКРАНБЕГИЙН

МЕХАНИЗМЫ СОХРАНЕНИЯ ВИРУСА ГРИППА А В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

(Представлена академиком НАН РК А.Н. Илялетдиновым)

Представлены итоговые результаты исследований по диагностике и изучению персистенции вируса гриппа в природных популяциях. Выявлены возможные механизмы сохранения вируса гриппа А в природе, в том числе в организме человека. Полученные результаты дают предполагать, что ts-мутация является механизмом антигенного шифта и повторного включения в циркуляцию основных подтипов, а наличие в крови иммунотолерантных людей дефектных интерферирующих ДИ-частиц, в виде микст-инфекции может стать предпосылкой появления пандемического варианта вируса гриппа в природе.

Обнаружение у вируса гриппа способности к латенции в организме матери, плода новорожденного [1–3] со всеми вытекающими отсюда последствиями требует разработки надежных диагностических средств для массового скрининга биоматериалов со скрытой гриппозной инфекцией. Существует несколько способов диагностики латентного гриппа: иммуноферментный анализ для детекции целого вируса [4]; молекулярная гибридизация [5]; детергент-тест [6]. Первый способ недостаточно эффективен ввиду неконтролируемой изменчивости гемагглютинина, второй используется только в научно-исследовательских работах, а детергент-тест недостаточно чувствителен и специфичен.

Наиболее подходящим вирусным белком для детекции персистирующего вируса является нуклеопротеин, так как он консервативен и доминирует при латентной инфекции. Однако до настоящего времени нуклеопротеин не используется при конструировании иммуноферментных тест-систем, что связано с трудностями по изоляции и очистке от примесных белков.

В 1986–1988 гг. нами с помощью собственных разработанных методов были впервые получены прямые доказательства носительства вирусных агентов в крови родильниц и трансплацентарной передачи вируса плоду [6,7]. Установлено, что антигемия у матери сопровождается вiremией в соотношении 1:2, а потомство вирионов, репродуцированных от изолятов, представляет собой частицы, состоящие в основном из рибонуклеопротеида с низким содержанием

гемагглютинирующего антигена [1, 8]. Полученные данные согласуются с результатами последующих наших исследований, показывающих, что NP-белок более представляем при персистентной инфекции [9]. Из изложенных фактов следует, что при диагностике персистентных инфекций необходимо ориентироваться на индикацию нуклеопротеидного белка, тогда как существующие методы диагностики направлены на обнаружение гемагглютинирующего антигена. В связи с этим разработанная нами иммуноферментная тест-система на основе нуклеопротеидного белка является решением данной важной, диагностической проблемы персистенции вируса гриппа А.

Таким образом, нами сконструирована надежная диагностическая тест-система МИФА для детекции минимальных количеств NP антигена в биоматериалах. Преимущества предлагаемого способа перед существующими иммуноферментными системами на твердой фазе для выявления NP антигена заключаются в более высокой чувствительности и специфичности, возможности сокращения времени исполнения анализа в 4 раза, возможности осуществлять диагностику без применения дорогостоящей специализированной аппаратуры, возможности экономии объема исследуемых реактивов и реагентов, затрачиваемых на один анализ [10, 11].

Проблема невынашивания беременности чрезвычайно актуальна как для Казахстана, так и повсеместно, что обусловлено относительным постоянством частоты невынашивания (10–30%)

и отрицательным влиянием на показатели перинатальной заболеваемости и смертности. Наиболее высокая частота прерывания беременности происходит в первом триместре (75–80%), что является своего рода инструментом естественного отбора путем элиминации аномально развивающегося или погибшего эмбриона.

Без сомнения, особую опасность при беременности из-за широкого распространения и выраженных постинфекционных осложнений представляет гриппозная инфекция. В период эпидемических вспышек и после них острая форма этой инфекции играет ведущую роль в плацентарной передаче от матери к плоду со всеми вытекающими последствиями для здоровья матери и новорожденного [12, 13]. Ретроспективными исследованиями было показано, что в группе родильниц с лабораторно подтвержденной антигенемией частота патологий беременности гораздо выше, чем в контрольной группе женщин с отрицательными результатами вирусологической диагностики [2]. Несмотря на повсеместное и систематическое распространение гриппа, а также на опасность развития постгриппозных осложнений, у физиологически иммунотолерантных беременных отсутствуют систематические исследования роли персистентной гриппозной инфекции в этиологии невынашивания беременности, остаются нерешенными вопросы частоты самопроизвольных абортов, преждевременных родов, привычного невынашивания беременности, обусловленные персистенцией вирусов гриппа в организме беременных. В отличие от острой формы инфекции при персистентной, в том числе латентной, вирус репродуцируется по abortивному типу и представлен в организме в виде субвирионных структур или дефектных форм, которые трудно обнаружить рутинными методами диагностики. В связи с этим с помощью разработанного МИФА нам удалось обнаружить наличие антигенами в биоматериалах взятых от женщин с диагнозом «привычное невынашивание» [14–16]. Полученные данные свидетельствуют о том, что угроза прерывания беременности и спонтанные аборт могут происходить не только при острой, но и латентно протекающей форме гриппа. Эмбриотоксическое действие вируса, вероятно, может быть прямым и опосредованным в результате нарушения клеточной

структуры и обменных процессов в клетках хориона и сосудистого эндотелия. Учитывая, что при персистенции оболочечных вирусов, включая и вирус гриппа, происходит повышение проницаемости мембран и нарушение функций дифференцированных клеток организма [17, 18], можно предположить участие обнаруженных нами гриппозных антигенов и вирусов в нарушении выработки клетками желтого тела, хориона и плаценты гормонов, в том числе прогестерона, необходимых для нормального прогрессирования беременности.

Современное понимание механизмов персистентной инфекции включает отмену защитной лимфоцитарно-макрофагальной функции как одного из путей избежания возбудителем иммунологического надзора организма хозяина. В связи с этим явление вирусной персистенции при беременности может быть связано, во-первых, с естественной супрессией иммунной системы материнского организма, во-вторых, с вирусиндуцированной иммуносупрессией вследствие репликации и длительного сохранения в лимфоцитах, моноцитах и альвеолярных макрофагах вируса гриппа [19]. Избежанию иммунного ответа хозяина, по-видимому, может также способствовать сиалирование вирусных частиц, которое характерно для персистентных форм вируса гриппа с дефицитом нейраминидазной активности [1, 3, 20]. Можно предположить, что синергидное влияние естественной и вирусиндуцированной иммуносупрессии вместе с прямым повреждающим действием вирусов на проницаемость мембран дифференцированных клеток [1] способствует хроническому состоянию угрозы прерывания и привычного невынашивания беременности.

В основе изменчивости вирусов при персистенции лежит возникновение множественных мутаций, проявлением при которых служат структурные и конформационные изменения некоторых вирусных белков, что отражается на их электрофоретической подвижности. В последнее десятилетие многие исследователи отмечают низкую агглютинирующую активность современных штаммов вирусов гриппа *A/H1N1* и *A/H3N2* [21]. В работе [22] показано, что в основе утраты современными штаммами (изолированными после 1986 г.) способности агглютинировать эритроциты кур, но не эритроциты морских свинок и человека, лежат мутации в 4-м сегменте генома,

кодирующего *HA*.

Показано также, что природные изоляты, выделенные нами из крови беременных женщин с диагнозом «привычное невынашивание» и «рассеянный склероз» А/Алматы/1/98 (HSWINI), А/Алматы/5/98 (HSWINI), А/Алматы/32/98 (HSWINI), а также выделенный из легких погибших тюленей во время эпизоотии на Каспии 2000 г. А/Seal/Kasp/1/00 (H7N7) и их первичные материалы агглютинировали эритроциты морских свинок и человека, но не эритроциты кур [23, 24]. Электронно-микроскопическое, электрофоретическое и функциональное изучение очищенных препаратов вирионов (и их фракций, полученных простым центрифугированием) персистирующих изолятов, выделенных из крови, без симптомов гриппа, от соматических больных детей раннего возраста, от беременных женщин с привычным невынашиванием неясной этиологии, а также от диких и домашних животных показало, что все эти природные варианты вируса гриппа имеют сходные черты. Функционально это выражается также в отсутствии нейраминидазной активности, блокировании гемагглютинирующей активности, выраженной фузионной активности и отсутствии репродукции в непермиссивной температуре.

Спектр белков персистирующих изолятов характеризуется наибольшей представленностью белка *HA* и нуклеопротеидного белка и отсутствием мембранного белка и белка *NA* (в условиях чувствительности метода обнаружения белковых полос путем окраски гелей кумасси после электрофореза в 10% ПААГ). Молекулы *HA* представлены едиными полипептидными цепями *HAO*, организованными в тримеры. В присутствии восстанавливающего агента *HAO* не разделялись на тяжелую и легкую цепи, что свидетельствует о нерасщепленной молекуле *HA*. Полученные морфологические данные указывают на их сходство с продуктами экспериментальной abortивной гриппозной инфекции [25] и модельных персистентных парамиксовирусных инфекций. Весьма вероятно, что нуклеокапсиды могут высвободиться из клеток путем вакуолизации и циркулировать в крови в виде нуклеосом либо цитодеструкции, обусловленной их аккумуляцией в значительных количествах, а также путем слияния участков мембран пораженных клеток, тесно контактирующих с сосед-

ними незараженными клетками. Блокирование протеолитической активности *HA* может происходить вследствие отсутствия нейраминидазной активности, или в результате неполного функционального несоответствия генов *HA* и *NA*. Но поскольку исследуемые изоляты были инфекционны и обладали выраженной фузионной активностью, отсутствие диссоциации цепей *HA*, вероятно, нельзя объяснять тем, что во время процессинга не происходит разрезания мономера, так как считается что *HA2* активен только при расщепленной форме *HA*. Нерасщепленный *HA* способствует прикреплению вируса к клетке, но не способен инициировать инфекцию без выполнения фузионной активности [26].

Возможно, субъединицы *HA1* и *HA2* удерживаются вместе за счет стабилизации конформации молекул олигосахаридными цепочками либо последние так маскируют участок, на который действуют клеточные протеазы, что расщепления во время процессинга не происходит. В нашей постановке электрофореза в восстанавливающих условиях не происходит разделения двух субъединиц *HA*.

Наличие в природных популяциях изолятов частиц с дефицитом нейраминидазной активности, на наш взгляд, является одним из механизмов, препятствующих элиминации вируса из организма. Сиалированные вирионы долгое время остаются связанными с клетками респираторных органов, они ускользают от иммунного давления, так как поверхностный антиген находится в замаскированном состоянии, ввиду чего является слабым иммуногеном и плохо связывается с иммуноглобулинами. Наше мнение согласуется с данными [27] о связи наличия потенциальных сайтов гликолизирования с маскированием антигенных эпитопов у большинства штаммов вируса гриппа *B*, дрейф которого в природе не зависит от иммунного селективного давления, а также возможной аналогии с вирусами *A/H1N1* и *A/H3N2*. Обнаружение нами персистирующих вирусов в крови детей раннего возраста, беременных женщин, а также домашних и диких животных без симптомов острой гриппозной инфекции может быть объяснено экспериментальными данными о преимущественном выживании в популяции вариантов вирусов, в которых единичные замены аминокислот в структурах «головки» фермента повлекли за со-

бой нарушение образования тетраметров в шероволатом эндоплазматическом ретикулуме, транспорта фермента к мембране и его инкорпорации в вирионы, как это было показано в экспериментах с *ts*-мутантами штамма A/WSN, а также реассортантным вирусом 113/НО (H7N2) во время культивирования при непермиссивной температуре [28].

Несмотря на дефектность природных персистирующих вариантов по *M*-белку, *NA*, блокированному и нерасщепленному *HA*, при заражении *KЭ* изолятами происходит репродукция вирусного потомства с нарушенным морфогенезом, характеризующимся хрупкостью и отпадением поверхностных структур – шипиков. В норме для почкования полноценных вирусных частиц критически необходимы зрелые пепломеры *HA*, *NA* и молекулы *M* белка [26]. Все это свидетельствует о принципиальной возможности формирования некомплектных вирионов в потомстве исследованных нами природных персистирующих вариантов вируса гриппа.

Таким образом, в результате исследований структурно-функциональной и морфологической организации персистирующих изолятов вируса, выделенных из крови женщин, а также диких и домашних животных, нами впервые показано, что характерными чертами фенотипа природного персистирующего вируса гриппа является дефицит *NA*, сиамирование поверхности вирусных частиц, блокирование *HA* и дефект *M* и *NSI* белков. Но в дальнейшем, при адаптации к *KЭ*, зарегистрирована ферментативно-активная нейраминидаза. Этот факт согласуется с результатами исследований Boss and Nayak (1990) об обратимости точечных мутаций *b*-плоскости «головки» фермента, которые ведут к нарушению тетрамеризации полипептида и включения в оболочку вируса. С отсутствием нейраминидазной активности природного персистирующего изолята, как и в экспериментах с *ts*-мутациями гена *A* [28], связана наблюдаемая нами усиленная сиализация и агрегация молекул *HA*. Другой путь нарушения синтеза и созревания «поздних» белков может быть связан с синтезом в клетках, инфицированных персистирующими изолятами, белка, идентифицированного согласно данным Jucas et al. [29] как делетированный продукт гена *NS*. Treanor et al. [30] установили возможность восстановления функции дефектного *NSI* белка

за счет реверсии *вал* –23– *ала* на –спирали вторичной структуры *N*-терминального конца полипептида, компенсирующей делецию аминокислотных остатков в участке 66-77. Вероятно, обратимость мутаций в *NS*- и *NA*-генах является одним из механизмов реактивации персистирующих вирусов [31].

Таким образом, мы предполагаем, что такие генетические механизмы, как нарушение транскрипции *mPHK*, изменения рамок считывания в 7, 8 генах, *ts*-мутации в 6-генах, ответственные, по мнению Friell et al. (1984), за фенотип персистенции вируса гриппа *in vitro*, возможно, действуют и при персистенции межэпидемических и межпандемических вариантов вирусов [31]. Обнаруженные нами при изучении аминокислотной последовательности гена *HA1* исследуемых изолятов после адаптации к *KЭ* мутации в основных антигенно- и функционально-значимых сайтах указывают на то, что одним из механизмов персистенции в природных популяциях является *ts*-мутация, благодаря которой вирус гриппа ускользает от иммунного надзора организма. А при адаптации к *KЭ* *ts*-мутанты восстанавливаются генетически, а также в их структурно-функциональных и биологических свойствах происходят изменения, например, они становятся термоустойчивыми и нейровирулентными.

Многие оболочечные вирусы могут осуществлять клеточное повреждение в условиях, включающих активную вирусную репродукцию. В экспериментах на лабораторных животных и клеточных культурах идентифицированы молекулярные структуры вируса гриппа *A*, обладающие токсическим действием, и впервые установлено, что изолированные гликопротеиды способны индуцировать у мышей врожденную медленную инфекцию, характеризующуюся феноменом «карликовости», “nude” (облысение), с тотальным поражением важнейших систем организма потомства с их последующей гибелью [32,33]. В наших исследованиях вирус, изолированный из органов карликовых мышат, был полноценным, активно репродуцировал на *KЭ*. А вирус же, персистировавший в организме самки и изолированный из крови, был дефектен по нейраминидазной активности, сохранял фузионную активность, а гемагглютинирующую активность проявлял только с помощью гетерологичной нейрамини-

дазы. При патоморфологическом исследовании тканей головного мозга, легких, миокарда и печени на фоне отсутствия воспалительных явлений были обнаружены дистрофические и дегенеративные изменения. Для белого вещества стволовых отделов мозга и мозжечка было характерно развитие признаков губчатой энцефалопатии. Результаты же наших опытов по изучению патогенности природных дефектных изолятов, адаптированных к КЭ, практически подтвердили предыдущие данные, что при персистенции вируса гриппа патологический процесс в организме происходит по дистрофическому и дегенеративному изменению. Кроме *ts*-мутантов при изучении персистенции вируса гриппа в природных популяциях нами также обнаружены дефектные интерферирующие вирусы (*DI*-частицы). В отличие от *ts*-мутантов *Ди*-частицы не адаптировались к КЭ, хотя их дефектность также выражалась в отсутствии нейраминидазной активности, *M*- и *NS1*-белков, сиилировании поверхности вирусных частиц, блокировании *НА*. При чем *Ди*-частицы обнаруживались только при микстинфекции. На наш взгляд, смешанные персистирующие вирусы гриппа в организме иммуноtolерантных людей появляются при повторном инфицировании разными серотипами циркулирующими в момент инфицирования. Из-за иммунодефицита индивидуума новый серотип может тоже переходить в хроническую форму и таким образом усугублять дистрофические и дегенеративные изменения в организме человека. *Ди*-частицы становятся зависимыми от вируса помощника, т.е. для восстановления утраченных генетических функций они требуют в естественных условиях повторного заражения клеток хозяина родственным вирусом-помощником. При этом *Ди*-частицы угнетают репликацию вируса-помощника, используя продукты его генов для своей репликации. Это может привести к реассортации двух вариантов и появлению нового штамма вируса гриппа. Возможно, именно таким реассортантом и является выделенный нами изолят *A/Seal/Kasp/2/00 (H7N1)*, так как он по *НА* относится к вирусу чумы птиц, а по нейраминидазе – к *A/Sw/Iowa/15/30*. Такой реассортант при определенных условиях может превратиться в вирус «Андромеду», который способен моментально распространиться по миру унося собой десятки, миллионы жизни людей, и стать новой

пандемией.

В последнее время разными авторами получены доказательства того, что *дсРНК* вирусного происхождения может запускать две программы клеточной защиты при вирусной инфекции. Одна предусматривает снижение скорости синтеза хозяйских клеточных белков и таким путем препятствует вирусной репликации. Эта программа действует опосредованно через протеинкиназы и *РНК-азы L*, и заключается в самозелиминации инфицированных клеток путем их апоптоза. Вторая ответственна за продукцию антивирусных интерферонов I и других сигнальных цитокинов и требует выживания инфицированных клеток путем экспрессии антиапоптотических генов через активацию фактора транскрипции *NF-kappa b*. Обе *дсРНК*-активированные программы функционируют независимо друг от друга [34].

Установлен неожиданный факт [35]. Клетки мышинных фибробластов, зараженные вирусом вакцины, погибали по некротическому пути, если клетки обрабатывали *ФНО-альфа* (фактор некроза опухолей). Этого не происходило, если клетки инфицировали мутантным штаммом вируса вакцины (мутация по отсутствию каспазного ингибитора *B13R*). Более того, *ФНО-альфа* также индуцировал некротическую гибель клеток в присутствии пептидных каспазных ингибиторов. В обоих случаях некроз сопровождался генерацией суперкапсидных радикалов. Каспазные ингибиторы сенсибилизировали клетки к гибели под воздействием *дсРНК* и гамма-ИФ. Во всех случаях гибель клеток блокировалась антиоксидантами или ингибиторами митохондриальной дыхательной цепи. Установлен новый митохондриально-зависимый механизм, имеющий значение в гибели клеток, инфицированных вирусами, кодирующими каспазные ингибиторы. Не исключено, что персистентные формы вирусов гриппа не только имеют мутации по определенным генам, возможно, они также имеют мутации по отсутствию каспазного ингибитора *B13R*. В нашем опыте по изучению цитопатического действия *дсРНК* штамма *A/Алматы/5/98* в предельных разведениях и в дозе 10^3 ЕИД₅₀ через 24 ч инкубации вызывал апатическую гибель клеток *ХАО КЭ*. Эти данные подтверждались при изучении цитопатического действия цельного вируса гриппа тюленей *A/H7N7*. Электрофоретичес-

кий анализ ДНК, выделенной из клеток, инфицированных отклоненным вирусом гриппа тюленей A/H7N7, показал дозозависимую межнуклеосомную фрагментацию ДНК.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований показывают, что механизмом сохранения вирусов гриппа в природных популяциях является персистенция. Персистенция, в свою очередь, происходит в том случае, когда инфицируемый индивидуум страдает первичным иммунодефицитом по физиологическим состояниям (беременность) и по соматическим заболеваниям. Главным фактором становления персистентной формы вируса служит при этом недостаточный гуморальный иммунный ответ индивидуума на вирусную инфекцию, вследствие чего вирус переходит в хроническую форму, ведущую собственно в персистенцию. Механизмом же персистенции являются *ts*- мутация (обратимая) и дефектные интерферирующие вирусы – *DI*-частицы (необратимая мутация). По нашему мнению, *ts*-мутанты являются механизмом возникновения антигенного дрейфа или шифт-варианта, а *DI*-частицы, возможно – механизмом появления нового реассортанта или нового пандемического варианта вируса гриппа А в природных популяциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чувакова З.К. Реликтовые вирусы гриппа А (H1N1), биология и значение на современном этапе эволюции возбудителя: Докт. дис. 1993. 101 с.
2. Жубаньшова К.Б. Клинико-иммунологическая характеристика новорожденных от матерей с персистентной гриппозной инфекцией: Автореф. канд. дисс. Алматы, 1995. С. 21.
3. Шаменова М.Г. Природные вирусы гриппа с дефицитом нейраминидазной активности: Канд. дис. 1999. С. 128.
4. Христова М.Л. и др. Индикация вируса гриппа в клинических образцах с помощью иммуноферментного и лантанидного иммунофлюоресцентного анализов // Вопр. вирус. 1989. №5. С. 538-542.
5. Fouchier RA, Bestebroer TM, Herfst S, et al. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene // J Clin Microbiol. 2000. Nov; 38(11): 4096-101.
6. Исаева Е.С., Толмачева В.П., Чувакова З.К. и др. Способ ранней диагностики гриппа. А.С. №1630488.-1990.
7. Чувакова З.К., Исаева Е.С., Шаменова М. и др. Способо диагностики гриппа: А.с. № 1510533. 1989.
8. Чувакова З.К., Ким Э.В., Чувакова Т.К., Исмаилова Ю.С., Шаменова М.Г., Жубаньшова К.Б. Вертикальная передача вируса гриппа от матери плоду // Микрососудистое русло в условиях патологии и эксперименте. Алматы, 1992. С. 114-116.
9. Фурсова Л.М., Чувакова З.К., Шаменова М.Г., Попова Е.И. Структурно-функциональные особенности межэпидемического изолята вируса гриппа А // Биология вирусов гриппа человека и животных. Алматы, 1991. С. 126-129.
10. Чувакова З.К., Кирилова Л.В., Фурсова Л.М., Икранбегийн Р. Иммуногенные и протективные свойства нативного препарата нуклеопротеина вируса гриппа свиней // Биотехнология. Теория и практика. 1998. №1-2. С. 105-107.
11. Икранбегийн Р., Чувакова З.К., Богоявленский А.П., Березин В.Э. Способ выявления нуклеопротеидного антигена вируса гриппа: Предварительный патент № 990493.1 от 27.03.00.
12. Кулаков В.И. Наблюдение за состоянием плода в современной перинатологии // Акушерство и гинекология. 1990. №8. С. 3-6.
13. Коптяева И.Б., Миловидова Н.И. Роль некоторых вирусов в патологии плода // Вопр. вирус. 1995. №2. С. 50-53.
14. Ikranbegiin R, Shamenova M.G., Abdygalimova A.A., Biryukov A.Yu., Baizhomartova M.M., Chuvakova Z.K. // Persistence of Defective Influenza Viruses in Women with the Disorders Fetus-placenta system // XI ICV XIth International Congress of Virology. IUMS. Sydney, Australia, 1999. P. 262.
15. Абдыгалимова А.А., Икранбегийн Р., Шаменова М.Г., Мамедалиева Н.М., Чувакова З.К. Персистенция вирусов гриппа в организме женщин с привычным невынашиванием беременности // Докл. НАН РК. 2000. №2. С. 78-81.
16. Икранбегийн Р., Абдыгалимова А. А., Шаменова М.Г., Мамедалиева Н.М. Чувакова З.К. Вирусологический и иммунологический мониторинг угрозы прерывания беременности у женщин // Докл. НАН РК. 2001. №2. С. 66-70.
17. Levine B., Huang Q., Isaacs J. et al. Conversion of lytic to persistent alphavirus infection by the bcl-1 cellular oncogene // Nature. 1993. V. 361. P. 739-742.
18. Oldstone M.B.A. Molecular anatomy of viral persistence // Virology. 1991. V. 65. P. 6381-6386.
19. Исаева Е.И., Ровнова З.И., Аминова С.В. и др. Длительность выявления в лимфоцитах крови человека маркеров вируса гриппа // Вопр. вирусол. 1994. №6. С. 262-266.
20. Чувакова З.К., Шаменова М.Г., Фурсова Л.М., Икранбегийн Р. Природные сialiрированные вирусы гриппа // Тезисы докладов научной конференции «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии». Ташкент, 1999. С.105.
21. Azzi A., Bartolomei-Corsi O., Zakrzewska K., et al. The hemagglutinin of influenza A/H1N1 viruses in the O or D phases exhibit biological and antigenic differences // J. Epidemiology and Infection. 1993. V. 111. P. 135-142.
22. Morishita T., Nobuana E., Nakajima K. Studies on the molecular basis for loss of the ability of recent influenza A/N1N1 virus strains to agglutinate chicken erythrocytes // J. Gen Virol. 1996. V. 77. P. 2499-2506.
23. Икранбегийн Р., Шаменова М.Г., Глебова Т.И., Икранбек С., Шувалова Ж.Б. Выделение персистирующих свиных вирусов гриппа А в межэпидемический период в 1998 г. Алматы // Изв. НАН РК. 2004. №5. С. 32-36.

24. Чувакова З.К., Икранбегийн Р., Глебова Т.И., Шамепова М.Г., Бирюков А.Ю. Грипп у толоней. Обзор информации и результаты экспедиций на Северный Каспий в связи с массовой гибелью толоней в 2000 г. // Изв. МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. 2001. №3. С. 47-54.

25. Кропоткина Е.А., Руднева И.А., Русанова О.С. и др. Механизм и ограничения репродукции реассортантов вируса гриппа А при неполном функциональном соответствии продуктов генов гемагглютинина и нейраминидазы // Вопр. вирус. 1998. №1. С. 17-20.

26. Lohmeyer J., Taleus T., Klenk H.D. Biosynthesis of the influenza virus envelope in abortive infection // J/Gen/Virol. 1989. V. 42. P. 7388-7392.

27. Sugita S., Yoshioka Y., Itamura S., et al. Molecular evolution of hemagglutinin genes of H1N1 swine and human influenza A viruses // J. of Molecular evolution. 1991. V. 32. P. 16-23.

28. Palese P., Tobita K., Yeda H. Et al. Characterisation of temperature sensitive influenza virus mutants defective in neuraminidase // Virology. 1974. V. 61. P. 397-410.

29. Lucas W.T., Whitaker-Dowling P., Kaijfer C.R. et al. Characterization of a Unique Protein produced by influenza a virus recovered from a long-term persistent infection // Virology. 1988. V. 66. P. 620-623

30. Treanor, J. J., Snyder, M. H., London, W. T. & Murphy, B. R. (1989) *Virology* 171, 1-9 [ISI][Medline] [Order article via Infotrieve].

31. Frielle D., Huang, Youngner J. Persistent infection with influenza A virus: evolution of virus mutants // *Virulogy*. 1984. V. 138. P. 103-117.

32. Чувакова З.К., Исмаилова Ю.С., Ким Э.В. Повреждающее действие нейраминидазы вируса гриппа на клетки респираторных органов мышей // Докл. НАН РК. 1994. №4. С. 78-83.

33. Исмаилова Ю.С., Чувакова З.К., Мукажанова Г.Н. Патент на изобретение "Способ моделирования патоморфологического процесса в органах дыхания лабораторных животных" №93149. 1-8529.

34. Leib D.A., Machalek M.A. Specific phenotypic restoration of an attenuated virus by knockout of a host resistance gene // *Microbiology*. 2000. V. 97, N 11. P. 6097-6101.

35. Li M, Shillinglaw W, Henzel WJ, Beg AA. The RelA (p65) Subunit of NF {kappa}B is essential for inhibiting double-stranded RNA-induced cytotoxicity // *J Biol Chem*. 2000. Oct 16. 245 (67). 24987-95.

Резюме

Бұл мақалада профессор, биология ғылымының докторы, Нью-Йорк ғылым Академиясының мүшесі Чувакова Зейнеп Қожаахметқызының басқаруымен тымау вирусының табиғатта ұзақ уақыт сақталуы және оны анықтау барысында жасалған зерттеу нәтижелері тұжырымдалып берілді. Тымау А вирусының табиғатта және де адам организмінде ұзақ уақыт сақталу механизмдері анықталды. Алынған нәтижелер тымау вирусының *ts*-мутациясы оның негізгі подтиптерінің эпидемия циркуляциясына қайта оралатынына себеп болатын антигендік шифт механизмі және иммунитеті азайған адамдар қанында микст-инфекция түрінде сақталатын ақаулы интерферирулеуші ДИ-бөлшектері табиғаттағы жаңа пандемия туғызатын механизмі болуы болжамын жасауға мүмкіндік бергенін көрсетеді.

Summary

With given final results of researches on diagnostics and studying of persistent a virus influenza in the natural populations which have been lead under the direction of the professor, a member of New York Academy of sciences Chuvakova Zeynep Kojachmetovna are submitted to article as the review. Possible mechanisms of preservation of influenza virus and in the nature, including in an organism of the person are revealed. Probably, due to the reversible *ts*-mutations there is occurred a mechanism of antigenic shift and repeated involvements of major sub-types of influenza virus type A in a circulation process in nature. The *DI*-particles inhibit replication of virus-helper consuming the products of its genes for their own replication. This may result in reassortation of the two types and occurrence of a new influenza virus strain.

Поступила 2.03.06г.