

*Lessons from pandemic flu
2009/11*

Oleg I. Kiselev

**HUMAN ENDOGENOUS
RETROVIRUSES, PLACENTA
AND IMMUNOSUPPRESSION**

*Publisher «Rostok»
St. Petersburg
2014*

*Итоги пандемии гриппа
2009/11*

О. И. Киселев

**БЕРЕМЕННОСТЬ,
ИММУНОСУПРЕССИЯ, ГРИПП
И ПЛАЦЕНТАРНАЯ ЭКСПРЕССИЯ
ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ**

*Издательство «Росток»
Санкт-Петербург
2014*

К44

Киселев О. И.

К44 Итоги пандемии гриппа 2009/11: Беременность, иммуносупрессия, грипп и плацентарная экспрессия эндогенных ретровирусов. — СПб.: ООО «Издательство «Росток»», 2014. — 320 с.; ил.

ISBN 978-5-94668-154-4

Эта книга является попыткой рассмотрения одной из наиболее сложных проблем биологии человека: проблемы иммунитета при беременности с точки зрения вирусных инфекций, столь губительных для беременных женщин. Однако рассмотрение этой проблемы неизбежно приводит нас к осознанию важнейшей роли эндогенных вирусов в нашем геноме не только в генетическом контроле беременности, но и нашем происхождении как вида. По убеждению автора, понимание роли эндогенных ретровирусов в развитии и обеспечении беременности приводит нас к осознанию других проблем современной медицины: проблем развития злокачественных, неврологических и аутоиммунных заболеваний, трансплантации органов тканей, расшифровки механизмов развития хронических вирусных инфекций.

Книга рекомендуется не только широкому кругу инфекционистов и акушеров-гинекологов, но и другим специалистам в области фундаментальной медицины.

В оформлении переплета использована картина Леонардо да Винчи «The Foetus in the Womb Leonardo da Vinci»

ISBN 978-5-94668-154-4



9 785946 681544

© О. И. Киселев, 2014
© ООО «Издательство „Росток“», 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	16
Предисловие	18
Введение	25
1. Грипп и беременность.	29
1.1. Симптомы гриппа	30
1.2. Влияние гриппозной инфекции на плод	33
2. Молниеносное течение гриппа при беременности и иммуносупрессия	38
3. Первичное формулирование феномена пандемического гриппа у беременных женщин	45
3.1. Общебиологический аспект «синдрома беременных женщин при гриппе»	46
3.2. Кооперация клеток в процессе развития плаценты	55
3.3. Интерфероны и беременность	60
4. Экспериментальные исследования гриппозной инфекции на моделях беременных мышей	62
5. Эндогенные ретровирусы.	66
5.1. Происхождение и эволюция эндогенных ретровирусов (ЭРВ)	71
5.2. Ретровирусы, синцитины и плацента	78

5.3. Характеристика семейства ретровирусов HERV: экспрессия и функции в плаценте	82
6. Геномные исследования эндогенных ретровирусов (ЭРВ)	95
7. Плацентарные белки синцитины – гомологи белка env эндогенных ретровирусов (ЭРВ) . .	106
7.1. Открытие иммуносупрессивных доменов (ИСД)	110
7.2. Эволюция белков env и ИСД-последовательностей: разобщенность функций слияния и иммуносупрессии у синцитинов	117
7.3. Рецепторы синцитинов	143
7.4. Жизненно важная роль синцитинов в обеспечении беременности	147
7.5. Строение ИСД ретровирусов	150
7.6. Распространенность ИСД-последовательностей среди современных вирусов	153
8. Вирусы гриппа и природа острой иммуносупрессии у инфицированных беременных женщин . .	157
8.1. Белок NS1 вируса гриппа – антагонист интерферонов и фактор прямой иммуносупрессии	159
8.2. Три барьера противовирусной защиты и патогенность вирусов	169
9. Гипотеза иммуносупрессии при вирусных инфекциях и беременности . .	177
9.1. Блокада HLA – один из вероятных путей подавления презентации вирусных антигенов при вирусных инфекциях	179

9.2. Дизайн блокаторов HLA	187
9.3. Блок активации TcR-рецепторов доменами ИСД	196
9.4. Димеризация иммунорецепторов TcR – наиболее уязвимая стадия распознавания антигена	205
10. Механизм действия ИСД	220
10.1. Классификация ИСД	221
10.2. Вирус-индуцированная иммуносупрессия: сопряжение функций слияния и иммуносупрессии на примере ВИЧ-1	232
10.3. Иммуносупрессор вируса Эпштейн-Барра – принципиально новый молекулярный наноноситель иммуносупрессии – вироэкзосомы	244
10.4. Транспортные формы иммуносупрессивных белков	248
11. Экзосомы и вирусы гриппа	259
11.1. Экзосомы и плацента	261
12. Дизайн ингибиторов димеризации иммунорецепторов	267
Заключение	272
Постскрипtum	277
Список литературы	285
Приложение 1. Лечение гриппа в период беременности	309

LIST OF CONTENTS

Foreword	21
Introduction	25
1. Flu and Pregnancy	29
1.1. Flu symptoms	30
1.2. Effect of influenza infection on the fetus	33
2. Fulminant course of influenza in pregnancy and immunosuppression	38
3. Initial definition of the phenomenon of pandemic influenza infection among pregnant women	45
3.1. General biological aspect of the «flu syndrome in pregnant women»	46
3.2. Cellular cooperation during placental development.	55
3.3. Interferons and pregnancy	60
4. Experimental studies on models of influenza infection of pregnant mice model	62
5. Endogenous retroviruses	66
5.1. The origin and evolution of endogenous retroviruses (ERV)	71
5.2. Retroviruses, Syncytins and placenta	78
5.3. Characteristics of the retrovirus family HERV: expression and function in the placenta	82

6. Genomic studies of endogenous retroviruses (ERV)	95
7. Placental Syncytins – env proteins homologs of the endogenous retroviruses (ERV)	106
7.1. Discovery of the immunosuppressive domains (ISD)	110
7.2. Evolution of proteins and env ISD sequences: uncoupling of fusion and immunosuppression functions among Syncytin 1 and 2	117
7.3. Syncytin's receptors	143
7.4. Syncytins: vital role in the pregnancy	147
7.5. The structure of the ISD in retroviruses	150
7.6. Prevalence ISD sequences in modern viruses.	153
8. Influenza viruses and acute nature of immunosuppression in pregnant women	157
8.1. NS1 protein of influenza viruses – interferon antagonist and factor of direct immunosuppression.	159
8.2. Three antiviral cellular barriers: antiviral defense and pathogenicity of viruses	169
9. The hypothesis of immune suppression in viral infections and antigen presentation	177
9.1. Blockade of HLA – one of the possible way of suppressing the presentation of viral antigens in viral infections	179
9.2. Design of HLA blockers	187
9.3. Block of TcR-receptoractivation by ISD	196
9.4. Dimerization of TcR-immunoreceptors – the most vulnerable stage of antigen recognition.	205

10. The mechanism of ISD action	220
10.1. ISD classification	221
10.2. Virus-induced immunosuppression: coupling of fusion functions and immunosuppression in HIV-1, as an example	232
10.3. Immunosuppressant of Epstein-Barr virus – a fundamentally new molecular nanocarriers of viral immunosuppressors – viroexosomes	244
10.4. Transport forms of immunosuppressive proteins	248
11. Exosomes and flu viruses	259
11.1. Exosomes and placenta	261
12. Design of immunoreceptors dimerization inhibitors	267
Conclusion	
Postscript	272
References	277
Literature	285
Supplement “Pregnancy and influenza treatment”	262

Эндогенные вирусы в геноме человека и приматов представлены множественными копиями. Экспрессия эндогенных ретровирусов свойственна преимущественно плаценте. Вклад генов эндогенных ретровирусов в развитие и функции плаценты связан с морфогенезом и генетическим контролем иммуносупрессии, необходимой для защиты плода от иммунологических конфликтов с материнской иммунной системой.



Беременность — сосуществование двух индивидуумов, главное испытание иммунной системы.

Почему беременность не может осуществиться без эндогенных ретровирусов?

Автор

Can Viruses Make Us Human?

Luis P. Villarreal

Большинство из нас далеки от понимания всей драмы, связанной с нашим рождением — эта книга приблизит нас к разгадке не только нашего рождения, но и происхождения.

*От своего имени и имени двух моих братьев
посвящаю
нашей маме — Галине Григорьевне Киселевой,
чьим призванием было самое возвышенное и
самоотверженное материнство.*

Автор



Эта книга является попыткой рассмотрения одной из наиболее сложных проблем биологии человека: проблемы иммунитета при беременности с точки зрения вирусных инфекций, столь губительных для беременных женщин. Однако рассмотрение этой проблемы неизбежно приводит нас к осознанию важнейшей роли эндогенных вирусов в нашем геноме не только в генетическом контроле беременности, но и нашем происхождении как вида. По убеждению автора, понимание роли эндогенных ретровирусов в развитии и обеспечении беременности приводит нас к осознанию других проблем современной медицины: проблем развития злокачественных, неврологических и аутоиммунных заболеваний, трансплантации органов тканей, расшифровки механизмов развития хронических вирусных инфекций.

Поэтому книга рекомендуется не только широкому кругу инфекционистов и акушеров-гинекологов, но и другим специалистам в области фундаментальной медицины, особенно тем, кто после осознания уникальной роли эндогенных вирусов в рождении и патологии человека поймет, что наступает новая эра медицины, в которой основные открытия и разработка наиболее эффективных средств лечения будут связаны с пониманием строения, происхождения и функций нашего генома.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИСД — иммуносупрессивный домен
 ИС — иммуносупрессивный
 РВ — ретровирусы
 ЭРВ — эндогенные ретровирусы
 ЭМВТ — эндосомальные мультивезикулярные тельца-экзосомы
 TCR α TMD — трансмембранный домен Т-клеточного рецептора
 TCR α CP «коровый пептид» Т-клеточного рецептора
 HIVgp41 FP — вирус иммунодефицита человека — ВИЧ
 FP — фьюзогенный пептид
 TMD — трансмембранный домен
 CSK-17 — синтетический гептадекапептид белков оболочки ретровирусов
 Fr-MLV — вирус лейкемии мышей Френда
 HHV-6 U24²⁸⁻⁶⁰ — вирус герпеса типа 6 — белок U24²⁸⁻⁶⁰ — положения домена 28–60
 HTLV-1 gp21 — белок gp21 лимфотропного вируса человека 1-го типа
 HVA Tio²²⁵⁻²⁴² — герпесвирусные аллели
 HVS Tip²¹¹⁻²²⁸ — белок Tip — домен 211–228 вируса герпеса Саймири
 LASV FP — вирус Ласса (FP — фьюжин-пептид)
 LCMV FP — вирус лимфоцитарного хориоменингита
 MARV — вирус болезни Марбурга
 MOPV — вирус Мопеа

SARS-CoV FP — коронавирус SARS — возбудитель тяжелого острого респираторного синдрома
 SEBOV — вирус Эбола — штамм Судан
 TACV FP — вирус Такарибе
 Tip — белок, взаимодействующий с тирозинкиназой
 Tio — белок «два в одном»
 TMD — трансмембранный домен
 ZEBOV — штамм Заир
 H1N1pdm-2009 пандемический вирус гриппа
 H1N1 SOIV — вирус свиного происхождения (имеется в виду пандемический). Однако данное определение позднее было отклонено ВОЗ.
 МВЭМ — мультивезикулярные эндосомальные мембраны
 Tsg101 — фактор сортировки эндосом
 T-reg — регуляторные Т-клетки

Таблица одно- и трехбуквенного кода для аминокислот

A – Ala – Ала	M – Met – Мет	D – Asp – Асп	K – Lys – Лиз
G – Gly – Гли	F – Phe – Фен	E – Glu – Глу	R – Arg – Арг
L – Leu – Лей	S – Ser – Сер	N – Asn – Асн	W – Trp – Трп
I – Ile – Иле	T – Thr – Тре	Q – Gln – Глн	H – His – Гис
V – Val – Вал	C – Cys – Цис	P – Pro – Про	Y – Tyr – Тир

Аминокислотные остатки в тексте и на рисунках представлены в трех вариантах: однобуквенный код, трехбуквенный код на английском и русском языках.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Эта книга написана по итогам пандемии «свиного» гриппа H1N1pdm-2009/11 гг. Впервые за многие годы мы столкнулись с необычным явлением: заболеваемость быстро распространялась среди молодых людей; не составила исключения и такая категория, как женщины детородного возраста. Госпитализация беременных женщин во многих странах и регионах России носила массовый характер. Тяжелое течение пандемического гриппа при беременности привлекло к себе особое внимание, тем более, что во многих случаях гриппа у беременных возникла необходимость в оказании помощи в палатах интенсивной терапии. Не удалось избежать и жизненных потерь. В ущербе от пандемии 2009/11 гг. гибель беременных женщин от гриппа является самым значительным и драматичным событием, сравнимым с описанием таких же явлений в период «испанки» 1918 года.

Нельзя не отметить и крайнюю ограниченность средств профилактики и лечения гриппа при беременности в мировой медицинской практике. Проанализировав итоги пандемии гриппа, следует отметить высочайшую квалификацию большинства отечественных реаниматологов и инфекционистов, которым удалось в, казалось бы, крайне критических ситуациях добиться положительных результатов терапии гриппа и предотвратить его осложнения. Отечественные протоколы лечения, по моему глубокому убеждению, во многом превосходят зарубежные. Благодаря разнообразным подходам к лечению осложненных форм

гриппа, удалось существенно снизить уровень смертности среди беременных женщин и пациентов с сопутствующими соматическими заболеваниями. Также при этом стало очевидно, что практика реанимации остро нуждается в принципиально новом лекарственном обеспечении. Поэтому исследования Института гриппа в эти годы были направлены на разработку новейших средств лечения тяжелых и осложненных форм гриппозной инфекции у больных с преморбидным фоном, включая беременных женщин.

Изучение состояния этой проблемы показало, что в данной области наблюдается очевидное отставание в понимании природы многих процессов, сопутствующих беременности. В первую очередь это относится к функциональной иммуносупрессии, обеспечивающей контроль за вынашиванием плода без иммунологического конфликта. Оказалось, что иммуносупрессивный барьер между полуаллогенным плодом и иммунной системой материнского организма обеспечивается ключевыми белками эндогенных ретровирусов. Поэтому острая иммуносупрессия при гриппе у беременных женщин связана со взаимодействием экзогенных вирусов гриппа и эндогенных ретровирусов плаценты. Фактически речь идет о взаимодействии эндогенных ретровирусов, экспрессия которых специфична в норме для плаценты, и экзогенных инфекционных вирусов, использующих идентичный механизм иммуносупрессии.

Проблема оказалась существенно шире поставленных вопросов: через понимание этих процессов мы приходим к пониманию иммуносупрессивных процессов, сопровождающих беременность и определяющих возможность длительного вынашивания и иммуносупрессивной защиты плода. Эта проблема открывает новые перспективы в понимании патологии человека, связанной с воспалением, онкогенезом. Решение проблем трансплантации органов

и тканей также связано с процессами функциональной иммуносупрессии.

Анализу механизмов физиологической иммуносуперссии при беременности и их роли при инфекционной патологии посвящена эта небольшая монография. Монография может представлять интерес для вирусологов, иммунологов, инфекционистов, акушеров и гинекологов, неонатологов и других специалистов, профессиональная деятельность которых связана с патологией беременности и плода.

Автор

FOREWORD

This book is written on the basis of epidemiological and clinical observations during swine flu pandemic H1N1pdm-2009/11 years. For the first, during these years, the incidence of rapidly spreading among young people and women of childbearing age. Hospitalization of pregnant women in many countries and regions of Russia was massive and high and usually during pandemic flu 2009–2011 – too late. In many cases of influenza pregnant women needed to assist in the intensive care wards. During pandemic damage from the 2009 pandemic till 2011 death of pregnant women caused by influenza is the most important and dramatic event, comparable to the same phenomena during the “Spanish flu” of 1918.

It should be noted, that there are very limited choice of medicines for prevention and treatment of influenza in pregnant woman in current medical practice. Also, it is clear that the practice of treatment of hard conditions needs of a fundamentally new approaches and drug. Research Institute of Influenza in those years was focused on the development of new treatments for severe and complicated forms of influenza infection? Including septic conditions in patients with premorbid background and pregnant women.

However, the obvious gap in understanding the nature of many processes involved in pregnancy is revealed. This primarily relates to functional immunosuppression for controlling the gestation without immunological conflict. It was found that the immunosuppressive barrier between the semiallogenic fetus and maternal immune system is induced and supported by

specific proteins of endogenous retroviruses. Therefore, acute immunosuppression caused by influenza in pregnant women is associated with the interaction of exogenous viruses and endogenous retroviruses in placenta and maternal immune system as well as. In fact, we are talking about the interaction of endogenous retroviruses whose expression is specific to the placenta in normal conditions and exogenous infectious viruses, that use an identical mechanism of immunosuppression.

The problem was much wider: by understanding these processes, we arrive at an understanding of immunosuppressive processes that accompany pregnancy and determining the possibility of prolonged gestation and immunosuppressive protection of the fetus.

Recent discoveries indicate that one of the mechanism of immunosuppression plays a key role in the function of immunosuppression in pregnancy.

First ISD sequence identified in retroviral protein env of FLV as a peptide CSK17. Peptide CSK17 showed inhibitory activity in *in vitro* assays for antigen- induced proliferation of T- lymphocytes. After the first publication of the suppressive activity of these peptides has been almost 30 years.

Discovery of similar sequences in the structure of Syncytins and evidence of their immune suppressive activity in biological tests (suppression of tumor regression) support the idea that CSK17 peptides or ISD- domains are functional analogues of retroviral proteins Env - Syncytins, that are key players in physiological suppression during pregnancy and pathological conditions.

Now it is obvious that functional links between retroviral Env proteins and immunosuppression exist in physiological and pathological conditions, and endogenous retroviruses possessing an Env homologues with an IS domain could play a role in maternal-fetal tolerance in the placenta. Heidmann's group from Dept. of Endogenous Retroviruses and Retroids elements

Higher Eukaryotes, Integrated Research Cancer Institute in Villejuif (Director Dr. Thierry Heidmann), CNRS, France, experimentally addressed this issue by using the *in vivo* tumor-rejection assay. Moreover, these authors showed that Syncytin-2 and ERV-3 are immune suppressive while Syncytin-1 is not. These fundamental data can't be overestimated for understanding of a background and consequences of viral infections for pregnancy.

Immunosuppressive domains identified among wide range of viral proteins, including infectious retroviruses, endogenous retroviruses, Ebola virus, CMV, EBV, measles virus, influenza viruses. IS-domain similar to CSK17 -peptide in GP2 protein of Ebola virus was identified in Virology Center Vector in Novosibirsk, Russia at 1992. Influenza virus NS1 protein contains immunosuppressive sequence similar to the same sequences among highly pathogenic viruses such as Ebola. Potential influenza virus immunosuppressive domains, identified in non-structural proteins (NS1 and NS2) are active *in vitro* system in a blocking of T-cell proliferation, stimulated by antigens and capable to bind to several core peptide sequences among immunoreceptors. Thus, influenza virus in pregnant woman may contribute to the total immunosuppression and lead to deep defenselessness against pandemic flu. Among potential targets of immunosuppressive viral proteins transmembrane domains of TcR - and NKG2D- receptors were assumed and preliminary proved.

Failure of T- and NK- cells response during influenza infection is well-known. As a result of our studies we have concluded that cytokine genes dysregulation and cytokine storm in combination with T-cell immune paralysis are strongly linked with systemic organ failure and hard conditions among pregnant woman, infected by pandemic influenza viruses.

Deciphering the mode of action of immunosuppressive peptides on the level of TcR-receptor transmembrane domain