

Внимание: гигантски вируси

Златко Кълвачев, Николай Кълвачев

За сравнение, „гребните“ вируси, познати досега, са с диаметър 15 – 25 nm, а „егрите“ – 100 – 200 nm. Количе-

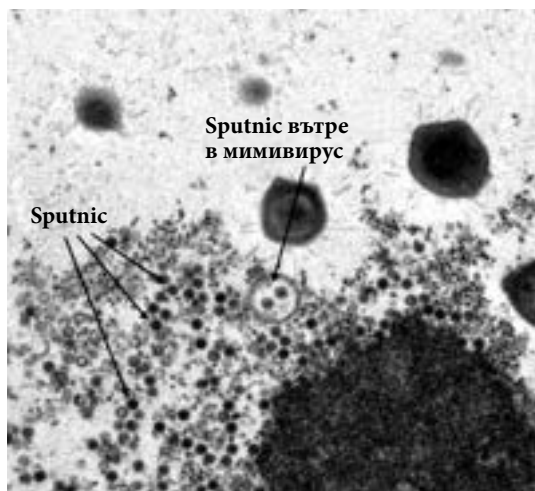
ството на гените в РНК вирусите варира от 3 до 15, а при ДНК вирусите – от 30 до 160 гена. Новооткритият вирус получи

Отмина времето, когато вирусите се определяха като малки и просто устроени микроорганизми. През 2003 г. италиански учени откриват в космополитно разпространената сладководна амеба Акантамеба полифага (*Acanthamoeba polyphaga*) неизвестен гигантски вирус с диаметър 800 nm и ДНК геном с дължина около 1 200 000 нуклеотида (nt), съдържащ над 1000 гена.

името Мимивирус (*Mimivirus*) (съкр. от “microbe mimicking virus”) и беше класифициран в ново семейство – Mimiviridae.

Няколко години по-късно бе изолиран друг, още по-голям вирус, наречен от същите вирусолози Мамавирус (Mamavirus). Постепенно броят на гигантските вируси се увеличи. Последният (засега) мимивирус е изолиран в Бразилия от д-р Кампос (Campos) и колектив през 2014 г. и получи звучното име Самбавирус (*Sambavirus*). Електронно-микроскопските проучвания на мимивирусите „поднесоха“ и други интересни находки, сред които откриването на един малък вирус, наречен Sputnik, паразитиращ във вироплазмата на големия мимивирус. Оказа се, че Sputnik коварно използва своя гостоприемник, като го деформира и „омаломощава“, поради което беше определен като първия известен „виروفаз“.

Втори вид гигантски вирус беше изолиран също от амеби, обитаващи водни източници във Франция, и наречен марсилски (Marseillevirus). Оказа се, че и други сходни



Гигантски мимивирус, заразен с виروفаз.
Снимка Internet

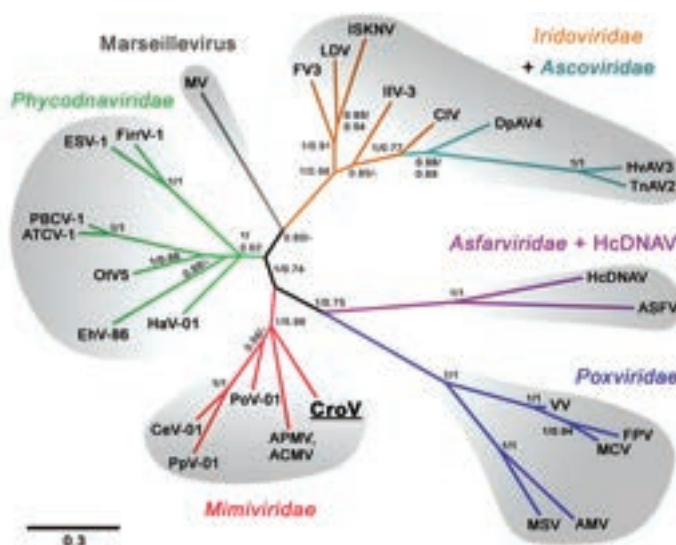
на марсилския вирус се откриват както в околната среда (водата), така и в човек – два от щамовете бяха открити в кръвта и чревното съдържимо на здрави хора. Това наложи обособяването на нова вирусна фамилия (Marseilleviridae), членовете на която се различават от мимивирусите не само по своята морфология, но и по начина си на репликация.

Трети вид гигантски вирус беше открит през 2013 г. Става дума за два щам на неизвестен досега вирус, два пъти по-голям от мимивирусите. Предложеното име Пандора (Pandoravirus) отразява липсата на сходство с досега описаните вируси, но и очакваните изненади в бъдеще... Тиражира се и предположение, че пандоравирусите имат извънземен произход.

Още два нови гигантски вируса бяха изолирани от вечно замръзналите земни пластове в крайните североизточни части на Сибир. Тяхната възраст беше определена на повече от 30 000 години, а откривателите им

нарекоха съответно *Pithovirus sibericum* и *Mollivirus sibericum*. Двата гигантски вируса са напълно различни, включително и по начина на репликация – питовирусът се размножава в цитоплазмата на клетката, а не в клетъчното ядро, както моливирусът. Така откритите от 2003 г. досега видове гигантски вируси достигнаха 4 броя.

Новооткритите гигантски вируси са най-големите известни засега ДНК вируси. Това актуализира дискусията относно един от недостатъчно изяснените въпроси във вирусологията – за произхода на вирусите. Въпреки че хипотезата за общ еволюционен предшественик на „егрите“ ДНК вируси е общо взето възприета, обсъждането как този предшественик се е „разклонил“ на различните вирусни семейства продължава. Днес „появата“ на гигантските вируси ни насочва към анализ на различни възможности: (а) прародителят да е огромен вирус, дори клетъчен организъм, еволюирал чрез намаляване на генома си, или (б) „егрите“



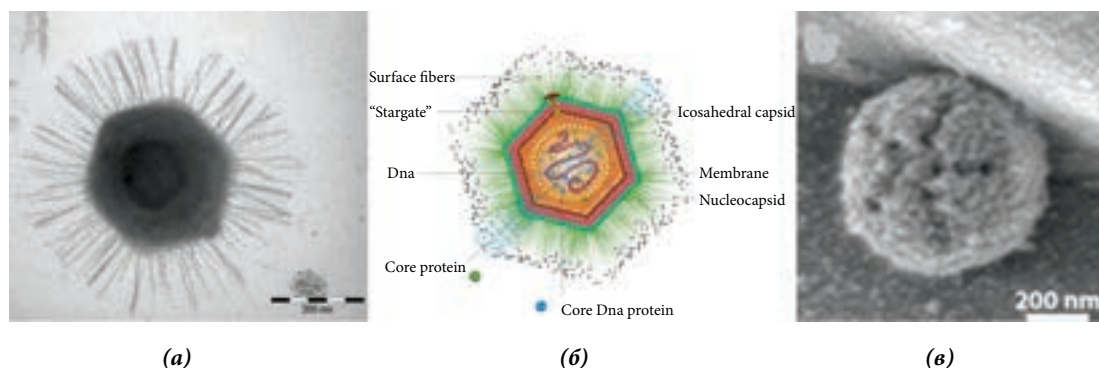
Филогенетично дърво с мястото на семействата *Mimiviridae* и *Marseilleviridae* в него, заедно с някои от големите ДНК вирусни семейства (*Poxviridae*) и др. Снимка Internet

вируси да са еволюирали от по-малък ДНК вирус чрез придобиване на допълнителни клетъчни гени.

Въпреки че основните биологични характеристики на гигантските вируси са вече уточнени, изучаването на жизнения им цикъл продължава. **Мимивирусите** имат икосаедрална структура на сърцевидната си част (капсид) с диаметър от около 500 nm. Капсидът е равномерно покрит с влакнест слой, формирайки по този начин една сферична частица с общ диаметър от около 800 nm. Периферният влакнест слой, който липсва при другите едри вируси, прави мимивирусите сходни с Грам-положителните бактерии, чиито липополизахариди изграят роля при формиране на ендоплазматичните везикули в гостоприемната клетка. Това се подкрепя и от факта, че мимивирусите имат гени, кодиращи различни захар-специфични ензими, регулиращи липополизахаридните им съставки.

Електронно-томографски изследвания показват, че мимивирусният капсид е композиран от двуслойна мембрана, обвиваща вирусния геном. Единият от върховете на капсиде е уникален и може да се опише като звезда. Интересно е, че след навлизането си в клетката, последващото „отваряне“ на капсиде и „инжектирането“ на вирусната ДНК в цитоплазмата се осъществява през

тази „звездна“ структура. Първоначално се е считало, че мимивирусният геном се придвижва към ядрото и след няколко репликационни цикъла се връща отново в цитоплазмата, но сега се изясни, че пълният репликационен цикъл се извършва само в цитоплазмата. Подобно на поксвирусите (вариола), мимивирусите притежават собствен транскрипционен апарат, осигуряващ 12 транскрипционни белтъка. Пълният репликационен цикъл се провежда за около 9 часа и води до производството на зрели инфекциозни мимивирусни частици. Мимивирусният геном е линеен (1,181,404 nt), като по дължината му се наблюдават участъци с висока и ниска кодираща плътност. Геномът съдържа около 950 протеин-кодиращи гени и поне 7 гена за тРНК. Засега са установени поне 36 вирус-специфични белтъка, които се свързват с функции, неизвестни досега при вирусите. Едно от неочакваните открития при мимивируса е намирането на хомолози на поне 10 протеина, играещи роля при транслацията. Интересно е, че мимивирусите притежават и пълен набор от ДНК репарирани ензими, способни да коригират нуклеотидни несъответствия и грешки, предизвикани от окисление, ултравиолетова радиация и алкилиращи агенти. Освен това те кодират и ензими с мета-



Мимивирус: (а) електронна микрография на цял вирион; (б) схема на мимивирус; (в) вирусен капсид с отчетлива звездна фигура. Снимки: Internet

болитна активност по отношение на различни полизахариди, аминокиселини и липиди. Мимивирусите са единствените, които кодират и три топоизомеразни.

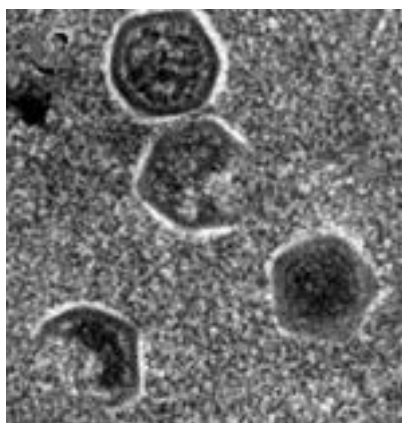
Марсилските вируси (Marseilleviridae) са с по-малък размер от този на мимивирусите. Проучените досега *Marseillevirus*, *Lausannevirus*, *Tunisvirus*, *Fontaine Saint-Charles virus* и др. имат сходна морфология – капсид с екозаедрална симетрия и диаметър около 250 nm, който е обвит от 10 nm мембрана, и фибри с глобуларна основа и дължина от 12 nm.

Репликацията, експресията и морфогенезата при *Marseillevirus* е подобна на тези, наблюдавани при други големи ДНК вируси. Най-вероятно формирането на капсиди и пакетирането на геномната ДНК става едновременно, поради откриването на зрели и непълни вирусни частици по едно и също време. Пълният репликативен цикъл протича за 16 – 24 ч., но значителни морфологични увреждания в ядрата на гостоприемните клетки се отчитат още на 30-ата минута след заразяването. Наблюдава се сходство с репликацията на други вътреклетъчни бактерии (някои хламидии и легионели), което отново илюстрира вероятността, че гигантските вируси могат да обменят ге-

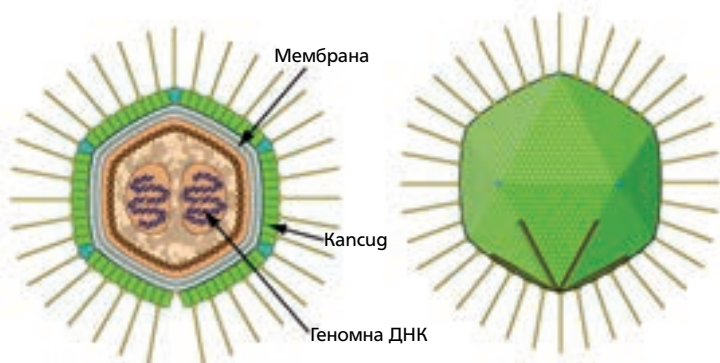
нетичен материал с хазяина си и това да е причина за гигантските им размери.

Marseille-вирусите (с изключение на *Lausannevirus*) имат циркулярен двойно-верижан ДНК геном с размер между 346 000 и 386 000 nt. Съдържанието на G+C варира между 43 % и 45 %. Възможностите на генома са да кодира около 500 различни белтъка с големина от 50 до 1537 аминокиселини. Много от вирусните белтъци са сходни или идентични с тези при бактериите. Някои от тях са сигнални, като серин- и/или треонин-протеинкинази. Други са хомоложни на хистоните и вероятно участват при кондензацията на вирусната ДНК във връзка с пакетирането ѝ в капсид. Трети са с изразена ензимна (полимеразна, ендонуклеазна) функция. За разлика от мимивирусите, в генома на *Marseillevirus* отсъства кодиращ участък за amino-acyl-tRNA синтетаза. Освен това най-често използваните аминокиселини са левцин, лизин, серин и аспартат.

Морфологично **мамавирусите** (сем. Mimi-
viridae) са почти идентични с мимивируса. Разликите са на генетично ниво – мамавирусният геном е композиран от 1 191 693 nt, което е с 10 289 nt повече от оригиналния мимивирусен геном.

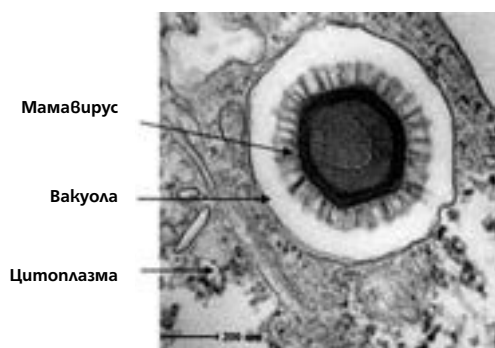


(а)



(б)

Marseillevirus: (а) електронна микрография на цял вирион; (б) схема на вируса. Снимки: Internet



Електронна микрография на мамавирус.
Снимка Internet

Пандоравирус



Електронна микрография на пандоравирус.
Снимка Internet

Броят на предполагаемите протеин-кодиращи гени на мамавирусите е над 1000 (идентифицирани 1023 open reading frames, ORFs) със среден размер на белтъка от 343 аминокиселини. Тези гени са разположени по дължината на двете ДНК вериги, 497 на „правата“ и 526 на „обратната“ верига.

Пандоравирусите имат форма на амфора и с огромните си размери от около 1 микрометър наподобяват някои бактерии и археи.

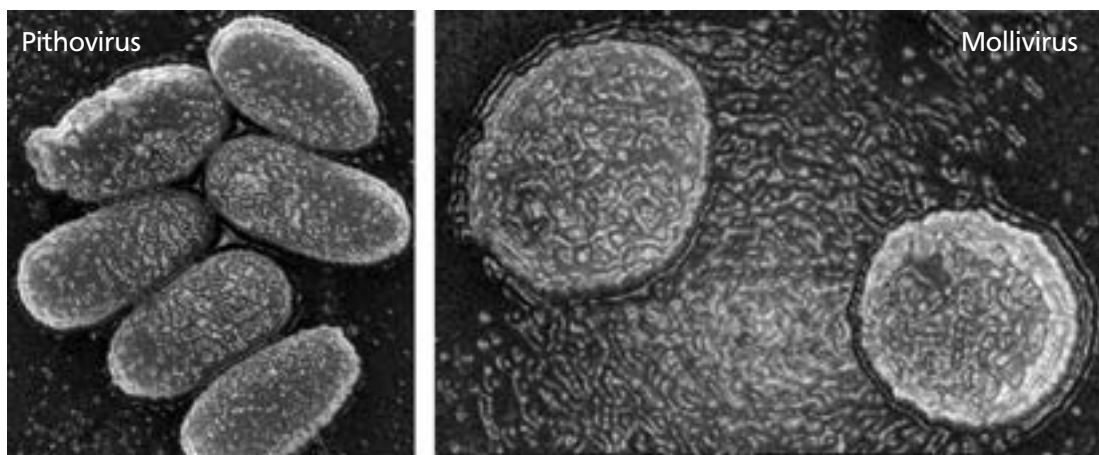
Геномът на пандоравирусите е с дължина до 2 800 000 nt и съдържа над 2500 предполагаеми протеин-кодиращи секвенции, от които само 6 % имат разпознаваема връзка с други известни микроорганизми. Филогенетичните проучвания не показват близост с други гигантски вируси, поради което не само че са класифицирани в самостоятелна група, но и се обсъжда идеята тези вируси да са нов клон на „дървото на живота“.

Pithovirus sibericum и *Mollivirus sibericum* са „оцелели“ в дълбоко замръзналата почва през последните 30 000 години (съвременници на неандерталците). Двата вируса имат овална или сферична форма и са с размери около 600 nm. Геномът им се състои от 600 000 nt и съдържа информация за производството на около 500 протеина.

Засега се смята, че „сибирските“ вируси не са патогенни за хората. Фактът на

„съживяването“ им обаче не трябва да се пренебрегва лековато, защото гигантските вируси са естествена част от земната биосфера и поради това – потенциални патогени. Освен от околната среда (речна и морска вода, почва) специфични протеини и геномни секвенции на някои от тези вируси се откриват и в човешкия организъм. При това не „много рядко“, ако се изследват подходящи проби с подходящи методи.

Мимивирусите обаче са опасни както за вирусолозите, така и за хората извън изследователските лаборатории. Първият случай на пневмония, причинена от мимивирус, е описан след лабораторно заразяване. Диагнозата е поставена според клиничната картина и рентгенологичната находка, а етиологичният причинител (мимивирус) е доказан и вирусологично. Инфекцията не се е повлиявала от антибиотици, но след около месец симптомите започват да отшумяват и болният се е възстановил напълно. Всички проведени изследвания на кръв за търсене на инфекциозни причинители на пневмонията са били негативни, с изключение на тези, доказващи присъствието на мимивирус (вкл. сероконверсия). С помощта на Western blotting е отчетена положителна реакция към 23 мимивирус-специфични белтъка, сред които такива



(а)

(б)

Гигантските вируси, „съживени“ от замръзнали хилядолетни проби в Сибир: (а) *Pithovirus sibericum*; (б) *Mollivirus sibericum*. Снимки Internet

с неизвестни функции, или без хомолози в микробния свят.

Мимивируси са били изолирани и от други пациенти с пневмония, като вирусологичните изследвания са доказали етиологичната им връзка със заболяването. Освен антитела срещу *Mimivirus* мимивирусна ДНК е била амплифицирана от бронхоалвеоларен лаваж, макрофаги и кръвни мононуклеарни клетки. Важно е да се отбележи, че редица от случаите с мимивирусна пневмония са се оказали вътреболнични инфекции.

Други заболявания също биха могли да бъдат етиологично свързани с мимивирусите. Мимивирусните колагени предизвикват продукция на антитела срещу тях, което заедно с Т-клетъчната активация към колагена може да причини възпаление на ставите (колаген-индуциран артрит). Това вече е установено експериментално, но се подкрепя и от резултати при проучване на кръвни проби от лица с ревматоиден артрит – значителна част от изследваните с ревматоиден артрит имат антитела срещу различни мимивирусни антигени, вкл. към мимивирусния колаген L71. Отчитайки тези данни се смя-

та, че заразяването с мимивируси вероятно е рисков фактор за отключване на аутоимунна реакция към колагените.

Други гигантски вируси също се изолират от хора. „Марсилският“ *Senegalvirus* беше открит както в чревното съдържимо на клинично здрав мъж, така и в кръвта на няколко кръводарители. Проучването на кръвни проби от по-голяма група безсимптомни лица пък доказа присъствие на специфични антитела към груп марсилски гигантски вирус – *Lausannevirus*. Тези данни показват не само че хората са в контакт с тези вируси, но и възможността тези вируси да са кръвнопреносими...

Въпреки интензивните проучвания ролята и значението на гигантските вируси за човешкото здраве остават за изясняване. Дискусия за възможната връзка на различни заболявания с мимивирусите се води вече над 10 години, но за групите вируси тя едва сега започва... Марсилски вируси се откриват предимно в здрави лица, но наскоро специфични вирусни антигени и ДНК бяха доказани в лимфен възел на афебрилно 11-месечно дете с агениет с неизвестна



Проф. Златко Кълвачев е възпитаник на Медицинска академия (дн. Медицински университет), София. Работил е във Военномедицинската академия (ВМА), Института за научни изследвания в Каракас, Венецуела, и Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) в София. Защитил е две докторски дисертации и е автор на повече от 150 научни публикации, 4 изобретения, 15 рационализации, както и 10 монографии и научни помагала. В момента е началник на лабораторията по „Клинична микробиология и вирусология“ в УМБАЛ „Софиямед“.



Д-р Николай Кълвачев е завършил Медицинския университет в София. През 2011 г. защитава докторат в областта на арбовирусологията, а през 2013 г. придобива и специалност по Вирусология. В периода 2008 – 2015 г. работи в Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ). Специализирал е в Германия и САЩ. От началото на 2016 г. работи и специализира клинична микробиология в катедра „Медицинска микробиология“ към МУ – София.

етиология. Освен това в серума на детето са били открити специфични противовирусни антитела от клас IgG и IgM, които са реагирали специфично към 22 марсилско-вирусни антигени. Възможно е в бъдеще *Marseillevirus*-ната инфекция да се свърже с развитие на лимфаденопатия при незряла и/или увредена имунна система...

Неизяснен остава и патогенният потенциал на пандоравирусите. Наскоро беше съобщено за пациент с улцерозен кератит, диагностициран като „бактериален кератит“, но положителен резултат от антибиотичното лечение липсвал. Допълнителните изследвания доказали наличие на амевна (*Acanthamoeba*) контаминация в окоото на пациента, а наскоро бяха публикувани и данни за наличие на пандоравирус в проба от пациент със същото заболяване (кератит). Това отключва дискусията могат ли гигантски вируси, паразитиращи в амеби, да увреждат роговицата, подобно на херпесните вируси?

В заключение, броят на новооткритите след 2003 г. гигантски вируси бързо се увеличава. Те се изолират в различни лаборатории, държави и континенти както от околната среда, така и от хора със или без оплаквания. Редица от тези вируси вече са с уточнени структурни особености и напълно секвениран геном. Двойноверижната им ДНК е с гигантски размери и капацитет да кодира голям брой вирус-специфични протеини. Паразитирайки в амебите, гигантските вируси могат да обменят генетичен материал както с гостоприемника си, така и с други паразитиращи в амебите бактерии и археи. Присъствието на гигантски вируси в клинично здрави лица показва, че хората също се заразяват и могат да развият заболявания, които не са напълно установени засега. Уточняването на епидемиологичните параметри и здравните последици (ранни и дългосрочни) от инфекциите, свързани с тези вируси, са обект на бъдещи проучвания. ■

Паразитни червеи лекуват чревни възпаления?

Чревните възпаления са едни от най-честите заболявания както на човека, така и на животните. Голяма част от тях са хронични, с неизяснена етиология и продължават десетки години, а някои от тях причиняват и смърт на засегнатите хора и животни. Въпреки интензивните дългогодишни изследвания върху тях и досега причините за появата и протичането им са неизвестни, а лечението трудно. Голяма част се обясняват с проблеми на имунната система, други – с нарушаване баланса на чревната бактериална флора, трети с генетични причини и пр., и поради това няма и ефективни средства за лечението им.

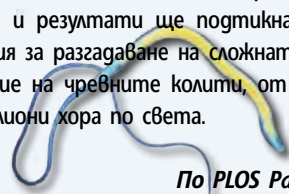
В последните десетина години се появиха съобщения, че при свине, страдащи от чревни заболявания с неизяснена етиология, допълнителното им заразяване с паразитния хелминт свински власоглав (*Trichiurus suis* = *Trichocephalus suis*) вместо да утежни заболяването им, облекчава значително протичането на хроничното чревно възпаление. А през 2007 г. бяха съобщени и данни, че изкуственото заразяване на свине с власоглав води не само до лечение на чревното възпаление (болестта на Крон), но и до намаляване на заболяванията от астма и даже до забавяне на развитието на множествена склероза.

Посочените научни съобщения подтикнали колектив от индийски и американски учени да проверят въздействието и на близкия вид власоглав *Trichocephalus trichiurus* – който също причинява хронични чревни възпаления при маймуни. Ще припомним, че освен в маймуни хелминтът *Trichocephalus trichiurus* (власоглав) паразитира и в човека и посочените изследвания представляват безспорен интерес и от гледище на хуманната медицина. Резултатите от изследването на учение, с водещ автор г-р М. Бродхърст (M. J. Broadhurst), е публикувано в авторитетното научно списание PLOS Pathogen (2012) и разкрива нови възможности за изясняване на причините и улес-



няване на лечението на неприятните хронични възпаления на червата при човека и животните.

Изследването показало, че заразяването на болните макаки с яйца на власоглава довело до промени в бактериалния състав на чревната микрофлора на животните и до чувствително намаляване на чревните възпаления при тях. Количеството на патогенните бактерии, прикрепени към възпалените чревни стени, било значително редуцирано, общото състояние на заразените маймуни се подобрило и даже било констатирано увеличение на теглото на опитните животни. От посочените изследвания е направен важният извод, че хроничните чревни възпаления най-вероятно са резултат на нарушения в нормалния бактериален състав (микробиома) в червата на страдащите животни и в случая заразяването с власоглав е допринесло за възстановяването на нормалния състав и до понижаване на възпалителните чревни реакции. Механизмът на въздействие на власоглава върху нормалната микробиома във възпалените черва обаче остава неизяснен засега. Но няма съмнение, че посочените експериментални изследвания и резултати ще подтикнат към нови проучвания за разгадаване на сложната етиология и лечение на чревните колити, от които страдат и милиони хора по света.



По PLOS Pathogen