Ф.И. Ершов

ИСТОРИЯ ВИРУСОЛОГИИ

от Д.И. Ивановского до наших дней

Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2020

Оглавление

Предисловие. 5
Список сокращений. 6
Введение. 8
Знакомьтесь: вирусы 8

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ. ПРЕДЫСТОРИЯ ВИРУСОЛОГИИ И ОТКРЫТИЕ ВИРУСОВ

Глава 1. Вирусная археология 15
Глава 2. Первые предположения 24
Победа над оспой. Эдвард Дженнер. 25
Победа над бешенством. Луи Пастер 28
Глава 3. Д.И. Ивановский — ученый, открывший дверь в царство вирусов 32
Глава 4. Эволюция знаний о вирусах 38
Период первый — организменный. 38
Период второй — клеточный 43
Период третий — молекулярный. 49
Современные вирусологические методы 51
Глава 5. Классификация вирусов 55

ЧАСТЬ ВТОРАЯ. КАК ТАЙНОЕ СТАНОВИТСЯ ЯВНЫМ

Глава 6. Что науке сегодня известно о вирусах? 60
В мире парадоксов 60
Так ли уж просты вирусы? 61
Архитектура вирионов 66
Портретная галерея 71
Сколько вирусов нас окружает? 76
Вирусы в Мировом океане 77
Гигантские вирусы. 79
Заповеди вирусов 80
Что отличает вирусы от их ближайших соседей? 81
Кто такие плазмиды, вироиды, прионы? 83
Как поймать невидимку? 86
Что такое «псевдовирусы»? 88
Синтетические вирусы 90
Глава 7. Драма, которая разыгрывается без репетиций 92
Открытый бой (острые инфекции). 92
Мирное сосуществование (хронические инфекции) 103
Глава 8. Реакция организма на вторжение вирусов. 106

ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ. ВИРУСЫ ПРОТИВ ВСЕГО ЖИВОГО

Глава 9. Вирусы против людей. 111
Вирусы против самых маленьких. 113
«Короли» вирусов 123
Грипп 124
Острые респираторные вирусные инфекции. 136
Герпес 140

Вирусные гепатиты . . . 145
ВИЧ-инфекция (СПИД) . . . 154
Невидимые стражи природы . . . 161
Об одном экзотическом заболевании . . . 169
Роль вирусов при неинфекционных заболеваниях . . . 170
Глава 10. Вирусы против животных . . . 172
Глава 11. Вирусы против растений . . . 177

ЧАСТЬ ЧЕТВЕРТАЯ. ЧЕЛОВЕЧЕСТВО ПРОТИВ ВИРУСОВ

Глава 12. Основные способы борьбы с вирусами . . . 186
Глава 13. Вирусы против вирусов — вакцины . . . 190
Детские болезни, которых могло бы не быть . . . 195
Глава 14. Дитя природы — интерферон . . . 196
Глава 15. «Волшебные пули» — химиопрепараты . . . 209
Глава 16. Иммунотерапия . . . 211
Глава 17. Что дальше? . . . 213

ЧАСТЬ ПЯТАЯ. НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВИРУСОЛОГИИ

Глава 18. Родословная вирусов . . . 218
Глава 19. Эволюция вирусов . . . 224
Глава 20. Вирусы и рак . . . 226

ЧАСТЬ ШЕСТАЯ. ВИРУСЫ — ДРУЗЬЯ

Глава 21. Полезные вирусы . . . 232
Глава 22. Вирусы как уникальная форма жизни . . . 235
Глава 23. Вирусы как инструменты познания сущности жизни . . . 240
Глава 24. Роль вирусов в эволюции органического мира . . . 243

ЧАСТЬ СЕДЬМАЯ (ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНАЯ)

Глава 25. Великие российские вирусологи первого поколения . . . 248
Глава 26. Так что же такое вирусы? . . . 267

Заключение . . . 271
Об авторе . . . 273
Глоссарий . . . 279

ГЛАВА 4

ЭВОЛЮЦИЯ ЗНАНИЙ О ВИРУСАХ

Метод определяет прогресс науки.

И.П. Павлов

На примере вирусологии можно легко убедиться в правоте высказывания И.П. Павлова. В основе наших знаний о вирусах лежат три основных методических периода: организменный, клеточный и молекулярный, каждый из них соответствует определенному уровню биологического познания.

Как это ни странно, эволюции методов вирусологии развивались как бы наоборот, то есть от сложного к простому. Сначала были разработаны методы изучения даже не вирусов, а вирусных инфекций, и лишь затем, когда ученые научились выделять вирусы в чистом виде, появилась возможность изучать не только вирусные инфекции (следствие), но и сам вирус (причину).

Для исследования кардинальных свойств вирусов было необходимо создавать оригинальные вирусологические методы. Так, способность вирусов проходить через бактериальные фильтры стала использоваться для очистки и определения размеров вирусов; малые размеры вирусов потребовали разработки более совершенных методов микроскопии, завершившихся созданием электронного микроскопа; изучение состава вирусов потребовало широкого использования арсенала химических методов; неспособность вирусов размножаться на искусственных питательных средах явилась стимулом для разработки пригодных для выращивания вирусов живых источников питания. Вначале это были экспериментальные животные, позже куриные эмбрионы и, наконец, культуры клеток и т.д.

Период первый — организменный

Ветхозаветный Адам, вкусив яблоко с древа познания и впервые таким образом прикоснувшись к неведомому, практически не пользовался даже самыми примитивными методами, так как никаких приборов или инструментов у него не было. Предмет исследования оказался горьким, да и весь эксперимент прошел, мягко говоря, не очень удачно, хотя имел весьма далеко идущие последствия. Оснащение древних лабораторий также не отли-

чалось сложностью. Так, Архимеду, для того чтобы открыть закон, который на тысячи лет прославил его имя, потребовалась всего лишь наполненная водой ванна, а Ньютон, согласно легенде, для открытия закона всемирного тяготения обошелся, как и Адам, яблоком.

Что касается вирусологии, то ей изначально была свойственна тенденция к синтезу методов. Первые вирусологические исследования были посвящены доказательству роли вирусов в инфекционной патологии.

Для этого вначале были использованы такие общие подходы, разработанные микробиологами, как соблюдение правил асептики, получение чистых линий, методы титрования и, наконец, вакцинация, которые послужили исходной методологической основой для развития вирусологии.

Вскоре оказалось, что микробиологическая техника лишь частично могла быть использована при работе с вирусами.

Я старательно собирал сведения о небольшом отряде первооткрывателей вирусов. Учитывая огромные масштабы вреда, приносимого вирусами, первые вирусологи выполняли серьезный социальный заказ человечества, а именно доказывали вирусную природу того или иного инфекционного заболевания. Их труд был далеко не безопасен, требовал мужества, усердия, выдумки и веры в успех.

У первых вирусологов были очень ограниченные возможности для проведения исследований: бактериальные фильтры да лабораторные животные, которым вводили подозрительный материал. Затем больных животных забивали, пораженные органы растирали, фильтровали и фильтрат вводили здоровым животным. Подобные многодневные трудоемкие, дорогие и порой опасные эксперименты и послужили фундаментом для создания новой науки — вирусологии.

Эти мужественные исследователи проделали грандиозную работу. Если вспомнить, что в то время еще не существовало культур клеток, а использовались в основном экспериментальные животные, то надо признать, что все названные открытия вирусов оказались возможны лишь благодаря энтузиазму первопроходцев. К сожалению, среди первого поколения вирусологов были жертвы: вирусы не торопились открывать свои тайны и мстили людям, пытавшимся срывать с них покрывало таинственности и фатальности.

Великие открытия, сделанные первыми вирусологами, золотыми буквами вписаны в историю вирусологии, ибо они заслуживают особой благодарности человечества.

Вот как выглядит хронология этих открытий.

1898 г. (через 6 лет после Д.И. Ивановского) — Фредерик Леффлер и Пауль Фрош открыли **вирус ящура** — первый вирус животных, вызывающий смертельно опасную инфекцию у крупного рогатого скота.

1898 г. — Джузеппе Санарелли открыл первый поксвирус — **вирус миксомы**, вызывающий смертельно опасную болезнь кроликов (первый поксвирус).

1900 г. — Уолтер Рид с коллегами открыли **вирус возбудителя желтой лихорадки** (первый вирус человека).

1900 г. — Джон Мас Фадьен открыл **вирус, вызывающий африканскую болезнь лошадей** (первый орбивирус).

1901 г. — Эугенио Центанни открыл **вирус птичьего гриппа** (первый ортомиксовирус).

1902 г. — Аладар Ауэски открыл **вирус пседобешенства свиней** (первый представитель герпесвирусов).

1902 г. — Амедей Боррель открыл **вирус оспы овец**.

1902 г. — Маиус Николь и Мустафа Азил-бей открыли **возбудителя чумы крупного рогатого скота** (первый морбилливирус).

1902 г. — Арнольд Тейлор открыл смертельную болезнь овец — **вирус синего языка**.

1903 г. — Эмиль Швейниц и Марион Дорсет открыли **вирус лихорадки свиней** (первый пестивирус).

1903 г. — Пауль Ремлингер открыл **вирус бешенства** (первый рабдовирус).

1904 г. — Гери Валл и Генри Карре открыли **вирус инфекционной анемии лошадей** (первый ретровирус).

1905 г. — Генри Карре и Патрик Лайдлоу открыли **вирус чумы собак**.

1906 г. — Вильгем Эллерман и Олаф Банг обнаружили, что вирусы вызывают лейкоз (рак крови) у кур.

1907 г. — Песи Ашбурн и Чарльз Крейг открыли **вирус геморрагической лихорадки денге**.

1907 г. — Джузеппо Циуффо **открыл ВПЧ (вирус папилломы человека)** (первый папилломавирус).

1908 г. — Вильгельм Эллерман и Олаф Банг открыли первый онкогенный **вирус лейкемии кур**.

1909 г. — Карл Ландштейнер и Константин Левадити открыли **вирус полиомиелита**.

1909 г. — Роберт Доэрр открыл **вирус москитной лихорадки**.

1911 г. — Джон Андерсон и Джозеф Гольдберг открыли **вирус кори**.

1911 г. — Пентон Раус и Джозеф Берд открыли **вирус саркомы мышей**.

1912 г. — В. Грютер выделил **вирус простого герпеса** (ВПГ).

1914 г. — Альфред Хесс, Ю. Хиро и С. Тасака открыли **вирус краснухи** (первый рубивирус).

1916 г. — Фредерик Творт и Феликс д'Эррель независимо друг от друга открыли **вирусы бактерий (бактериофаги)**, ставшие в конце 1930-х гг. идеальным объектом для важнейших молекулярно-генетических исследований в вирусологии.

Как видите, потребовалась примерно четверть века, чтобы открыть первые два десятка вирусов и доказать, что эти мельчайшие представители третьего царства всеядны. Они угрожают не только людям, животным и растениям, но и всему остальному живому миру, вплоть до своих ближайших родственников по микромиру — бактерий.

В целом на самом первом этапе широко использовались экспериментальные животные: белые мыши и белые крысы, морские свинки, хомяки и кролики. Как вы уже знаете, Л. Пастер еще до начала вирусологической эры путем внутримозговых пассажей на кроликах создал вакцину против бешенства. Вплоть до середины 1930-х гг. заражение и последующая фильтрация суспензии органов и тканей животного, по сути дела, методология, разработанная Д.И. Ивановским, стала главным способом открытия вирусов. Надо отметить, что и позже экспериментальные животные использовались для открытия вирусов. Так, на обезьянах удалось открыть вирусы оспы, полиомиелита, желтой лихорадки, денге. В 1940–1950-е гг. была показана высокая чувствительность новорожденных мышей, крыс и хомяков к разным вирусам, особенно передающимся членистоногими (арбовирусы).

Переходным этапом между первым и вторым периодами стали куриные эмбрионы.

КУРИНЫЕ ЭМБРИОНЫ

В начале 1930-х гг. будущий лауреат Нобелевской премии знаменитый австралийский вирусолог Фрэнк Бёрнет предложил новое для вирусологии «экспериментальное животное» — куриные эмбрионы. Этот замечательный объект обеспечил серьезный прогресс вирусологии.

Для работы обычно используют 10–12-дневные куриные зародыши, у которых в это время хорошо развиты оболочки — хорион-аллантоисная и амниотическая. При заражении их разными вирусами может развиться вирусная инфекция. Размножение вируса происходит в течение 3–4 дней, когда иммунитет эмбриона еще не успевает развиться (рис. 4.1).

Использование куриных эмбрионов позволило открыть 37 новых вирусов человека — бешенства, желтой лихорадки, кори, парагриппа, свинки, оспы, гриппа и многих других.

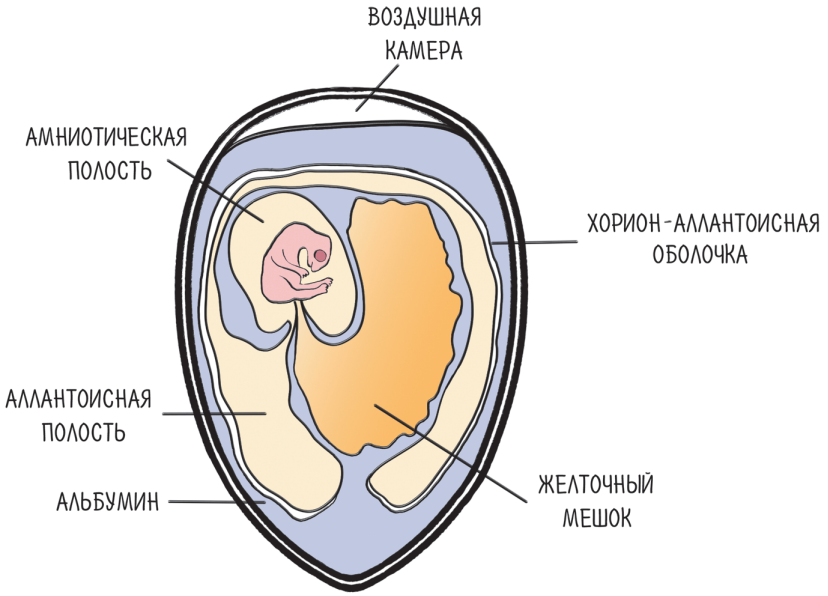

Рис. 4.1. Куриный эмбрион

У куриных эмбрионов есть еще одно важное достоинство. Раньше, при заражении экспериментальных животных, вирусы накапливались во внутренних органах, откуда их было очень сложно извлекать. Иное дело куриные эмбрионы: размножаясь в зародышевых оболочках, вирусы выделяются в аллантоисную и амниотическую жидкость, где накапливаются почти в чистом виде в громадных количествах.

В 1937 г. куриные эмбрионы были использованы швейцарцем Максом Тейлором для получения в промышленных масштабах созданного им знаменитого вакцинного штамма 17Д вируса желтой лихорадки. Через 14 лет после создания этой вакцины М. Тейлор был награжден Нобелевской премией. Еще через 20 лет с помощью куриных эмбрионов были открыты интерфероны (ИФН), о которых я расскажу в специальной главе «Дитя природы — интерферон».

Особенно большое значение до сих пор имеет техника культивирования в куриных эмбрионах вируса гриппа. Было обнаружено, что эти вирусы способны склеивать эритроциты зародыша курицы. На основе этого феномена была разработана реакция агглютинации эритроцитов, которую до сих пор широко применяют для диагностики гриппа и многих других вирусных инфекций. Наконец, возможность получения на куриных эмбрионах огромных количеств вируса гриппа позволила исследовать их химический состав, изучить динамику размножения и даже создать первые еще несовершенные противогриппозные вакцины.

Вслед за технологией использования куриных эмбрионов в вирусологии была разработана методология со странным для неспециалистов названием — «культура тканей».

Период второй — клеточный

Неспособность расти на искусственных питательных средах отражает степень паразитизма микроорганизмов. Действительно, свободно живущие бактерии, простейшие и грибки легко выращиваются на простых питательных средах, в то время как паразитические их виды требуют более сложных питательных сред, в состав которых должны входить витамины, гормоны, плазма или сыворотка крови, эритроциты, тканевые экстракты и пр. Но все это не годится для вирусов, которые способны размножаться только в живых клетках и отказываются расти даже на самых сложных по своему составу питательных средах. Именно поэтому второй период развития вирусологии был связан с переходом исследований на клеточный уровень.

Попытки выращивать клетки вне организма предпринимались еще в позапрошлом столетии. В конце XIX в. русский ученый Скворцов, а затем в начале нашего столетия англичанин Каррел доказали возможность поддержания жизни клеток вне организма при условии своевременной подачи питательных веществ и кислорода и удаления продуктов дыхания и обмена. Первые результаты казались скорее курьезными, чем перспективными, и были встречены скептически. Культуре клеток вне организма предстояло пройти длинный и трудный путь совершенствования.

Задача оказалась непростой, и работа продвигалась крайне медленно. Если воспользоваться словами поэта, эта титаническая работа напоминала добычу радия: «в грамм добыча, в год труды». Каждый шаг вперед занимал годы поисков. Лишь через 30 лет после начала исследований ученые научились поддерживать жизнь в пробирке длительный срок. Для этого пришлось решить по крайней мере три сложнейшие задачи:

1) для поддержания жизни клеткам требовались питательные среды очень сложного состава. Они должны были содержать комбинацию солей, аминокислот, углеводов, витаминов и множество других компонентов. К примеру, теперь одна из самых распространенных питательных сред содержит 199 компонентов! Она так и называется — среда № 199;
2) клетки могли расти лишь в условиях полной стерильности. До появления антибиотиков решить эту задачу было непросто. Чтобы уберечь клетки от множества бактерий, приходилось фильтровать среды, стерилизовать воздух, кипятить инструменты. Работа проводилась в спе-

циальных, герметически закрывающихся боксах — словом, все делалось для асептики;

3) культуры клеток представляют собой клетки многоклеточного организма, живущие и размножающиеся в искусственных условиях вне организма (*in vitro*). Известно, что ткани живого организма обладают тонкими и безотказно регулируемыми системами, поддерживающими постоянство внутренней среды, в которой существуют клетки. Значительно труднее создать подобные однородные условия искусственно. Здесь вновь возникает множество трудноразрешимых проблем.

Я не буду утомлять читателя описанием кропотливого труда, в результате которого были найдены сложные составы питательных сред, пределы температуры, концентрации солей и водородных ионов и прочих составляющих, необходимых для культивирования клеток.

Отмечу только, что к середине XX в. клеточные культуры в биологии стали применяться достаточно широко. Метод позволил увидеть под микроскопом, как живут и размножаются клетки, как они реагируют на разные воздействия, одним словом, появилась возможность смоделировать жизнь клеток вне организма — в пробирке.

Источниками таких клеток служили живые ткани, которые расщепляли на отдельные клетки с помощью ферментов. Клетки смешивали с питательной средой и помещали в плоские стерильные герметически закрываемые сосуды, называемые странным для неспециалистов сочетанием слов «культуральные матрасы» (рис. 4.2).

Рис. 4.2. Матрас для культивирования клеток тканей

Клетки распластываются по дну матраца и начинают делиться. Вскоре на поверхности матраца образуется сплошной слой живой ткани толщиной в одну клетку (монослой). Когда клетки полностью покрывают все дно сосуда, их снимают со стекла, переносят в новые стерильные матрацы, добавляют свежей питательной среды, и все начинается сначала. Этот процесс называется пассированием, или перевивкой клеток.

На рис. 4.3 показаны основные варианты первичных и перевиваемых тканевых культур, наиболее широко используемые в настоящее время.

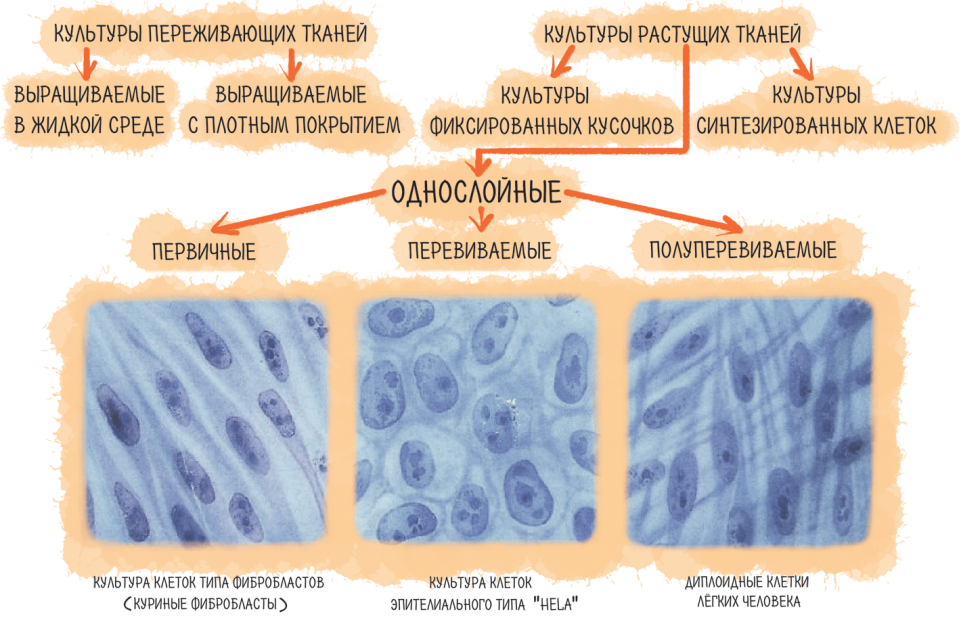

Рис. 4.3. Типы тканевых культур

Теперь уже не верится, что вся эта многолетняя кропотливая работа специалистов по клеткам (цитологов) долгое время не имела никакого отношения к вирусологии. Лишь после того как выращивание клеток в пробирках стало обычным делом, стали делаться попытки размножать на них вирусы.

Первой использованной вирусологами стала классическая перевиваемая мышиная линия клеток, названная L-929. Она обладала широким спектром чувствительности к вирусам псевдобешенства, везикулярного стоматита, герпеса и др.

Но самой знаменитой стала линия клеток, полученных в начале 1950-х гг. из раковой опухоли шейки матки умершей молодой женщины по имени Генриетта Лакс. Из этой опухоли ученые вывели перевиваемую линию клеток HeLa, известную теперь каждому вирусологу. Вот уже почти 70 лет эти клетки, проделавшие более 6 тыс. пассажей (пересевов), широко используются в вирусологии. Любопытно, что одна английская фирма, занима-

ющаяся коммерческим производством живых клеток, заявила о возможности довести выработку клеток HeLa до десятков килограммов в неделю. Это означает, что в течение месяца вполне реально получить количество клеток, равное массе взрослого человека.

В настоящее время существует великое множество других доступных для исследований линий клеток человека и животных, которые хранятся в жидком азоте в специальных музеях клеток уже десятки лет. Каждая линия имеет специальный сертификат, в котором описаны все свойства клеток, вплоть до их чувствительности к определенным вирусам. При регулярных перевивках можно неопределенно долго поддерживать жизнеспособность культуры.

После получения широкого спектра перевиваемых клеток последовал настоящий взрыв открытий вирусов человека и животных. Примерно две трети известных теперь вирусов были открыты благодаря введению в вирусологию метода культуры тканей.

Как известно, после заражения животного патогенным для него вирусом развивается болезнь с характерными для нее симптомами. А при заражении культуры клеток вирусом, к которому эта культура чувствительна, обычно наблюдают так называемые цитопатические проявления, то есть видимые под микроскопом изменения или повреждения клеток, характерные для того или иного вируса.

Одни вирусы (например, полиомиелита) вызывают острую гибель клеток (рис. 4.4), при заражении аденовирусами наблюдается округление клеток и медленная их гибель, при заражении вирусом кори происходит слияние клеток и образование гигантских клеток (симпластов), содержащих несколько ядер, наконец, при заражении клеток вирусами оспы в них появляются своеобразные включения, в которых происходит размножение вируса.

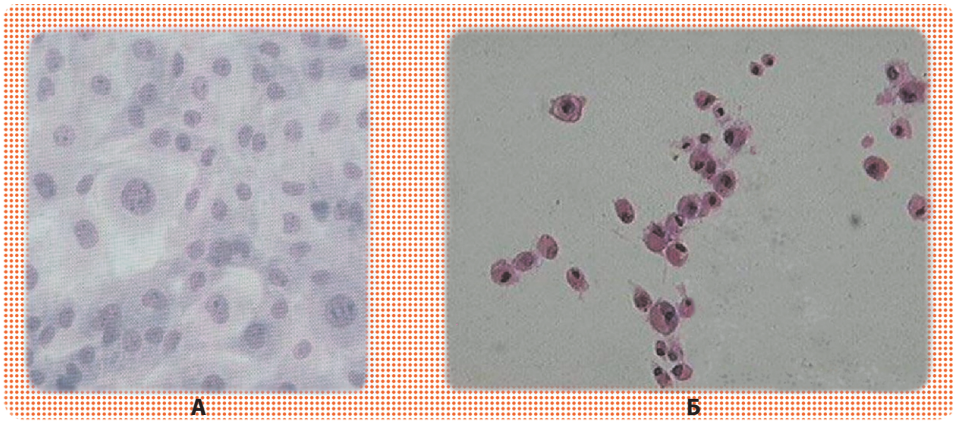

Рис. 4.4. Цитопатическое действие вируса: А — монослой здоровых незараженных клеток; Б — «кладбище» клеток после встречи с вирусом полиомиелита

Цитопатический эффект лег в основу метода титрования вирусов. Титрование — прием количественного определения вируса, когда 10-кратными разведениями вируса заражают чувствительные к нему клетки. Максимальное разведение вируса, вызывающее цитопатическое действие на клетки пласта (монослоя), принимают за инфекционную дозу вируса.

Подобным образом определяют и активность иммунных сывороток, только в этом случае берут одну и ту же дозу вируса, которую смешивают с разными разведениями иммунной сыворотки.

При использовании культур тканей, так же как и на куриных эмбрионах, удается получить очищенный вирус, который выделяется из клеток в жидкую культуральную среду. Далее его можно сконцентрировать, осадив в центрифуге.

Мы уже говорили, что культуры тканей произвели подлинную революцию в вирусологии, так как позволили перейти от изучения вирусной инфекции к изучению самого вируса — его строения, химического состава, способа репродукции (размножения); подготовили возможность следующего молекулярного этапа развития вирусологии — выхода ее на молекулярный и субмолекулярный уровни.

После внедрения в вирусологическую практику метода культуры тканей началась планомерная борьба с невидимым врагом. Шаг за шагом, ставя тысячи опытов, самоотверженно шли вирусологи по тернистому пути познания. Постепенно был накоплен огромный фактический материал, касающийся строения, химического состава и болезнетворных свойств вирусов. Были разработаны и изящные методы вирусологического анализа. Последовательное открытие вирусов, поражающих растения, животных, человека и бактерии, позволило сформулировать общий вывод о существовании особого царства вирусов, представители которого обладают уникальными, только им присущими свойствами. В процессе поступательного развития вирусологии происходило накопление информации о месте вирусов в природе и их роли в эволюции органического мира.

До конца XX в. благодаря этому методу были открыты сотни новых вирусов, из числа которых я упомяну лишь возбудителей заболеваний людей.

1931–1940 гг. — вирусы кори, паротита, гриппа, ветряной оспы, долины Рифт, энцефалитов лошадей, энцефалита Сент-Луис, клещевого и японского энцефалитов, западного Нила, гепатитов А и В, Буниамвера, ортореовирусы.

1941–1960 гг. — аденовирусы, Сендай, орторетровирусы, Синдбис, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, парагриппа, конго-крымской геморрагической лихорадки, Коксаки, цитомегалии, лимфомы Беркитта.

1961–1980 гг. — вирусы краснухи, Мачупо, подострого склерозирующего панэнцефалита, коронавирусы человека, аденоассоциированные вирусы, вирусы Марбург, Ласса, денге, астровирусы, вирус Эбола, гепатита А и гепатита D, ротавирусы, хантавирусы, Т-лимфоцитарные вирусы человека 1-го и 2-го типов, вирус Эпштейна–Барр, вирусы архей.

1981–2000 гг. — герпесвирусы 6, 7 и 8-го типов, вирус гепатитов С и Е, метапневмовирус, бокавирусы.

В итоге к концу XX в. стало казаться, что все возбудители вирусных инфекций уже известны. Но не тут-то было. Начало XXI в. ознаменовалось новой атакой вирусов, представлявших угрозу для всего человечества.

2001 г. — метапневмовирусы, относящиеся к парамиксовирусам. Выявлены сотни вариантов метапневмовирусов, вызывающих тяжелые поражения нижних дыхательных путей (бронхиты и пневмонии) у детей и взрослых.

2002 г. — в Гонконге у детей началась вспышка **SARS** (тяжелый острый респираторный синдром), вызванная новым **коронавирусом**. Она быстро распространилась на 37 стран мира и была названа атипичной пневмонией. К концу эпидемии заболели 8422 человека, из которых умерли 916.

2003 г. — в водах Мирового океана были открыты самые крупные из известных вирусов — мимивирусы.

2004 г. — вирусы ECHO.

2005 г. — вирусы гепатита С.

2005 г. — бокавирусы (представители семейства парвовирусов), вызывающие у детей тяжелую респираторную инфекцию.

2012 г. — в Саудовской Аравии выделен **коронавирус MERS CoW —** причина тяжелых респираторных заболеваний (смертность достигала 50%). Резервуаром этого вируса оказались летучие мыши и одногорбые верблюды.

2014 г. — в Гвинее и ряде других стран Африки вспыхнула геморрагическая лихорадка известного уже более 30 лет **вируса Эбола**.

2016 г. — вспышка геморрагической лихорадки, вызываемая **вирусом Зика**.

2018 г. — в США зарегистрирована вспышка острых респираторных вирусных заболеваний (ОРВИ), вызванная аденовирусом 7-го типа.

Как видите, среди названных заболеваний оказалось и новые, ранее неизвестные вирусы, и старые знакомые, которых стали назвать «возвращающиеся вирусы».

Нужно добавить, что, кроме «человеческих» вирусов, были открыты сотни вирусов животных и растений, приносящих серьезный ущерб ветеринарии и сельскому хозяйству. Некоторые из них оказались заразны и для людей. Например, вирусы восточного, западного и венесуэльского энцефа-

ломиокардитов лошадей попали в список особо опасных вирусных инфекций человека.

Метод культуры ткани определил дальнейший прогресс вирусологии. Он позволил успешно начать изучение закономерностей строения и размножения вирусов, совершить качественный скачок в развитии такого важного раздела этой науки, как диагностика вирусных инфекций, открыть ранее неизвестные роды и семейства вирусов, разработать новую технологию изготовления вирусных вакцин и т.д.

Главным итогом этого периода было становление вирусологии как самостоятельной науки с собственным арсеналом методов и объектов исследования. С этого времени на смену эре бактериологии пришла эра вирусологии, которая, надо полагать, еще долго сохранит свои лидирующие позиции.

В целом благодаря клеточному этапу изучения вирусов было доказано, что:

1) вирусы существуют в двух основных формах: внеклеточной и внутриклеточной;
2) вне клеток вирионы (вирусные частицы) не обнаруживают никаких признаков жизни;
3) проникая в чувствительные клетки, вирусы переходят из пассивной покоящейся формы в активную. Начинаются сложные, многоэтапные процессы репродукции, о которых будет рассказано в дальнейшем.

Хочу особо отметить выдающиеся исследования, проведенные на культурах тканей и удостоенные Нобелевских премий.

1954 г. — Джон Эндерс, Томас Уэллер и Фредерик Робенс — открытие способности вируса полиомиелита размножаться в клетках разных тканей, что стало основой последующего масштабного приготовления культуральных вакцин.

1983 г. — Франсуаза Баре-Синусси и Люк Монтанье — открытие вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) — причина синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИДа).

1989 г. — Джон Бишоп и Гарольд Вармус — открытие клеточной природы ретровирусных онкогенов.

1997 г. — Стенли Прузинер — открытие прионов — новых невирусных инфекционных агентов.

Период третий — молекулярный

Самых поразительных успехов наша наука добилась во второй половине XX в., когда в вирусологию обильным потоком хлынули современные мето-

ды физики, химии, генетики, цитологии и молекулярной биологии. Упомяну лишь некоторые из них:

- метод иммунофлуоресценции Альберта Кунса;
- методы микротитрации Гуила Таккачи;
- метод титрования вирусов животных по бляшкам Ренато Дульбекко;
- методы ультрацентрифугирования Теодора Сведберга;
- центрифугирование в градиенте плотности (Мэтью Мезельсон, Фрэнк Сталь и Джером Виноград);
- рекомбинантная ДНК-технология (Стэнли Коэн и Герберт Бойер);
- РНК-сплайсинг (Филипп Шарп и Ричард Робертс).

Эта революция методов сделала возможным в кратчайшие сроки изучить строение, химический состав и закономерности репродукции вирусов.

Если в 1960–1970-х гг. основное внимание вирусологов было фиксировано на характеристике вирусных нуклеиновых кислот и белков, то к началу 1980-х уже была расшифрована полная структура многих вирусных геномов и установлена не только аминокислотная последовательность, но и первичная, вторичная и третичная пространственная структура вирусных белков.

Но самым главным итогом молекулярного периода вирусологии было кардинальное изменение отношения к вирусам. Полученные данные с несомненностью доказывали, что вирусы не только мельчайшие внутриклеточные паразиты, приносящие вред, они могут быть очень удобными инструментами познания общебиологических закономерностей.

Самые выдающиеся достижения молекулярного периода развития вирусологии были отмечены Нобелевскими премиями. Хочу особо подчеркнуть, что большинство указанных исследований было выполнено на модели бактериофагов.

1939 г. — Эмори Эллис, Макс Дельбрюк и Сальвадор Лурия изучили закономерности размножения фагов в индивидуальных бактериальных клетках, что легло в основу открытия генетической рекомбинации вирусов и последующего развития молекулярной биологии вирусов в целом.

1949 г. — Франсуа Жакоб, Жак Моно и Андре Львов открыли у фагов феномен лизогении и индукции профагов и установили закономерности генетического контроля синтеза вирусов.

1952 г. — Альфред Херши и Марта Чейз на модели фагов доказали, что именно нуклеиновая кислота (ДНК), а не белок является структурой, переносящей наследственные свойства вирусов.

1947–1955 гг. — Джошуа Ледербер открыл феномен трансдукции, доказав с помощью бактериофагов (векторы), что генетические фрагменты могут переноситься из одной клетки в другую. Тем самым были заложены основы будущей генной инженерии.

1955 г. — Хейнц Френкель-Конрат и Робли Вильямс осуществили реконструкцию вируса табачной мозаики (ВТМ) из его компонентов (белков и РНК).

1970 г. — Говард Темин и Дейвид Балтимор открыли фермент — обратную транскриптазу у ретровирусов.

1972 г. — Пол Берг создал первые рекомбинантные молекулы ДНК, построенные на основе кольцевого ДНК-генома вируса SV40 с включением генов фага и галактозного оперона *E. coli*. Эта работа дала начало технологии рекомбинантных ДНК.

1973 г. — Стенли Коэн и Герберт Бойер разработали методы молекулярного клонирования, легшие в основы генной инженерии.

1976 г. — Барух Бламберг и Карлтон Гайдушек открыли новые механизмы происхождения и распространения вирусных инфекций.

1980 г. — Фредерик Санджер и Вальтер Фаерс полностью расшифровали нуклеотидную последовательность генома фага ОХ174 (5375 нуклеотидов) с помощью нового энзиматического метода.

1981 г. — Д. Джостак разработал методологию использования дрожжевых хромосом как вектора для создания рекомбинантных вирусных вакцин, благодаря чему уже через два года У. Риттер с сотрудниками создали первую рекомбинантную вакцину против гепатита В.

2008 г. — Харальд цур Хаузен доказал, что 16-й и 18-й типы вируса папилломы вызывают у женщин рак шейки матки.

В заключение хочу особо подчеркнуть, что три основных этапа изучения вирусов соответствуют трем основным уровням биологического познания: организменному, клеточному и молекулярному. Именно такое всестороннее изучение позволило:

1) открыть и описать большинство известных теперь вирусов, разработать методы их выделения, накопления и идентификации;
2) изучить структуру, химический состав и механизмы репродукции вирусов;
3) доказать автономность вирусов;
4) разработать методы диагностики вирусных инфекций;
5) высказать основные гипотезы о происхождении вирусов;
6) сделать вирусы уникальным инструментом для изучения сущности жизни.

Современные вирусологические методы

В настоящее время в работе с вирусами, помимо классических методов работы с экспериментальными животными и культуры тканей, вирусологи

широко используют методы биохимии и биофизики. Эти методы позволяют им изучать уже не целый вирус, а отдельные его компоненты, и не целую клетку, а ее составные части. Для этой работы необходимо использовать центрифугирование и радиоактивные изотопы, а порой и математический анализ — все эти и многие другие прецизионные (сверхточные) методы и сложные приборы пришли в вирусологию и дали новый толчок ее развитию.

ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ

Надо сказать, что центрифуги используются не только для тренировки космонавтов. Центрифугирование — это главным образом способ разделения неоднородных смесей на составные части под действием центробежной силы, природа и физическая сущность которой известна каждому еще со школы. Правда, чтобы разделить и очистить крупные молекулярные и надмолекулярные образования, необходимы такие скорости вращения, при которых центробежная сила превышала бы земное тяготение в десятки тысяч раз. Устройства с такими гигантскими скоростями вращения называются ультра- или суперцентрифугами. Современные центрифуги — сложные и совершенные приборы. Линейная скорость на ободе ротора ультрацентрифуги превышает скорость полета пистолетной пули. Вращение ротора позволяет получить в центрифужных пробирках ускорение силы тяжести, в сотни тысяч раз превышающее силу земного притяжения. Под действием чудовищной силы вирусы начинают оседать на дно, а дальше можно изучать их свойства.

АТОМНОЕ ОРУЖИЕ ВИРУСОЛОГОВ

А как понять загадочные секреты размножения вирусов? Задача кажется очень сложной: ведь надо выяснить, что происходит в зараженной вирусами клетке. Для этого приходится спускаться еще на одну ступеньку ниже и проводить исследование уже не на клеточном, а на молекулярном уровне.

Казалось бы, на этом уровне работать с объектом исследования проще: ведь молекула не клетка, она намного проще. Стало быть, и изучать ее легче. Но как же до нее добраться?

Зараженные клетки надо препарировать, а их содержимое раскладывать по полочкам. Такая работа порой напоминает поиски иголки в стоге сена (инородное в подобном) или, что еще сложнее, песчинки в куче песка (подобное в подобном). На помощь пришли радиоактивные изотопы. Их, как фонарики, подвешивают к вирусному белку или нуклеиновой кислоте, и они исправно сигнализируют о местонахождении вируса в зараженной клетке, его судьбе, скорости синтеза и других параметрах.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Подготовительная работа к электронной микроскопии занимает гораздо больше времени, чем сама микроскопия. Сначала нужно получить чистый и концентрированный препарат вируса. Для этого вирусы буквально «отмывают в семи водах» с помощью мощных суперцентрифуг и «чистят» в колонках с ионообменниками. Затем полученный вирус наносят на тончайшую сетку, покрытую пленкой коллодия или формвара, и «припудривают» очень мелкой металлической пылью, и только после этого препарат можно рассматривать под микроскопом.

МАТЕМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Мы уже не удивляемся, встречая, например, на одной странице термины «головная боль», «насморк», «хрипы в легких» в благополучном и плодотворном соседстве с понятиями «одномерные совокупности» или «разделяющая гиперплоскость *re*-мерного пространства».

Именно определение разделяющей гиперплоскости и составляет сущность метода дискриминантного анализа для дифференциального диагноза таких близких заболеваний детей, вызываемых, например, вирусами парагриппа и аденовирусами.

Человек не в состоянии удержать в памяти все возможные в данных условиях комбинации, и правильное заключение дается зачастую лишь благодаря врачебной интуиции.

Применение методов аналитической геометрии и математической статистики позволило не только найти числовую критическую характеристику, но и разработать метод ранней диагностики, удивляющий своей простотой и надежностью.

Абстрактность многомерного пространства была преобразована в конкретность математических оценок признаков, сведенных в диагностические таблицы. Врачи получили возможность в течение двадцатиминутного осмотра больного различать две эти очень схожие болезни с такой степенью точности, которая ранее достигалась лишь в результате длительного, многодневного наблюдения больного и применения многочисленных лабораторных вирусологических исследований.

Как видите, современным вирусологам, чтобы дотянуться до плодов древа познания, приходится использовать широкий арсенал приборов и реактивов, необходимых для исследования вирусов: электронные микроскопы высокой разрешающей способности, дающие возможность увидеть вирусы, ультрацентрифуги, ускоряющие движение частиц до двухсот тысяч ускоре-

ний силы тяжести, позволяющие разделить смесь частиц и молекул, имеющих разную величину, форму и плотность; радиоактивные изотопы, дающие возможность пометить отдельные молекулы и измерить их количество, выражающееся миллионными долями грамма.

В итоге во второй половине XX в. ученые узнали о природе вирусов больше, нежели за предыдущие 60 лет, прошедших после открытия первого вируса: удалось измерить и взвесить вирусы, определить их химический состав, закономерности размножения, место в природе, роль в возникновении болезней, а также разработать эффективные методы борьбы с вирусами. Чтобы проделать всю эту работу, потребовались совместные усилия многих наук. В результате сами вирусы превратились в междисциплинарный объект исследований.