

Virulenssin evoluutio viruksilla

Jenni Sirén

LuK-tutkielma

Biologian tutkinto-ohjelma

Ekologian ja genetiikan tutkimusyksikkö

Oulun yliopisto

Marraskuu 2019

Sisällys

1. Johdanto	3
2. Virulenssin määritelmä	4
3. Teoriat	4
3.1. Avirulenssiteoria	5
3.2. Allokaatiokustannushypoteesi.....	6
4. Myksoomavirus.....	9
4.1. Myksoomaviruksen virulenssitekijät.....	10
4.2. Myksoomaviruksen virulenssin evoluutio.....	11
4.2.1. Australiassa	11
4.2.2. Euroopassa	12
5. HI-virus 1 (Human Immunodeficiency Virus 1, HIV-1).....	14
5.1. HIV-1:n virulenssitekijät.....	15
5.2. HIV-1:n virulenssin evoluutio.....	16
6. Yhteenveto	18
7. Lähteet.....	19

1. Johdanto

Virukset ovat yleisin biologinen ryhmä koko maailmassa. Ne infektoivat kaikkia eläviä organismeja ja joissain harvoissa tapauksissa myös muita viruksia. Campbellin ym. (2018) mukaan virukset ovat solunsisäisiä loisia, jotka eivät nykykäsityksen mukaan täytä elävän organismin määritelmää. Ne eivät pysty lisääntymään ilman isäntäsoluaan, eikä niillä ole aineenvaihduntaa. Viruspartikkeli koostuu genomista muodostavasta nukleiinihaposta sekä sitä ympäröivästä proteiinikuoresta. Lisäksi viruksilla voi olla proteiinikuoren päällä isäntäsolun kalvorakenteista peräisin oleva lipidivaippa, jossa voi olla kiinni hiilihydraattirakenteita.

Virukset ovat geneettisesti erittäin monimuotoinen ryhmä, joten niiden taksonominen luokittelu on osoittautunut haastavaksi. Campbellin ym. (2018) mukaan virukset voidaan luokitella proteiinikuoren rakenteen, isäntäeliön tai genomista perusteella. Proteiinikuori voi olla rakenteeltaan joko sauvamainen tai ikosaedri. Ikosaedri on kappale, joka koostuu kahdestakymmenestä säännöllisestä kolmiosta, jotka sijoittuvat symmetrisesti kolmen akselin suhteen.

Virusten luokittelu isäntäeliön perusteella on mahdollista, sillä ne ovat isäntänsä suhteen yleensä hyvin valikoivia. Esimerkiksi HIV-1 pystyy infektoimaan vain tiettyjä ihmisen immuunijärjestelmän soluja, sillä sen pintarakenteet ovat yhteensopivia vain näistä soluista löytyvien reseptorien kanssa. Virukset voidaan Campbellin ym. (2018) mukaan jakaa kuuteen luokkaan genomista rakenteen ja replikaatiomekanismin perusteella. Viruksen genomi voi koostua joko DNA:sta tai RNA:sta ja se voi olla kummassakin tapauksessa yksi- tai kaksijuosteinen. RNA-viruksilla perimä voi suoraan toimia isäntäsolussa lähetti-RNA:na, tai jos kyseessä on retrovirus, RNA käännetään ensin käänteiskopioijaentsyymien avulla DNA:ksi.

Virulenssi, eli patogeenin aiheuttama haitta sen isäntäorganismille, on eri viruskantojen välillä suuresti vaihteleva ominaisuus. Louis Pasteur oli tiettävästi ensimmäinen, joka määritteli virulenssin muuttuvana ominaisuutena perunaruttobakteerin heikentymistä käsittelevässä tutkimuksessaan vuonna 1881 (Alizon ym. 2009). Virulenssin laajakirjoisuuteen vaikuttavat viruksen geneettiset ominaisuudet, isäntäorganismien immuunijärjestelmän aiheuttamat valintapaineet sekä populaatiotason evolutiiviset mekanismit, jotka pyrkivät optimoimaan virulenssin ja leviämiskyvyn välisen suhteen (Alizon ym. 2009; Fraser ym. 2014).

Virulenssi on osa kaikkia patogeeni-infektioita, joten liiallista laajuutta välttääkseni käsittelen tässä tutkielmassa vain virusten virulenssin evoluutiota, käyttäen esimerkkilajeina myksoomavirusta sekä HI-virus 1:stä.

2. Virulenssin määritelmä

Yksinkertaisin määritelmä virulenssille on patogeeni-infektiosta aiheutuva haitta isäntäorganismille (Geoghegan & Holmes, 2018). Virulenssi aiheuttaa siis isännän kelpoisuuden alenemista. Alizonin ym. (2009) mukaan osa patogeenin haitallisista vaikutuksista on isännän immuunijärjestelmän toiminnan seurausta. Näin ollen ainakin osa virulenssista johtuu isännän immuunijärjestelmän reaktioista patogeenin omien ominaisuuksien sijaan. Tosin voidaan ajatella, että virulenssi on tällöinkin patogeenista johtuva ominaisuus, joka saa immuunijärjestelmän reagoimaan voimakkaasti ja aiheuttamaan itselleen harmia.

Virulenssin mittaaminen ei ole yksinkertaista, sillä Alizonin ym. (2009) mukaan isännän kelpoisuuden aleneminen sisältää useita tekijöitä. Teoreetikot käyttävät usein kuolleisuutta virulenssin mittarina, sillä se on helppo kvantifioida. Kuolleet eliöt eivät levitä patogeeniä eteenpäin ja infektion lopputulema on helposti nähtävissä. Empiirisessä tutkimuksessa kuolleisuus ei kuitenkaan ole yleensä hyvä mittari virulenssille, sillä kuolemaan johtamattomat tekijät ovat eettisempiä mittareita. Lisäksi kuolema ei ole ainoa patogeeni-infektion haitallinen seuraus, joten pelkästään kuolleisuuden tarkasteleminen jättää paljon muita kelpoisuutta alentavia tekijöitä huomiotta. Kuolemaan johtamattomia tekijöitä, joiden avulla voidaan mitata virulenssia, ovat muun muassa painon aleneminen, anemia, käytöksen muutos ja tiettyjen elimien vahingoittuminen (Alizon, 2008; Alizon ym. 2009).

3. Teoriat

Mutkaton tulkinta virulenssin evoluutiolle on, että luonnonvalinta optimoi virulenssin tasolle, joka maksimoi patogeenin kelpoisuuden. Kelpoisuus ilmoitetaan R_0 :lla (Geoghegan & Holmes, 2018). R_0 (basic reproductive number) on yhden tartuttavan isännän aiheuttamien sekundääristen infektioiden määrä täysin alttiissa populaatiossa. Eri tekijöiden vaikutukset kelpoisuuteen voidaan esittää kaavan $R_0 = \frac{\beta S}{\mu + \alpha + \gamma}$ avulla. Kaavassa S on alttiiden yksilöiden

tiheys populaatiossa, β on patogeenin levittäytymisnopeus, eli nopeus, jolla isäntäorganismi saa tartunnan kun se on kontaktissa tartuttavan isännän kanssa, μ on isäntien luonnollinen kuolleisuus, α on infektion aiheuttama kuolleisuus eli virulenssi ja γ on paranemisnopeus (Alizon ym. 2009). Todellisuudessa patogeenin kelpoisuus määräytyy usean monimutkaisen patogeenin ja isännän välisen vuorovaikutuksen tuloksena (Geoghegan & Holmes, 2018).

Uuden infektion alussa, etenkin jos kyseessä on isännänvaihdos, virulenssi voi vaihdella täysin oireettomasta todella patogeeniseen eli sairautta aiheuttavaan. Paikkaa tällä akselilla on vaikeaa ennustaa, mutta suunta voidaan joissain tapauksissa odottaa, jos ymmärretään virulenssin ja levittäytymisen suhde (Geoghegan & Holmes, 2018). Isännänvaihdoksen jälkeistä virulenssia voidaan ennustaa isäntäorganismien fylogenen avulla. Läheistä sukua olevilla isäntäorganismeilla virulenssi on yleensä samankaltainen (Longdon ym. 2015).

Virulenssin evoluution mallinnukseen populaatiotasolla on olemassa kaksi teoriaa, avirulenssiteoria ja allokaatiokustannushypoteesi. Avirulenssihypoteesia ei juurikaan enää käytetä tutkimusten pohjana, sillä allokaatiokustannushypoteesi on kattavampi ja vastaa enemmän todellisuudessa nähtäviä ilmiöitä (Alizon ym. 2009). Populaatiotason dynamiikkojen lisäksi myös isäntäorganismien sisäiset valintapaineet, kuten immuunijärjestelmän toiminta sekä mahdollinen lääkitys vaikuttavat virulenssin evoluutioon (Bull, 1994; Fraser ym. 2014).

3.1. Avirulenssiteoria

Alizon ym. (2009) mukaan avirulenssihypoteesi esitettiin ensi kerran 1900-luvun alussa ja 1980-luvulle tultaessa siitä oli tullut yleistesti hyväksytty teoria virulenssin evoluutiolle. Avirulenssiteorian mukaan patogeenit menettävät korkean virulenssinsa sopeutuessaan uuteen ympäristöön eli isäntäänsä. Korkeaa virulenssia, eli suurta viruslastia ja nopeaa infektion etenemistä, ei tarvita enää, sillä infektio on jo tapahtunut. Mitä hitaammin isäntä kuolee, sitä kauemmin patogeeni elää ja sitä enemmän sillä on mahdollisuuksia levitä eteenpäin. Patogeenin ja isännän suhteesta tulee näin lähes mutualistinen.

Avirulenssiteoria kohtasi kuitenkin paljon kritiikkiä, ensimmäisen kerran jo 1930-luvulla. Huomattiin, että on olemassa vanhoja patogeeni-isäntä -suhteita, jotka ovat edelleen virulentteja (Alizon ym. 2009; Longdon ym. 2015). Virulenssi ei aina kehity avirulenssin suuntaan vaan mutualistisen suhteen sijaan se voi kehittyä entistä virulentimmaksi. Esimerkiksi Australiassa kaniinien biologiseen kontrolliin käytetyn viruksen, rabbit haemorrhagic disease

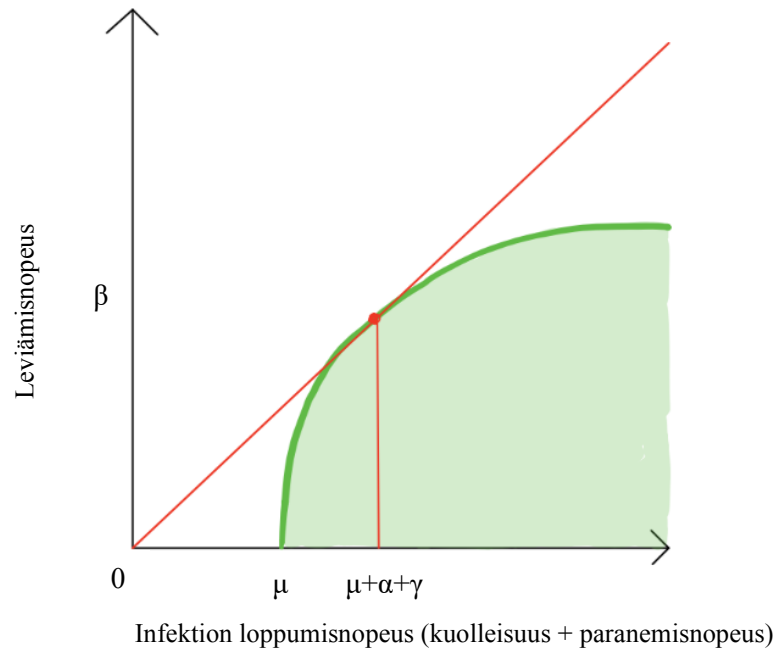
virus (RHDV), virulenssin evoluutio on johtanut korkeampaan virulenssiin kuin alkuperäisellä kannalla. RHDV:n virulenssi kasvaa ajan saatossa, sillä sen leviämisvektorina toimivat kärpäset käyttävät eläinten raatoja ravintonaan, jolloin isäntäorganismien kuolema on virulenssin kannalta toivottavaa (Elsworth ym. 2014; Geoghegan & Holmes, 2018). 1980-luvulla esitettiin monia vaihtoehtoisia teorioita avirulenssille, joista kuuluisimpana Andersonin ja Mayn (1982) allokaatiokustannushypoteesi.

3.2. Allokaatiokustannushypoteesi

Evoluutiivinen allokaatiokustannus (trade-off) tarkoittaa tilannetta, jossa kaksi ominaisuutta on kilpailevassa asemassa niin, että molempia ei voida optimoida samanaikaisesti. Kun toinen ominaisuus muuttuu positiiviseen suuntaan, toisen täytyy muuttua negatiiviseen suuntaan (Geoghegan & Holmes, 2018). Esimerkiksi, jos patogeenin virulenssi on liian korkea, isäntäorganismi kuolee ennen kuin patogeeni ehtii tuottamaan tarpeeksi jälkeläisiä ja näin infektoimaan lisää isäntiä. Jos virulenssi on liian matala, isännän immuunipuolustus eliminoi patogeenin, eikä se tällöinkään pääse replikoitumaan ja leviämään uusiin isäntiin. Patogeenin virulenssi on siis optimitasolla silloin, kun se infektoi uusia isäntiä tehokkaasti ja aiheuttaa samalla tarpeeksi vakavan infektion, ettei immuunipuolustus saa sitä heti kuriin.

Allokaatiokustannuskäyrän (kuva 1) avulla voidaan Alizonin ym. (2009) mukaan ennustaa systeemin evoluutiivista lopputulosta. Tyypillinen leviämisen ja virulenssin välinen allokaatiokustannus on mahdollisten leviämisten ja infektion keston käänteisarvon rajapinta (kuva 1, vihreä alue). Jos populaation evoluutio alkaa kohdasta 0 (kuva 1), valinta suosii kantoja, joiden leviämisenopeus (β) on suuri ja infektio kestää kauan, esimerkiksi tilanteessa, jossa virulenssi on matala ja paranemisnopeus hidas. Näin jatkuu, kunnes populaation leviämisenopeus ”osuu” rajaan (kuva 1, tummanvihreä käyrä) ja leviämisenopeuden kasvattaminen kasvattaa virulenssia tai paranemisnopeutta tai molempia. Jos käyrä on kovera, evoluutiivisesti vakaa strategia on käyrän tangentti, joka lähtee alkupisteestä (kuva 1, punainen suora). Evoluutiivisesti vakaa strategia määrittää virulenssin optimitason (α), joka kohtaa optimaalisen leviämisenopeuden (β) ja paranemisnopeuden (γ).

Anderson ja May (1982) esittivät allokaatiokustannuksen olevan paranemisen ja virulenssin



Kuva 1. Allokaatiokustannuskäyrä, Alizonin ym. (2009) Fig. 1 mukaan. β = patogeenin levittäytymisnopeus, μ = isäntäorganismien luonnollinen kuolleisuus, α = infektion aiheuttama kuolleisuus eli virulenssi ja γ = paranemisnopeus.

välillä, mutta nykyinen kanta on, että allokaatiokustannus on virulenssin ja levittäytymiskyvyn välillä. Patogeenit siis vahingoittavat isäntäänsä, vaikka elävä ja terve isäntä olisi leviämisen kannalta parempi vaihtoehto (Alizon ym. 2009; Blanquart ym. 2016; Geoghegan & Holmes, 2018). Isännän kelpoisuuden aleneminen eli virulenssi on vääjäämätön seuraus patogeenin lisääntymisessä isännässä (Alizon ym. 2009; Ebert & Bull, 2003). Myös levittäytymiskyvyn ja parantumisen välinen allokaatiokustannus saattaa vaikuttaa virulenssin evoluutioon, etenkin kun kyseessä oleva patogeeni ei tapa isäntäorganismiaan. (Alizon, 2008; Alizon ym. 2009).

Ebert ja Bull (2003) esittävät artikkelissaan kritiikkiä allokaatiokustannushypoteesista. Allokaatiokustannushypoteesi olettaa, että isäntäorganismien kuolleisuus johtuu ainoastaan patogeenista, ja että mitkään muut tekijät levittäytymiskyvyn ja virulenssin lisäksi eivät vaikuta patogeenin kelpoisuuteen. Virulenssin muuttumiseen vaikuttava epäsuora valinta ei tutkimuksissa yleensä noudattanut odotettua lopputulemaa, vaikka allokaatiokustannus oli nähtävissä. Lisäksi huomattiin, että allokaatiokustannus ei välttämättä aina johda optimaaliseen virulenssiin. Tutkimuksissa osoitettiin monimutkainen organismeille ominainen kaava patogeenin evoluutiolle, joka ei noudattanut yksinkertaisia virulenssin hallintamalleja. Tämä osoittaa, että allokaatiokustannushypoteesin pohjalta tehdyt odotukset eivät pitäneet paikkaansa, ja että hypoteesi on liian yksinkertainen.

Geogheganin ja Holmesin (2018) mukaan todellisuudessa isännän ja patogeenin väliseen suhteeseen vaikuttavat muutkin tekijät kuin virulenssi ja levittäytymiskyky. Lisäksi isäntäpopulaatiot ovat yleensä heterogeenisiä, mikä osaltaan vielä mutkistaa tätä suhdetta. Allokaatiokustannushypoteesi ei ota huomioon sitä, että patogeenien levittäytymiskykyyn vaikuttavat myös niiden leviämisreitit, joita yhdellä patogeenillä voi olla useita. Myös isäntäpopulaation käyttäytyminen ja ekologia vaikuttavat patogeenien leviämiseen (Alizon ym. 2009).

Allokaatiokustannushypoteesin käytännön todistus on Alizonin ym. (2009) mukaan todella vaikeaa ja hyvin vähän empiirisiä kokeita on tehty hypoteesin todistamiseksi, sillä levittäytymiskyvyn ja virulenssin mittaaminen sekä niihin variaation saaminen on hankalaa. Vaikka isäntäeliöt olisivat geneettisesti identtisiä, niiden tarinat voivat olla erilaiset, esimerkiksi immunologian kannalta. Lisäksi virulenssin kaikki osat eivät ole adaptoituvia, toisin kuin allokaatiokustannushypoteesi olettaa. Patogeenin ominaisuudet, jotka eivät muutu voivat myös osallistua virulenssin muodostumiseen ja vaikuttaa sen kelpoisuuteen.

Kritiikkiin on mahdollista vastata sillä, että allokaatiokustannushypoteesia ei ole tutkittu tarpeeksi. Toinen mahdollinen vaihtoehto on, ettei allokaatiokustannushypoteesia hylätä, koska ei haluta julkaista tutkimuksia, jotka eivät sovi yleisesti hyväksytyyn teoriaan, sillä suurin osa teoreettisista tutkimuksista olettaa allokaatiokustannusten olemassaolon. Alizonin ym. (2009) mukaan ne tehdyt empiiriset tutkimukset, joissa allokaatiokustannusteoria on näytetty todeksi, kuitenkin osoittavat, että allokaatiokustannuksia on löydettävissä, jos niitä osataan etsiä. Esimerkiksi HI-virus 1:n tapauksessa Ebert ja Bull (2003) esittävät, että allokaatiokustannushypoteesi ei pidä paikkaansa, mutta levittäytymisen ja virulenssin väliltä löydettiin myöhemmin allokaatiokustannushypoteesia vastaava suhde. Todisteiden puute johtuu siis luultavasti siitä, että datan keruu teorian todistamiseksi on hyvin monimutkaista (Alizon ym. 2009). Allokaatiokustannushypoteesin malliesimerkkinä käytetyssä myksoomavirustutkimuksessa olosuhteet olivat Ebertin ja Bullin (2003) mukaan liian erikoiset yleistettäväksi normaaleihin infektoihin, sillä siinä normaalia virulentimpi virus laitettiin uuteen isäntäorganismiin. Tutkimuksessa saatiin kuitenkin tärkeää tietoa siitä, miten virulenssin evoluutio käyttäytyy isännänvaihdoksen jälkeen.

Allokaatiokustannushypoteesia ei pitäisi Alizonin ym. (2009) mukaan hylätä kritiikistä huolimatta, vaan enneminkin tehdä lisätutkimuksia ja sitä kautta parantaa hypoteesia. Lisäksi suurin osa kritiikistä kohdistuu lajikohtaisten odotusten muodostamiseen, eikä hypoteesia ole

kehitetty sitä varten. Lajikohtaiset hypoteesit ja allokaatiokustannushypoteesi vastaavat erilaisiin asioihin patogeenien evoluutiota ajatellen. Allokaatiokustannushypoteesin ideana on toimia lähtökohtana varsinkin uusissa ongelmissa, sillä se tarjoaa yhteisen kehyksen empiiristen ja teoreettisten tulosten vertailulle. Tämän vertailun pohjalta voidaan lähteä rakentamaan lajikohtaisia malleja, jotka paremmin vastaavat juuri kyseisen lajin käyttäytymistä ja ekologiaa.

4. Myksoomavirus

Myksoomavirus kuuluu *Poxviridae*-sukuun, sen genomi on 161,8 kiloemäsparia pitkä ja koostuu lineaarisesta kaksijuosteisesta DNA:sta (Cameron ym. 1999). Se aiheuttaa eurooppalaisille kaniineille (*Oryctolagus cuniculus*) tappavaa sairautta, myksomatoosia. Myksomatoosissa kaniinille muodostuu haavaumia iholle ja sisäelimiin, jotka heikentävät kaniinin immuunipuolustusta ja eläin kuolee noin kahden viikon sisällä tartunnasta yleensä hengitysteiden bakteeri-infektioihin (Blanié ym. 2009). Ihon pintasolukossa virus aiheuttaa haavaumien lisäksi hyperplasiaa eli solujen lisääntymistä ja hypertrofiaa eli solujen koon kasvua. Myksoomaviruksen ja kaniinien välinen koevoluutio on klassinen esimerkki luonnonvalinnan vaikutuksesta virulenssiin patogeenin sopeutuessa uuteen isäntään (Kerr ym. 2015).

Kerrin ym. (2013) mukaan myksoomaviruksen alkuperäinen isäntä on brasilialainen metsäkaniini (tapeti, *Sylvilagus brasiliensis*). Metsäkaniinilla virus aiheuttaa yleensä vaarattomia sidekudoskasvaimia. Myksoomavirus on siis yksi esimerkki viruksesta, joka on todella virulentti isännänvaihdoksen jälkeen. Virus leviää pääasiasillisesti hyttysten ja kärpästen välityksellä, mutta kaniinin on mahdollista saada tartunta myös fyysisestä kontaktista sairaan yksilön kanssa. Virus ei replikoidu vektorissa, eli sen leviäminen on passiivista (Kerr ym. 2015). Viruksen leviämiskyky riippuu siis siitä, kuinka paljon kaniinin iholla on haavaumia, jossa on korkea viruskonsentraatio (Kerr ym. 2012).

Tutkimuksessaan Kerr ym. (2015) huomasivat, että virulentti myksoomavirus replikoituu ihon pintasolukon lisäksi MHCII -positiivisissa soluissa orvaskeden ja verinahkan välisellä rajapinnalla. Se kulkeutuu iholta imusolmukkeisiin ja T-solualueen lymfosyytteihin, jotka kuljettavat sen edelleen muihin solukoihin. Virusta ei tavata juuri ollenkaan vapaana veressä, mikä on osa sen immuunijärjestelmältä suojautumisen mekanismia.

Kerrin ym. (2013) mukaan myksoomavirusta käytettiin vuonna 1950 Australian kaniinikannan tuhoamiseen. Vuonna 1859 kaniineja tuotiin Australiaan 18-24 kpl ja vuoteen 1950 mennessä niitä oli noin 600 miljoonaa. Kaniinipopulaation lähes eksponentiaalinen kasvu johtui kaniinien lisääntymiskäyttäytymisestä sekä luonnollisten petojen puutteesta. Kaniininen suuri populaatiokoko aiheutti vakavia ekologisia ongelmia sekä taloudellista haittaa etenkin maanviljelijöille. Suurin osa kaniineista kuoli myksomatoosiin vuoden 1950 jälkeen, mutta osalle kehittyi resistenssi virusta vastaan. Myksoomavirusta on käytetty kaniinipopulaatioiden pienentämiseen myös Euroopassa (Kerr ym. 2017, 2012).

4.1. Myksoomaviruksen virulenssitekijät

Virulenssitekijöitä, eli immuunijärjestelmän toiminnan lamauttavia tai siltä suojautumiseen tarvittavia tekijöitä koodaavat geenit sijaitsevat lähellä toistojaksoja, jotka myksoomaviruksella sijaitsevat lähellä lineaarisen DNA-molekyylin päitä. Virulenssitekijägeenit ovat vähemmän konservoituneita *Poxviridae*-suvun jäsenillä kuin genomien keskiosan geenit, jotka koodaavat viruksen rakenneproteiineja. Myksoomaviruksella on useita virulenssitekijöitä, jotka muun muassa inhiboivat isäntäsolun apoptoosireittiä (M004, M005), interferonivastetta (M029, M156), NFκB- proteiinia, joka kontrolloi DNA:n transkriptiota ja sytokiinituotantoa (M150), sekä MHCI-reseptoreiden ilmenemistä (M153) (Kerr ym. 2013).

Liu ym. (2017) tutkivat kuutta mutaatiota viidessä eri virulenssiin vaikuttavassa geenissä australialaisilla myksoomaviruskannoilla, mutta eivät onnistuneet yhdistämään yksittäisiä mutaatioita tiettyyn virulenssin tasoon niin, että voitaisiin sanoa tietyn geenin aiheuttavan esimerkiksi virulenssin heikkenemistä kaikilla kannoilla. Tämä kertoo siitä, että virulenssiin vaikuttavat tekijät toimivat yhteisvaikutuksessa tai niitä säädellään ei-koodaavalla alueella, joka ei ollut mukana tutkimuksessa. Yksittäisten virulenssitekijöiden määrittäminen ja niiden liittäminen tiettyyn virulenssin tasoon varsinkin DNA-viruksilla on hankalaa, sillä virulenssitekijöiden määrä on suuri ja niiden lisäksi myös isäntäorganismien genotyyppi vaikuttaa virulenssiin.

4.2. Myksoomaviruksen virulenssin evoluutio

Myksoomaviruksella virulenssin ja levittäytymiskyvyn välinen allokaatiokustannus johtaa pääsääntöisesti keskitasoiseen virulenssiin (Geoghegan & Holmes, 2018). Luonnonvalinta suosii matalampaa virulenssia, koska korkea virulenssi tappaa isännät liian nopeasti vähentäen leviämismahdollisuuksia ja madaltaa näin viruksen kelpoisuutta. Matalampi virulenssi on voinut myös lisätä vastustuskykyisten kaniinien valintaa ja kiihdyttää näin myksoomaviruksen evoluutiota entistä virulentimmaksi. Tämä on klassinen esimerkki isännän ja patogeenin välisestä kilpavarustelusta, jossa toisen muuttuessa myös toisen täytyy muuttua pysyäkseen mukana kehityksessä (Geoghegan & Holmes, 2018).

Kerr ym. (2012, 2013) mukaan myksoomaviruksen ja yleisesti *Poxviridae*-suvun virusten mutaationopeus on paljon suurempi kuin DNA-viruksilla keskimäärin ja se vastaa jopa RNA-virusten mutaationopeutta. Australiassa on sekvensoitu 25 viruskantaa ja niiden nukleotidikorvautumisnopeudeksi on arvioitu vuodessa $1,03 \times 10^{-5}$ substituutiota per paikka. Eurooppalaisten 32 sekvensoidun kannan korvautumisnopeuden arvioitiin olevan $0,99 \times 10^{-5}$ substituutiota per paikka vuodessa. Nukleotidikorvautumisnopeutta käytetään mutaationopeuden arvioimiseen ja myksoomaviruksen nukleotidikorvautumisnopeuden on arvioitu olevan noin kolme kertaa suurempi kuin kaksijuosteisella DNA-herpesviruksella. Suuri nukleotidikorvautumisnopeus kertoo siis suuresta mutaationopeudesta, joka on mahdollisesti nopean adaptiivisen evoluution tulosta. Mutaationopeus vaikuttaa olennaisesti virulenssin evoluutioon, sillä ilman mutaatioita evoluutiota ei tapahdu. Lisäksi myksoomaviruksen evoluutio näyttää noudattavan tarkkaa molekyylikelloa.

4.2.1. Australiassa

Kerrin ym. (2012) mukaan ensimmäinen Australiassa käytetty viruskanta, SLS (standard laboratory strain), oli todella virulentti. Sen tappavuuden (case fatality rate, CFR) arvioitiin olevan 99.8%, eli se tappoi 99.8% infektoimistaan yksilöistä. Vaikka kyseisen kannan viruksia vapautettiin luontoon jatkuvasti, kahden vuoden kuluttua suurin osa luonnossa tavattavista viruksista oli heikentynyt hieman. Vaikka virukset silti tappoivat 90-99% infektoimistaan kaniineista, heikentynyt virulenssi antoi tartunnan saaneille kaniineille mahdollisuuden selvitä pidempään ja näin mahdollistaa viruksen tehokkaamman leviämisen.

Jos virulenssi laski liian matalaksi, kaniinin immuunijärjestelmä pystyi tuhoamaan viruksen, jolloin viruksen leviäminen ei ollut tehokasta. Kerrin ym. (2012) mukaan seuraavan 30 vuoden aikana suurimalla osalla luonnossa tavattavista viruksista tappavuus oli 70-95% laboratorioskaniineilla testattuna. Samanaikaisesti villikaniineilla luonnonvalinta suosi niitä, jolle oli kehittynyt vastustuskyky myksoomatoosia vastaan, luultavasti synnynnäisen immuunipuolustusreaktion vahvistumisen takia. Tämä laski virulenssia luonnosta löytyvässä kannassa verrattuna laboratorioskantoihin. Ainoastaan yksi kanta, Glenfield, oli virulentimpi vastustuskykyisillä kaniineilla kuin SLS.

Virulenssin madaltuminen voi osin olla seurausta mutaatioista virulenssiin linkitetyissä geeneissä. Etenkin insertio- ja deleetiomutaatiot vaikuttavat geenien toimintaan huomattavasti (Kerr ym. 2013). Esimerkiksi yhdessä Australiassa tavatuista kannoista, Uriarra-kannassa on tapahtunut huomattavaa heikentymistä, johtuen insertiosta M005L/R-geenin alueella. Mutaatio aiheuttaa lukukehyyksen muutoksen ja estää virusta tuottamasta M005-proteiinia. M005 on E3-ubikininiligaasi, joka kykenee säätelemään solusyklin etenemistä ja inhiboimaan apoptoosia (Kerr ym., 2013).

Suurinta osaa virulenssiin vaikuttavista mutaatioista ei kuitenkaan voida suoraan tunnistaa ja liittää tiettyihin virulenssitekijöihin (Kerr ym. 2013; Liu ym. 2017). Kerr ym. (2012) esittävät kaksi eri hypoteesia myksoomaviruksen virulenssin evoluutiolle Australiassa. Ensimmäinen ja näistä parsimonisempi hypoteesi on, että 1990-luvulla havaittu fenotyyppien vaihtelu johtui jo 1950-luvun alussa tapahtuneista mutaatioista SLS:n genomissa, joita valinta suosi niiden virulenssia alentavan vaikutuksen takia. Korkean virulenssin omaavat kannat olisivat siis säilyttäneet virulenssitekijänsä alkuperäisen kaltaisena. Toinen hypoteesi on, että 1990-luvulla tavatut korkean virulenssin kannat olisivat saaneet korkean virulenssinsa takaisin uusien mutaatioiden seurauksena, ja alkuperäisen SLS -kannan virulenssia heikentävät mutaatiot olisivat fiksoituneet populaatioon aikaisessa vaiheessa. Sekä virulenssin heikentymiseen, että pysymiseen korkeana on monta vaihtoehtoista reittiä, joten kumpikin teoria sekä niiden yhteisvaikutus ovat mahdollisia.

4.2.2. Euroopassa

Ranskassa käytettiin Etelä-Amerikasta peräisin olevaa Lausanne-kantaa (Lu) vuonna 1952 kaniinipopulaation pienentämiseen. Ranskasta Iso-Britanniaan myksoomavirus levisi vuonna 1953 luultavasti laittomasti maahan tuodun infektoituneen kaniinin avulla. Lu-kanta oli hyvin

virulentti ja se hävitti noin 99% kaniineista Iso-Britanniassa ja Ranskassa (Kerr ym. 2017). Myksoomavirus käyttäytyi Euroopassa samalla tavoin kuin Australiassa, vaikka alkuperäinen kanta oli erilainen. Lähes kaikki alkuperäistä seuranneet viruskannat heikentyivät hieman ja luonnonvalinta suosi vastustuskykyisiä kaniineja (Kerr ym. 2012).

Huomattavaa myöhemmissä Iso-Britannian viruskannoissa on se, että ne aiheuttivat erilaisia kliinisiä oireita kuin alkuperäinen Lu-kanta. Kerrin ym. (2017) mukaan mutaatioiden kertyminen yhteisvaikutuksessa kaniinin genomien sekä ei-genomisten ympäristötekijöiden kanssa johtaa erilaisiin kliinisiin fenotyyppeihin. Esimerkiksi virukset, jotka eivät aiheuta perinteistä myksomatoosia, aiheuttivat laboratorioskaniineilla vain vähän oireita ja hyvin vähän kuolemantapauksia. Kun samalla kannalla infektoitiin kaniinitarhasta peräisin olevia kaniineja, suurin osa niistä kuoli bakteeriperäiseen keuhkokuumeeseen. Näin ollen erilaiset ympäristöolot voivat aiheuttaa erilaista valintapainetta eri viruskannoille ja näin vaikuttaa virulenssin tasoon.

Vaikka Euroopassa ja Australiassa virulenssin evoluution lopputulemat olivat samanlaiset, evoluutiomekanismit olivat erilaiset. Myksoomaviruksen fylogeniassa tapahtuneista 482 mutaatiosta vain kaksi on löydettävissä sekä australialaisista että eurooppalaisista kannoista, joten virulenssin tason erot kantojen välillä eivät ole konvergentin evoluution tulosta (Kerr ym. 2012). Esimerkiksi, Kerr ym. (2012) kertovat, että Iso-Britanniasta peräisin olevien kahden kannan sekvensoinnissa selvisi toisen kannan heikentymisen syyksi TG-dinukleotidiliittymä M150R-geenin kohdalla. M150R koodaa NFκB-inhibiittoria ja on hyvin tärkeä virulenssin kannalta, sillä se kontrolloi transkriptiota sekä sytokiini tuotantoa. Tätä TG-insertiota ei ole tavattu missään Australiasta peräisin olevasta kannasta. Australialaisista kannoista löytyy kyllä yhden nukleotidin muutoksia kyseisen geenin alueelta, mutta kaikki ne edustavat erilaisia virulenssin tasoja.

Myksoomaviruksen virulenssin evoluutio on malliesimerkki allokaatiokustannushypoteesin (Alizon ym. 2009) olettamasta tilanteesta, jossa virulenssi saavuttaa leviämisen kannalta optimaalisen tason. Tässä tapauksessa optimaalinen taso on heikompi kuin alkuperäinen todella korkea virulenssi, sillä mitä kauemmin kaniini elää, sitä enemmän viruksella on leviämismahdollisuuksia.

5. HI-virus 1 (Human Immunodeficiency Virus 1, HIV-1)

HI-virus 1 (HIV-1) kuuluu Wagnerin ym. (2009) mukaan Lentiviruksiin, jotka ovat pääasiassa nisäkkäitä infektioivia retroviruksia. HIV-1:n genomi on noin 9,2 kiloemäsparia pitkä ja koostuu kahdesta positiivisjuosteisesta RNA-molekyylistä. RNA muunnetaan DNA:ksi käänteiskopioijaentsyymien avulla, jolloin se on mahdollista integroida isäntäsolun genomiin. HIV-1 genomi koostuu yhdeksästä geenistä, joista *gag*, *pol* ja *env* koodaavat rakenneproteiineja ja *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* sekä *nef* muita proteiineja ja säätelytekijöitä.

HIV-1 jaetaan alaryhmiin M (main), N (new) ja O (outlier). M-ryhmässä on yhdeksän alatyyppeä: A, B, C, D, F, G, H, J ja K (McCutchan, 2006). HIV-1:n geneettinen variaatio on suurta: alaryhmien kesken identtisyys on alle 70% ja M-ryhmän alatyyppeiden kesken 70-90% (Ariën ym. 2007). HIV-1 siirtyi ihmiseen simpanssista (*Pan troglodytes troglodytes*) 1900-luvun alussa. Simpansseilta on löydetty SI-viruskantoja (Simian Immunodeficiency virus), jotka ovat läheistä sukua HIV-1:n M ja N ryhmille. O-ryhmä on mahdollisesti peräisin gorillasta (*Gorilla gorilla*), sillä sen SI-viruskannat ovat läheistä sukua O-ryhmän viruskannoille (Ariën ym. 2007). HIV-1 leviää fyysisen limakalvokontaktin sekä veren välityksellä. Virus voi myös tarttua sikiöön infektoituneesta äidistä. HIV-1 tappavuusaste on 100%, tappavampi kuin mikään muista ihmisellä tavattavista viruksista (Ariën ym. 2007). Antiretroviraalinen lääkitys yleensä hidastaa sairauden etenemistä, mutta parannuskeinoa ei ole.

HIV-1 infektioi ihmisen CD4 -positiivisia T-soluja tarttumalla niiden CD4-reseptoriin sekä sen koreseptoriin ja fuusioitumalla solukalvon läpi. CD4-positiiviset T-solut ovat osa adaptiivista immuunijärjestelmää. Ne muun muassa osallistuvat B-solujen aktivointiin ja erittävät sytokiineja, jotka ohjaavat muuta immuunipuolustusta. HIV-1 infektioi siis juuri niitä soluja, joiden toiminnasta riippuu melkein koko muun adaptiivisen immuunijärjestelmän toiminta.

van Dorpin ym. (2014) mukaan HIV-1 infektio voidaan jakaa kolmeen vaiheeseen: akuuttivaihe, oireeton vaihe ja AIDS (acquired immune deficiency syndrome). Akuuttivaiheessa viruskopioita on runsaasti, kunnes CD4 -positiiviset solut kuluvat loppuun ja adaptiivinen immunitaetti alkaa vaikeuttaa virusten replikaatiota. Viruskopioiden määrä putoaa stabiilille tasolle, jota kutsutaan set-pointiksi. Hoitamattomalla potilaalla viruskopioiden määrä vaihtelee set-pointissa 10^3 :n ja 10^6 :n välillä millilitrassa verta. Akuuttivaiheen jälkeen alkaa oireeton vaihe, jolloin uusiutuneet CD4 -positiiviset T-solut tuhoataan hiljalleen, ja kun niiden määrä putoaa alle 200 soluun mikrolitrassa verta, infektio on edennyt AIDS-vaiheeseen. AIDS-

vaiheessa CD4 -positiivisia T-soluja on jäljellä niin vähän, että immuunijärjestelmä ei pysty puolustautumaan muita taudinaiheuttajia vastaan ja potilas kuolee. Akuutin vaiheen jälkeistä viruslastia (set point viral load, SPVL) käytetään arvioimaan taudin etenemistä ja viruksen virulenssia. HIV-1:n virulenssia mitataan myös CD4 -positiivisten T-solujen tuhoutumisnopeudella oireettoman vaiheen aikana (Bertels ym. 2018).

5.1. HIV-1:n virulenssitekijät

Bertels ym. (2018) jakavat HIV-1:n virulenssiin vaikuttavat tekijät neljään luokkaan. Ensimmäiseen kuuluvat set-pointin viruslastin variaatioon vaikuttavat tekijät. Viruslasti vaihtelee 10^3 :n ja 10^6 :n viruskopion välillä millilitrassa verta ja tämä variaatio korreloi taudin etenemisnopeuden kanssa. Fraserin ym. (2014) mukaan set-pointin viruslastiin vaikuttavat tekijät voidaan vielä jakaa kahteen kategoriaan, joita ovat replikaatiokykyyn vaikuttavat tekijät sekä CD4 -positiivisia T-soluja aktivoivat tekijät. Viruskannan replikaatiokyky vaikuttaa suoraan virusten määrään veressä. Aktivoidut T-solut ovat helpompia infektoida, joten niiden määrä korreloi SPVL:n kanssa. T-solujen aktivointiin vaikuttavia tekijöitä ovat etenkin *nef*, *vpr*, *tat* ja *env* -geenit. Vaikka viruksen genotyyppi vaikuttaa olennaisesti SPVL:n korkeuteen, vielä ei ole onnistuttu määrittämään selkeitä virusgeenejä ja niiden toimintamekanismeja, jotka vaikuttavat viruslastiin.

Bertelsin ym. (2018) mukaan toinen luokka koostuu ihmisen geeneistä, jotka aiheuttavat vastustuskykyä virusta vastaan. Esimerkiksi HLA-B57 -alleelin omaavilla ihmisillä on matalampi SPVL ja infektio etenee AIDS:iin hitaammin. Ihmisen HLA (human leukocyte antigen) -geenit koodaavat MHCI ja II -reseptoreita (major histocompatibility receptor), jotka ovat vastuussa patogeeneiden tunnistamisesta. Kolmanteen luokkaan kuuluvat tekijät, jotka aiheuttavat variaatiota virulenssissa, mutta eivät vaikuta viruslastin määrään. Ihmisen ikä ja HLA-tyyppi voivat vaikuttaa taudin etenemisnopeuteen vaikuttamatta viruslastin määrään. Neljäs luokka on tekijät, jotka vaikuttavat loiskohtaiseen patogeenisuuteen (per-parasite pathogenicity). Esimerkiksi HIV-1 M-ryhmän alatyypeillä A ja D on samanlainen SPVL, mutta D-tyyppi aiheuttaa taudin etenemisen AIDS:iin nopeammin kuin A-tyyppi.

Virulenssitekijöitä voidaan Bertelsin ym. (2018) mukaan tutkia tekemällä genomilaajuisia assosiaatiotutkimuksia (genome-wide association studies, GWAS) tai määrittelemällä periytyvyysaste virulenssiin vaikuttaville tekijöille. Genominlaajuisten assosiaatiotutkimusten

avulla voidaan etsiä mutaatioita, jotka vaikuttavat virulenssiin (Fraser ym. 2014). Bartha ym. (2013) sekä McLaren ym. (2015) ovat tehneet genomilaajuisia assosiaatiotutkimuksia HIV-1:lle, mutta näistä huolimatta selviä viruslastiin vaikuttavia tekijöitä ei ole vielä löydetty. McLarenin ym. (2015) mukaan noin neljäsosa viruslastin vaihtelusta johtuu ihmisen HLA-geenien variaatiosta.

Kun virulenssiin vaikuttava ominaisuus on periytyvä, täytyy sen olla ainakin osin riippuvainen viruksen geneistä (Bertels ym. 2018). HIV-1:n viruslasti on periytyvä ominaisuus (Bertels ym. 2018; Fraser ym. 2014; van Dorp ym. 2014), mutta sen periytyvyysasteesta on eriäviä tutkimustuloksia, jotka yleisesti asettuvat 2-50% välille. CD4-positiivisten T-solujen tuhoutumisnopeuden on myös todistettu olevan periytyvä ominaisuus, johon vaikuttavat sekä viruslastista riippuvat että riippumattomat tekijät. Esimerkiksi jotkut virusgeenit voivat haitata immuunijärjestelmän toimintaa, jolloin SPVL ei muutu, mutta T-solut kuolevat nopeammin (Bertels ym. 2018).

5.2. HIV-1:n virulenssin evoluutio

Fraserin ym. (2014) ja van Dorpin ym. (2014) mukaan korkea SPVL korreloi nopeamman sairauden etenemisen sekä myös suuremman tartuntariskin kanssa, joten myös HIV-1:ltä löytyy allokaatiokustannus leviämisen ja virulenssin väliltä. Keskimääräinen SPVL sallii HIV-1:n aiheuttaa enemmän sekundääri-infektioita, kuin matala tai todella korkea SPVL. Vaikka HIV-1 -populaatioiden variaatio on hyvin suurta, suurimmalla osalla infektoiduista potilaista SPVL on viruksen leviämisen kannalta optimaalisella tasolla.

Suuri viruslasti korreloi myös suuremman geneettisen diversiteetin kanssa tartuttavassa viruspopulaatiossa, mutta silti vain muutamat yksilöt aiheuttavat infektion (Ariën ym., 2007). Tästä aiheutuu pullonkaulaefekti, joka heikentää patogeenin kelpoisuutta ja geneettistä diversiteettiä. Ariënin ym. (2007) mukaan pullonkaulaefekti saattaa johtua virusten pääsystä kohdesoluihinsa ja toimivan elimistön laajuisen infektion aiheuttamisesta. Vain pieni osa viruksista pääsee infektoimaan kohdesoluja ja näiden virusten on selvittävä immuunijärjestelmän yrityksistä tuhota ne infektion alkuvaiheessa.

van Dorpin ym. (2014) mukaan HIV-1 evoluutio tapahtuu kahden valintapaineen alla. Nämä valintapaineet ovat isännän immuunijärjestelmän aiheuttama ja populaatiotason paine optimoida virulenssin ja levittäytymiskyvyn suhde. HIV aiheuttaa vuosikymmeniä kestävä

sairautta, jonka aikana infektion aiheuttanut viruspopulaatio ehtii muuttua hyvin paljon siitä, mitä se alun perin oli (Ariën ym. 2007). Voitaisiin olettaa, että tartunnan hetkellä pitkään isäntäorganismissa olleella viruksella olisi uudessa isännässään matalampi virulenssi kuin vain vähän aikaa edellisessä isännässä olleella viruksella. Toisin sanoen ei-heterogeenisessä isäntäpopulaatiossa isäntäsolun sisäisen valintapaineen aiheuttamat sopeutumukset kumoaisivat populaatiotason virulenssin ja leviämiskyvyn välisen paineen aiheuttamat sopeutumukset (van Dorp ym. 2014).

Fraserin ym. (2014) mukaan kuitenkin HIV-1 -populaatioissa on nähtävissä evoluutiota, joka maksimoi populaatiotason leviämiskyvyn. He esittävät artikkelissaan kolme vaihtoehtoista mekanismia, joilla HIV-1 voisi adaptoitua kahden eri valintapaineen alla. Ensimmäinen mekanismi on hidas virulenssin evoluutio isäntäsolussa. Vaikka mutaatio- ja replikaationopeudet ovat korkeita, virulenssi ei välttämättä muutu nopeasti. Isäntäorganismien sisäinen adaptiivinen maisema (fitness landscape) voi olla monimutkainen ja epätasainen, mikä hidastaa viruksen evoluutiota ja sopeutumista isäntäänsä. Lisäksi on mahdollista, että immuunijärjestelmän luoma valintapaine suosii mutaatioita, jotka auttavat immuunijärjestelmältä pakenemista, mutta samalla vähentävät replikaatiokykyä ja alentavat näin virulenssia. Kompensoivat mutaatiot voivat palauttaa kelpoisuuden entiselle tasolle, mutta vuorottelu mutaatioiden laadussa saattaa hidastaa isäntäsolun sisäisten paineiden aiheuttamaa evoluutiota ja näin siirtää tasapainoa populaatiotason valinnan alle.

Toinen Fraserin ym. (2014) esittämä mahdollinen mekanismi on isäntäsolun sisäisten valintapaineiden vähäinen vaikutus viruslastin määrään, eli virulenssiin. Viruksen genotyypistä riippuvat virulenssitekijät, jotka vaikuttavat viruslastiin, voivat olla neutraaleja viruksen isäntäsolun sisäiseen kelpoisuuteen nähden. Neutraaleilla tekijöillä ei ole valintapainetta isäntäsolun sisällä, jolloin niiden evoluutio on hidasta ja ne voivat aiheuttaa SPVL:n periytyvyyden ja evoluution kohti leviämisen kannalta optimaalisia viruslasteja. Tällaisia tekijöitä voisivat olla esimerkiksi CD4-positiivisten T-solujen aktivaatioon vaikuttavat tekijät, jotka edistävät myös kilpailevien viruskantojen kelpoisuutta, jolloin valintaetua ei synny.

Kolmas mekanismi on ”store and retrieve” -malli. HIV-1 -infektoimista CD4-positiivisista T-soluista osa muuttuu infektion alussa muisti-T-soluiksi, jotka ovat hyvin pitkäikäisiä. Infektion edetessä nämä muistisolut aktivoituvat ja tuottavat alkuperäisen kannan kaltaisia korkeavirulenttisia viruksia, joita voidaan käyttää uuden isännän tartuttamiseen. Optimaalisen virulenssin ja leviämisen suhteen saavuttamiseksi ei kuitenkaan riitä, että alkuperäistä virusta

käytetään leviämiseen, vaan juuri tämän viruksen genotyypin täytyy vaikuttaa viruslastiin enemmän kuin sen jälkeen tulleiden kantojen. Tästä on Fraserin ym. (2014) mukaan näyttöä etenkin viruskannoilla, joilla on matala replikaatiokyky.

Fraserin ym. (2014) esittelemät kolme mekanismia eivät sulje toisiaan pois, vaan on hyvin mahdollista, että niillä on päällekkäisiä vaikutuksia. Kaikki ne riittäisivät selittämään SPVL:n periytyvyyttä ja näin virulenssin evoluutiota yksinään, mutta esimerkiksi ”store- and retrieve”-malli ei ole absoluuttinen, sillä myös isäntäsoluun sopeutuneet viruskannat infektoivat uusia isäntiä (van Dorp ym. 2014). Smith ja Mideo (2017) esittävät artikkelissaan, että nämä mekanismit toimivat vain populaatioissa, joissa antiretroviraalista sekä estolääkitystä ei käytetä.

Tehokkaan antiretroviraalisen sekä estolääkityksen käyttö voisi Smithin ja Mideon (2017) mukaan teoriassa eliminoida virukselta replikaatio- ja leviämiskyvyn ja näin hiljalleen hävittää sen ihmispopulaatiosta. Näin ei kuitenkaan tapahdu, sillä vain noin 40% infektiosta hoidetaan lääkityksellä, joka usein ei toimi tarpeeksi tehokkaasti. Tehotonta lääkitystä syövät potilaat voivat lääkityksestä huolimatta siirtää virusta eteenpäin, jolloin valinta suosii korkean viruslastin tuottavia kantoja, sillä ne maksimoivat leviämisen tuottamalla lyhyessä ajassa suuren määrän viruspartikkeleita. Tämä vähentää lääkityksen klinisiä hyötyjä hankaloittaen viruksen hävittämistä ihmispopulaatiosta.

Kuten myksoomaviruksella, myös HIV-1:n virulenssin evoluutiossa on nähtävissä allokaatiokustannushypoteesin mukainen virulenssin optimointi leviämiskyvyn maksimoivalle tasolle (Alizon ym. 2009; Fraser ym. 2014). HIV-1:n virulenssin evoluutio on monimutkaisempaa, sillä siihen vaikuttavat viruksen genomisten tekijöiden lisäksi isäntäorganismien genotyyppi, joka HLA-geenien variaation myötä on todella vaihteleva. Myksoomaviruksella isäntäorganismien sisäiset valintapaineet eivät vaikuta kovin suuresti, sillä infektiota kestää vain vähän aikaa. Lisäksi HI-virusinfektion hoidossa käytettävä lääkitys lisää valintapaineita, jonka alla HIV-1:n virulenssin evoluutio tapahtuu.

6. Yhteenveto

Viruksen virulenssin evoluutio on tulosta monen eri tekijän yhteisvaikutuksesta ja virusgenomeissa on jäänteitä edellisistä ympäristöistä sekä etenkin immuunijärjestelmän reaktioista, joten viruksen mekanismien erottaminen isäntäorganismien mekanismeista on

hankalaa (Bertels ym. 2018). Isäntäorganismien mekanismit kuitenkin vaikuttavat olennaisesti virulenssin evoluutioon, etenkin pitkään kestävässä infektioidessa.

Viruksen genomin rakenne vaikuttaa myös virulenssin evoluutioon. DNA-viruksilla on usein hitaampi mutaationopeus kuin RNA-viruksilla. DNA-virukset käyttävät isäntäsolun DNA-polymeraasia, jolla on oikolukuaktiivisuus, kun taas RNA-viruksilla on oma polymeraasi, jolla tätä oikolukuaktiivisuutta ei ole (Pevsner, 2015). Toisaalta Kerrin ym. (2012) mukaan DNA-virusten suurempi genomi saattaa mahdollistaa useita reittejä virulenssin evoluutiolle, kun taas RNA-virusten pienempi genomi ei salli yhtä usean mutaation muodostumista samanaikaisesti. RNA-viruksilla on tietty määrä geenejä, jotka yleensä koodaavat useaa proteiinia, ja näiden mutatoituminen saattaa aiheuttaa kohtalokkaita seurauksia viruksen kelpoisuuden kannalta.

Useat virukset ovat hyvin virulentteja isännänvaihdoksen jälkeen (Longdon ym. 2015). Tämä voi johtua siitä, että uudella isännällä ei ole minkäänlaista vastustuskykyä virusta vastaan. Esimerkiksi Bertelsin ym. (2018) mukaan HIV-1:n läheinen sukulainen SIV ei aiheuta alkuperäisellä isännällään, simpanssilla, AIDS:n kaltaisia oireita, mutta ihmiseen siirryttyään siitä tuli tappavin ihmiskuntaa infektoiva virus. Lisäksi se aiheuttaa AIDS-oireita myös muilla kädellisillä, kuten reesusapinalla.

Virulenssin evoluutio on tärkeä tutkimuskohde, sillä tutkimuksista saadaan tietoa virusten käyttäytymisestä, minkä avulla voidaan mahdollisesti ehkäistä sairauksia. Geogheganin ja Holmesin (2018) mukaan virusten ja isäntäorganismien fylogenen liittämisen tutkimuksiin voisi lisätä ymmärrystä virulenssin evoluutiosta ja parantaa teoriapohjaa, jolle tutkimuksia perustetaan. Lisäksi virulenssitekijöiden määrittäminen voi johtaa uusien rokote- ja lääkevaihtoehtojen löytämiseen esimerkiksi HI-viruksen tapauksessa, jolle rokotetta ei sen monimuotoisuuden vuoksi ole vielä onnistuttu kehittämään.

7. Lähteet

Alizon, S. (2008). Transmission-recovery trade-offs to study parasite evolution. *American Naturalist*, 172(3). <https://doi.org/10.1086/589892>

Alizon, S., Hurford, A., Mideo, N., & Van Baalen, M. (2009). Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future. *Journal of evolutionary biology*, 22(2), 245–259. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01658.x>

Anderson, R. M., & May, R. M. (1982). Coevolution of Hosts and Parasites. *Parasitology*,

85(2), 411–426. <https://doi.org/10.1017/S0031182000055360>

- Ariën, K. K., Vanham, G., & Arts, E. J. (2007). Is HIV-1 evolving to a less virulent form in humans? *Nature Reviews Microbiology*, 5, 141–152.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1594>
- Bartha, I., Carlson, J. M., Brumme, C. J., McLaren, P. J., Brumme, Z. L., John, M., ... Fellay, J. (2013). A genome-to-genome analysis of associations between human genetic variation, HIV-1 sequence diversity, and viral control. *eLife*, 2013(2), 1–16.
<https://doi.org/10.7554/eLife.01123>
- Bertels, F., Marzel, A., Leventhal, G., Mitov, V., Fellay, J., Günthard, H. F., ... Regoes, R. R. (2018). Dissecting HIV Virulence: Heritability of Setpoint Viral Load, CD4+ T-Cell Decline, and Per-Parasite Pathogenicity. *Molecular Biology and Evolution*, 35(1), 27–37.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx246>
- Blanié, S., Mortier, J., Delverdier, M., Bertagnoli, S., & Camus-Bouclainville, C. (2009). M148R and M149R are two virulence factors for myxoma virus pathogenesis in the European rabbit. *Veterinary Research*, 40(1). <https://doi.org/10.1051/vetres:2008049>
- Blanquart, F., Grabowski, M. K., Herbeck, J., Nalugoda, F., Serwadda, D., Eller, M. A., ... Fraser, C. (2016). A transmission-virulence evolutionary trade-off explains attenuation of HIV-1 in Uganda. *eLife* 2016, 5:e20492. <https://doi.org/10.7554/eLife.20492>
- Bull, J. J. (1994). Evolution of Virulence. *International Journal of Organic Evolution*, 48(5), 1423–1437. <https://doi.org/10.1038/161162d0>
- Cameron, C., Hota-Mitchell, S., Chen, L., Barrett, J., Cao, J. X., Macaulay, C., ... McFadden, G. (1999). The complete dna sequence of myxoma virus. *Virology*.
<https://doi.org/10.1006/viro.1999.0001>
- Campbell, N. A., Urry, L. A., Cain, M. L. (Michael L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Reece, J. B. (2018). *Biology : a global approach* (11. painos.), 609-624. New York: Pearson.
- Ebert, D., & Bull, J. J. (2003). Challenging the trade-off model for the evolution of virulence: Is virulence management feasible? *Trends in Microbiology*, 11(1), 15–20.
[https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(02\)00003-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(02)00003-3)
- Elsworth, P., Cooke, B. D., Kovaliski, J., Sinclair, R., Holmes, E. C., & Strive, T. (2014).

- Increased virulence of rabbit haemorrhagic disease virus associated with genetic resistance in wild Australian rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Virology*, 464–465(1), 415–423. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.06.037>
- Fraser, C., Lythgoe, K., Leventhal, G. E., Shirreff, G., Hollingsworth, T. D., Alizon, S., & Bonhoeffer, S. (2014). Virulence and pathogenesis of HIV-1 infection: An evolutionary perspective. *Science*, 343(6177). <https://doi.org/10.1126/science.1243727>
- Geoghegan, J. L., & Holmes, E. C. (2018). The phylogenomics of evolving virus virulence. *Nature Reviews Genetics*, 19(12), 756–769. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0055-5>
- Kerr, P. J., Cattadori, I. M., Rogers, M. B., Fitch, A., Geber, A., Liu, J., ... Holmes, E. C. (2017). Genomic and phenotypic characterization of myxoma virus from Great Britain reveals multiple evolutionary pathways distinct from those in Australia. *PLoS Pathogens*, 13(3), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006252>
- Kerr, P. J., Ghedin, E., DePasse, J. V., Fitch, A., Cattadori, I. M., Hudson, P. J., ... Holmes, E. C. (2012). Evolutionary History and Attenuation of Myxoma Virus on Two Continents. *PLoS Pathogens*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002950>
- Kerr, P. J., Liu, J., Cattadori, I., Ghedin, E., Read, A. F., & Holmes, E. C. (2015). Myxoma virus and the leporipoxviruses: An evolutionary paradigm. *Viruses*, 7(3), 1020–1061. <https://doi.org/10.3390/v7031020>
- Kerr, P. J., Rogers, M. B., Fitch, A., DePasse, J. V., Cattadori, I. M., Twaddle, A. C., ... Ghedin, E. (2013). Genome Scale Evolution of Myxoma Virus Reveals Host-Pathogen Adaptation and Rapid Geographic Spread. *Journal of Virology*, 87(23), 12900–12915. <https://doi.org/10.1128/jvi.02060-13>
- Liu, J., Cattadori, I. M., Sim, D. G., Eden, J.-S., Holmes, E. C., Read, A. F., & Kerr, P. J. (2017). Reverse Engineering Field Isolates of Myxoma Virus Demonstrates that Some Gene Disruptions or Losses of Function Do Not Explain Virulence Changes Observed in the Field. *Journal of Virology*, 91(20), 1–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01289-17>
- Longdon, B., Hadfield, J. D., Day, J. P., Smith, S. C. L., McGonigle, J. E., Cogni, R., ... Jiggins, F. M. (2015). The Causes and Consequences of Changes in Virulence following Pathogen Host Shifts. *PLoS Pathogens*, 11(3), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004728>

- McCutchan, F. (2006). Global Epidemiology of HIV. *Journal of Medical Virology*, 78(S1), S7–S12. <https://doi.org/10.1002/jmv>
- McLaren, P. J., Coulonges, C., Bartha, I., Lenz, T. L., Deutsch, A. J., Bashirova, A., ... Fellay, J. (2015). Polymorphisms of large effect explain the majority of the host genetic contribution to variation of HIV-1 virus load. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(47), 14658–14663. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1514867112>
- Pevsner, J. (2015). *Bioinformatics and functional genomics* (3. painos), 764. Chichester: Wiley-Blackwell.
- Smith, D. R. M., & Mideo, N. (2017). Modelling the evolution of HIV-1 virulence in response to imperfect therapy and prophylaxis. *Evolutionary Applications*, 10(3), 297–309. <https://doi.org/10.1111/eva.12458>
- van Dorp, C. H., van Boven, M., & de Boer, R. J. (2014). Immuno-epidemiological Modeling of HIV-1 Predicts High Heritability of the Set-Point Virus Load, while Selection for CTL Escape Dominates Virulence Evolution. *PLoS Computational Biology*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003899>
- Wagner, E. K., Hewlett, M. J., Bloom, D. C., & Camerini, D. (2009). *Basic Virology* (3. painos), 385-386, 400-405. Malden, MA: Blackwell.