

# Вирусы гепатитов В, С, D и G

## Ретровирусы

### ВИЧ





# Вирусы гепатитов В, С, D и G

• Вирусные гепатиты представляют большую, разнородную по этиологии, но схожую по клиническим проявлениям группу тяжелых по последствиям заболеваний, широко распространенных в мире.

• Многие вирусы могут вызывать среди прочих действий и поражения печени (например, некоторые серотипы ЕСНО - вирусов), однако имеется большая группа обладающих преимущественно гепатотропным действием вирусов.



# Вирусы гепатитов В, С, D и G

## Классификация

По эколого-эпидемиологическим особенностям гепатиты могут быть разделены на две группы:

1. с преимущественно фекально-оральным механизмом передачи (вирусы гепатитов А и Е)
2. с парентеральным (гемоконтактным) путем передачи (В, С, G, D).



# Вирусы гепатитов В, С, D и G

## Классификация

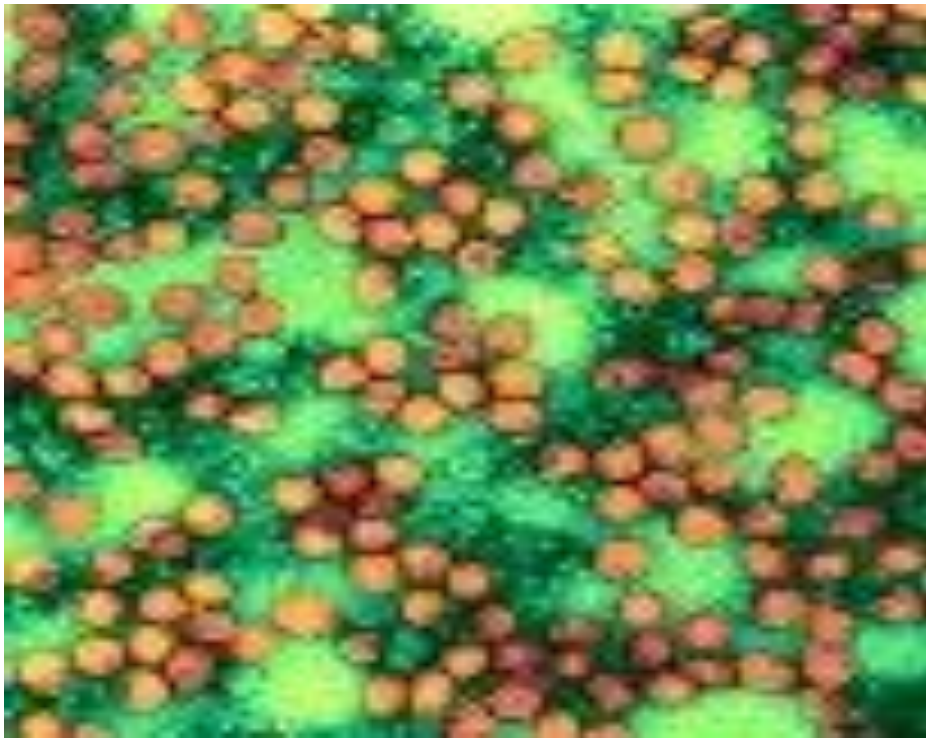
Вирус гепатита D (дельта) является дефектным вирусом - сателлитом вируса гепатита В, передаваемым парентерально и вертикально (от матери плоду). Вирус гепатита А - энтеровирус 72, В - гепадновирус, С и G - флавивирuses, D - неклассифицированный вирус, Е - калицивирус.

# Вирус гепатита В

- Вирус гепатита В (HBV) - *сывороточный гепатит*, который при неблагоприятном исходе вызывает хронический гепатит, цирроз печени, гепатокарцинома с довольно высокой летальностью.
- HBV относится к семейству *гепадновирусов* - оболочечных ДНК геномных - вирусов, вызывающих гепатиты у различных видов животных (сурков, уток и др.).
- Гепадновирусы поражают преимущественно клетки печени.



# Структура HBV



# Структура HBV

- HBV относится к оболочечным ДНК геномным вирусам.
- Геном HBV представлен двуцепочечной кольцевой молекулой ДНК, наружная цепь длиннее внутренней.
- Геном покрыт нуклеокапсидом.
- Транскрипции вирусного генома происходит в ядре гепатоцита.
- Синтезируется ДНК- в цитоплазме гепатоцита.
- HBV, проходя через мембрану клетки, покрывается билипидным слоем – суперкапсидом.





# Цикл репродукции HBV

- Цикл репродукции HBV очень сложен и проходит через промежуточное звено:
- **мРНК («-»ДНК  $\square$  «+»ДНК),**
- т.е. с механизмом обратной транскрипции. При транскрипции вирусного генома в ядре гепатоцита клеточная ДНК - зависимая РНК - полимераза синтезирует два типа мРНК - большего размера (прегеном) и меньшего размера (для синтеза вирусных белков).





# Цикл репродукции HBV

- Прегеном и вирусная ДНК - полимеразы упаковываются в капсид и переносятся в цитоплазму.
- Под действием вирус - индуцированной обратной транскриптазы на матрице прегенома (РНК) синтезируется новая минус - нить ДНК.
- Вирионная ДНК - полимеразы на минус - цепи синтезируют плюс - цепь.
- Если вирусная двухцепочечная ДНК не вступает в дальнейшую репликацию, сформировавшийся нуклеокапсид, проходя через мембрану клетки, покрывается суперкапсидом и отпочковывается от клетки.



# Строение и антигенная структура

Вирусные частицы размером 42 - 45 нм (*частицы Дейна*) имеют достаточно сложное строение и включают:

- ДНК,
- ассоциированную с ней ДНК - полимеразу
- и четыре антигена:
  1. *поверхностный* (HBs Ag “австралийский”),
  2. *сердцевинный* или *коровский* (HBc Ag или core Ag),
  3. *антиген инфекционности* (HBe Ag, выявляемый в крови при активной репликации HBV) и
  4. *наименее изученный* HBx Ag.



# Строение и антигенная структура

- Циркулирующие штаммы HBV отличаются по антигенной структуре HBs антигена.
- В его составе имеется общий антиген, обуславливающий перекрестный (между субтипами) иммунитет и четыре типоспецифических антигенных детерминанты и соответственно *четыре субтипа HBs Ag (и HBV)*.
- *С учетом сложной антигенной структуры вируса гепатита В, в диагностике данной инфекции используют целый ряд маркеров инфицирования, в т.ч. антигены (HBs Ag, HBc Ag, HBe Ag) и соответствующие им антитела (анти - HBs, анти - HBc и анти - HBe).*

# Биологические фазы развития HBV

Гепатит В имеет две биологические фазы развития HBV - *репликативной* и *интегративной*.

- **При репликативной фазе** (т.е. массовом размножении вируса) вирусная ДНК - полимераза реплицирует ДНК HBV, все вирусные субкомпоненты и белки копируются в большом количестве.
- **При интегративной фазе** развития (т.е. когда вирусные частицы не подвергаются дальнейшей репликации) геном HBV встраивается в геном гепатоцита. В процессе интеграции основную роль играет фрагмент, несущий ген, кодирующий HBs антиген, поэтому при этой фазе идет преимущественное образование HBs Ag. Следовательно, биологические стадии HBV отличаются спектром выявления маркеров инфицирования.





- Для стадии репликации характерно выявление ***ДНК HBV, HBe Ag и (или) анти - HBc - IgM***, возможно - ***HBs Ag***.
- В стадии интеграции преобладает ***HBs Ag, анти - HBe, анти - HBc - IgG***.



# Эпидемиологические особенности

- Вирус гепатита В распространяется эволюционно сложившимися *естественными* и *искусственными* путями распространения.

## ***Естественные пути:***

- вертикальный (от матери - потомству),
- половой,
- контактный (семейный),
- “гемоконтактный”.

Передача возбудителя обеспечивается устойчивостью во внешней среде, вирус передается при контакте с кровью и другими биологическими жидкостями организма (слюна, сперма, содержимое носоглотки, вагины и др.).

**Факторы передачи:** могут быть различные предметы личной гигиены (зубные щетки, бритвенные и маникюрные приборы, мочалки, расчески и др.). В последние годы увеличилось значение наркозависимого и полового пути передачи.



# Клинико-патогенетические особенности

- Для вируса гепатита В «**орган - мишень – печень**».

- Поражение гепатоцитов напрямую не связано с непосредственным действием вируса (**цитопатического эффекта нет**), а с иммунными (аутоагрессивными) реакциями хозяина, связанными с модификацией клеточных мембран вирусными белками.

- Аутоагрессия реализуется:

- Т - цитотоксическими лимфоцитами и другими киллерными клетками,

- выработкой аутоантител против тканей печени.

Поражения печени могут быть в виде острой и хронической форм различной тяжести.



# Иммунитет

Постинфекционный иммунитет  
**длительный**, направлен против основного протективного HBs антигена, обусловлен вируснейтрализующими анти - HBs антителами.

## Методы диагностики.

- В основе лабораторной диагностики - ИФА и ПЦР.





# Методы диагностики

- HBs антиген - основной и первый маркер инфицирования HBV. Его элиминация и появление анти - HBs - антител является непременным условием выздоровления. Анти HBs - антитела - показатель перенесенной инфекции.
- HBc антиген - сердцевинный антиген, белок нуклеокапсида, выявляемый только в ядрах гепатоцитов, но отсутствующий в чистом виде в крови. Большое диагностическое значение имеет определение в крови *анти - HBc - IgM*. Эти антитела при остром гепатите выявляются раньше, чем антитела к другим вирусным антигенам.



# Методы диагностики

- АнтиНВс - IgM выявляют у 100% больных острым гепатитом В, как НВс - позитивным, так и НВс - негативным. Анти НВс - антитела могут быть единственным маркером вируса гепатита В в фазу “окна”, когда в крови не удастся выявить ни НВс антиген, ни антител к нему.
- Выявление анти - НВс - IgM сочетается с выявлением ДНК вируса и ДНК - полимеразной активности (т.е. показателями продолжающейся репликации вируса) и активностью патологического процесса в печени. Анти НВс - IgG - маркер перенесенного инфицирования HBV.



# Методы диагностики

- HBe Ag - антиген инфекционности, циркулирует только при наличии HBs антигена. Его наличие в сыворотке крови коррелирует с выявлением ДНК вируса, полимеразной активностью и с продукцией полных вирусных частиц, т.е. с активной репликацией вируса.
- Длительность циркуляции HBe антигена - важный прогностический признак. Его выявление через два месяца с начала заболевания - признак вероятного развития хронического гепатита.
- В большинстве случаев происходит смена HBe Ag на антиHBe - антитела, что является маркером завершённой репликации вируса гепатита В.




# Методы диагностики


Важную диагностическую информацию представляют *методы выявления ДНК HBV*. В ряде случаев при отсутствии в крови HBs антигена, а также *серологических маркеров вирусной репликации (HBe Ag, антиHBcor - IgM)*, о продолжающейся репродукции вируса в печени можно судить по результатам молекулярной *гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК) и ПЦР*. Используя технику ПЦР, можно определить и подтип HBs антигена.



# Специфическая профилактика



В настоящее время осуществляется с использованием рекомбинантных вакцин (“Энжерикс В”, “Рекомбивакс В” и др.), полученных методами генной инженерии на культурах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Рекомбинантный клон дрожжей вырабатывает поверхностный антиген HBV. Эффективность - 95% , продолжительность - не менее 5 - 6 лет. Предусмотрена трехкратная иммунизация - сразу после рождения, через 1 - 2 месяца, до конца первого года жизни ребенка. Для экстренной профилактики контактным лицам может применяться донорский иммуноглобулин, содержащий антитела к HBV.



# Вирус гепатита С.





# Вирус гепатита С

- Гепатит С - инфекция, вызываемая вирусом гепатита С (НСV).
- Раньше эту инфекцию обозначали как “гепатит ни - А, ни - В, передающийся парентерально”.
- Вирус НCV является РНК - содержащим вирусом семейства флавивирусов.

# Морфология.

- НСV - оболочечный вирус со средним размером вириона 35 - 50 нм.
- Геном образует однонитевая позитивная РНК.
- Различные гены кодируют структурные (капсидный, мембранный и оболочечный) и неструктурные белки.





# Морфология.





# Морфология.

- К настоящему времени идентифицировано от 6 до 11 генотипов и более 80 подтипов HCV (Львов Д.К., Дерябин П.Г., 1997). Степень гомологии генотипов - порядка 65%, подтипов - 77 - 79%. Различия в генотипе определяют тяжесть заболевания, ответную реакцию на лечение, взаимодействие вируса с хозяином.

# Клинико-эпидемиологические особенности.

- Эпидемиология вирусного гепатита С напоминает эпидемиологию гепатита В.
- Несмотря на относительно легкое течение, около половины случаев приводит к хроническим гепатитам, в ряде случаев заканчивающихся циррозом и карциномой печени.
- Вирус более редко (по сравнению с HBV) передается вертикально и половым путем, преобладает парантеральное заражение (особо - наркоманы).
- Показана общность групп риска инфицирования HBV и HCV.
- Выявлены географически преобладающие варианты (генотипы) HCV. В Европейской части России преобладает “западный” генотип, в Азиатской части - “восточный” (близкий к китайскому и японскому).



# Лабораторная диагностика.

- В настоящее время лабораторная диагностика вирусного гепатита С основана на определении сывороточных маркеров инфицирования - антител суммарных (анти - HCV) и анти - HCV IgM, а также детекции РНК HCV.
- Во все тест - системы, начиная с тест - систем “второго поколения” включены аминокислотные последовательности структурного сердцевинного нуклеокапсидного белка (НСс Ag). Антитела к НСс Ag являются самими ранними маркерами инфицирования HCV. С целью повышения эффективности и специфичности ИФА применяют подтверждающие тесты - рекомбинантный иммуноблоттинг или вестерн - блоттинг, позволяющие определить антитела к различным, структурным и неструктурным белкам HCV. *Анти-HCV - IgM антитела* свидетельствуют о репликативной активности вируса гепатита С. Снижение титров IgM - антител свидетельствует о благоприятном течении заболевания.



- *Определение РНК HCV методом ПЦР* свидетельствует об *виремии*, которая может быть *транзиторной* (*острый гепатит с последующим выздоровлением*), *персистирующей* (*хронические гепатиты*) и *прерывающейся* (*повторное выявление*).
- Специфическая профилактика. В настоящее время проводится работа по созданию вакцин.

- **Вирус гепатита D (HDV)**





# Морфология.


- Гепатит Д - инфекция, вызываемая HDV, характеризующаяся тяжелым поражением печени.
- Эпидемиологически связана с гепатитом В.
- Возбудитель - дефектный РНК -содержащий вирус, выделяемый только от пациентов, инфицированных HBV.
- Дефектность вируса заключается в его полной зависимости от HBV, который является для него вирусом - помощником. Поэтому гепатит D протекает либо как *коинфекция* (одновременное заражение HBV и HDV), либо как *суперинфекция* (наслоение HDV на текущую HBV-инфекцию, чаще хроническую).



# Морфология.

- Вирус гепатита Д представляет собой сферическую частицу средним диаметром 36 нм.
- Суперкапсид состоит из HBs Ag и кодируется HBV.
- Внутренний HD Ag кодируется HDV.
- По структуре генома, представленной кольцевидной РНК, HDV напоминает *вириоды*, является неклассифицированным к настоящему времени вирусом.
- Вирус гепатита Д является вирусом – спутником (сателлитом) HBV, его распространение связано с распространением HBV.





# Клинико-эпидемиологические особенности.

- Наибольшее значение в распространении имеют:
  - искусственные пути распространения (медицинские манипуляции).
  - Естественные пути - аналогичны HBV. Вирус гепатита Д не может вызывать развитие гепатитов без одновременной репликации HBV.
- Наиболее опасна суперинфекция, вызванная HBV и HDV, у 60 - 70% пациентов с хроническими гепатитами такого типа наблюдается цирроз печени.
- При гепатите Д возможно острое и хроническое течение инфекции.



# Лабораторная диагностика

- Для постановки диагноза имеют значение следующие маркеры инфицирования: *дельта - антиген, антитела к нему класса IgG (анти - HDV - IgG) и IgM (анти - HDV - IgM), РНК HDV*. Дельта - антиген для тест - систем ИФА и РИА получают из печени инфицированных шимпанзе или генно-инженерными методами (экспрессия антигена рекомбинантными штаммами *E.coli*).



# Лабораторная диагностика

- При коинфекции в желтушный период на протяжении двух недель выявляют HDV Ag, РНК вируса, антиHDV- IgM. Несколько позднее (через 1 - 2 месяца с момента появления желтухи) начинают выявлять антиHDV IgG. Одновременно выявляются маркеры активной репродукции HBV (HBs Ag, HBe Ag, антиHBc - IgM, ДНК HBV).
- При суперинфекции в острый период HDV Ag может не выявляться или выявляться кратковременно. Наряду с HDV- IgM выявляются HDV- IgG, причем в более высоких титрах, чем при коинфекции. При суперинфекции HDV происходит снижение уровня HBs Ag, падают титры или полностью исчезают HBcor- IgM. Стойкое увеличение HDV антител является маркером хронического HDV гепатита.



# Лабораторная диагностика

- С учетом зависимости вируса гепатита Д от вируса гепатита В в основе профилактики гепатита дельта - профилактика гепатита В. Специфическая профилактика - вакцинация против гепатита В - основное мероприятие профилактики гепатита Д.



# Вирус гепатита G.

- Гепатит G вызывается РНК - содержащим вирусом из группы флавивирусов. Вирус передается парентерально, способен вызывать острые и хронические гепатиты. Описано несколько генотипов HGV. У этого вируса обнаружено два структурных оболочечных белка - E1 и E2 и пять неструктурных белков. Маркеры гепатита G распространены среди населения даже чаще, чем - вируса гепатита C, особенно при трансплантации почки, у наркоманов, больных гемофилией, при гемодиализе и наиболее часто - у носителей вируса гепатита C.



# Вирус гепатита G

- Как метод лабораторной диагностики чаще используют ПЦР - определение РНК вируса (при остром гепатите G в первые шесть месяцев можно определить только вРНК), антитела к оболочечному белку Е2 выявляют не ранее 5 - 6 месяцев с момента инфицирования.
- Острый гепатит G переходит в хронический реже, чем гепатит С. С хроническими гепатитами G связана персистенция вируса, возникновение циррозов печени. Гепатит G к настоящему времени изучен еще недостаточно.

# Ретровирусы

- **Вирус иммунодефицита человека**





# Вирус иммунодефицита человека ВИЧ или HIV:

- семейство ретровирусов,
- подсемейство лентивирусов (медленных вирусов).

Геном ретровирусов уникален - он представлен **двумя идентичными молекулами позитивной РНК**, т.е.

***это РНК - вирусы с диплоидным геномом.***

•





# Вирус иммунодефицита человека

Свое название ретровирусы получили за отличительные особенности репродукции

**(РНК → ДНК → иРНК → геномная РНК)**

Особенности репродукции связаны с функциями фермента **обратной транскриптазы** (ревертазы или РНК - зависимой ДНК - полимеразы), обладающей тремя видами активности:

- обратной транскриптазы,
- РНК - азы и
- ДНК - полимеразы.



# Вирус иммунодефицита человека

- Семейство *Retroviridae* включает три подсемейства.
- 1. *Lentivirinae* - возбудители медленных вирусных инфекций, в т.ч. ВИЧ.
- 2. *Oncovirinae* - онкогенные вирусы, с которыми связано превращение клеток в опухолевые. Раньше не знали, как РНК - вирусы могут встраиваться в геном клетки и способствовать опухолевому росту (не были известна возможность обратной транскрипции у вирусов), что тормозило научную разработку вирусологии опухолевого роста.
- 3. *Sputavirinae* - “пенящие” вирусы, название которых связано с характерным “вспененным” видом инфицированных ими клеточных культур как результатом интенсивного симпластообразования.



# Вирус иммунодефицита человека

Наиболее известны обладающие лимфотропным и цитопатическим действием вирусы ВИЧ-1 (HIV-1 в английском варианте) и ВИЧ-2, вирус иммунодефицита обезьян (ВИО или SIV), к которому по ряду свойств ближе (чем к ВИЧ-1) ВИЧ-2.

К настоящему времени имеется информация уже о нескольких сотнях ретровирусов, интегрированных с геномом человека и практически очень мало об их роли в патологии.



# История изучения и происхождения ВИЧ

- Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) впервые выделен как самостоятельное заболевание в США в 1981г.
- Возбудитель (ВИЧ-1) был описан почти одновременно в 1983г. французом *Л.Монтанье* и американцем Р.Галло.
- Эпидемиология нового вида патологии поражала своей необычностью. Почти 100% больных были мужчинами в возрасте 25 - 49 лет, 94% - гомо - или бисексуалами, отмечалась высокая летальность.
- У больных были выявлены дефекты клеточного иммунитета, развитие пневмоцистной пневмонии, кандидоза и *саркомы Капоши* у них было расценено как оппортунистические заболевания.
- СПИД окрестили болезнью четырех “Н” - по первым буквам английских вариантов слов гомосексуалы, гемофилия, гаитяне и героин. В 1986г. был идентифицирован еще один вирус - ВИЧ-2.



# Вирус иммунодефицита человека

- Ретроспективные исследования показали циркуляцию этого вируса, по крайней мере, с конца 50-х - начала 60-х годов.
- Прародительницей ВИЧ считают тропическую Африку, где широко распространен ВИО (близкородственный ВИЧ-2) среди обезьян.
- Первые известные серологические находки ВИЧ отмечены в Африке, здесь же - наибольшая интенсивность передачи ВИЧ наиболее естественным гетеросексуальным путем.
- Однако эпидемическое распространение ВИЧ - инфекция получила с конца 70-х - начала 80-х годов.
- В 1987г. выявлен первый случай в России, в настоящее время счет идет на десятки тысяч инфицированных в год.
- В мире регистрируют десятки миллионов инфицированных ВИЧ в год, ежегодно число вновь инфицированных увеличивается, т.е. налицо пандемия ВИЧ - инфекции.

# Структура вириона ВИЧ.

- ВИЧ имеет сферическую форму и размеры 100 - 120 нм в диаметре.
- Наружная оболочка образована **двойным липидным слоем с гликопротеиновыми “шипами”**, состоящими из: трансмембранного белка **gp41** (пронизывает липидный слой) и наружного белка **gp120**.
- Эти оболочечные белки кодируются **геном env** и участвуют в прикреплении вириона к мембранам клеток хозяина.
- С внутренней стороны липидной оболочки находится матричный каркас, образованный белком **p17**.
- Он окружает внутреннюю структуру вириона - **нуклеокапсид** или сердцевину (англ. - core).
- Собственная оболочка сердцевины образована **“коровским” белком p24**.
- Внутри нуклеокапсида находится геном вируса в виде двух цепочек, связанных белками **p7** и **p9**, полимеразный комплекс ревертазы, протеаза, интегразы (эндонуклеаза), затравочная т - РНК.

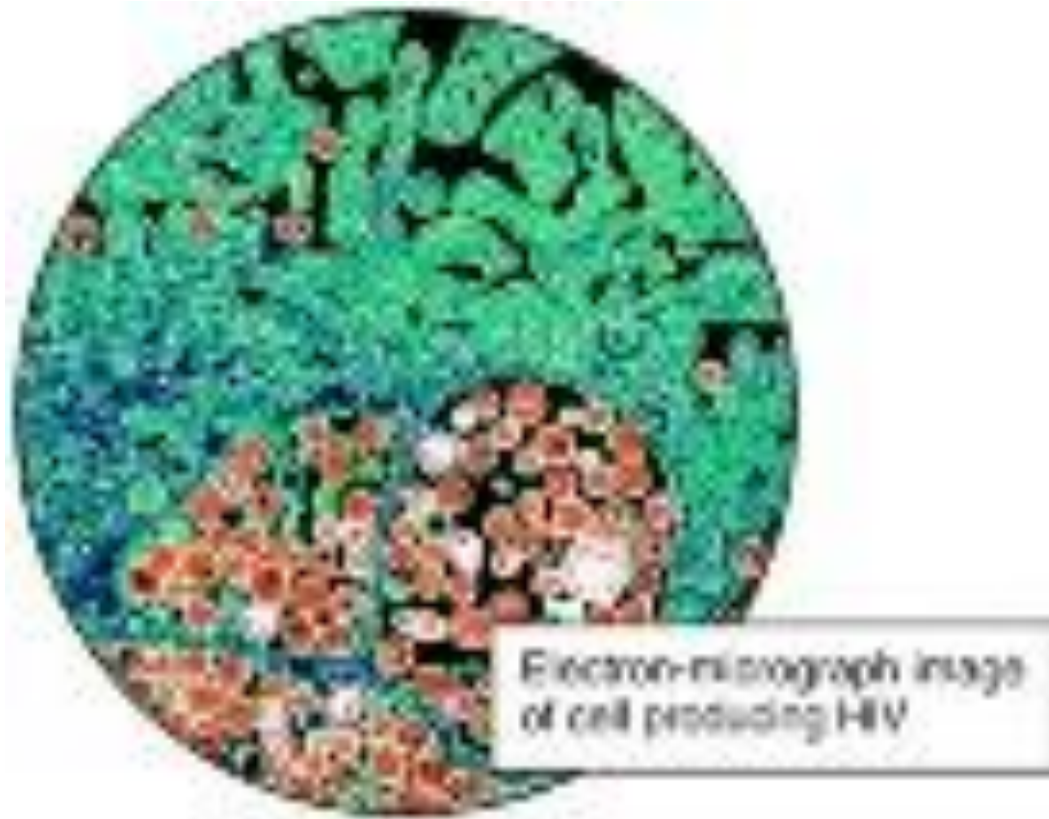


# Структура вириона ВИЧ



# Структура вириона ВИЧ

- Наиболее распространен ВИЧ-1, который в зависимости от строения гена env имеет субтипы.





# Жизненный цикл ВИЧ



Инфекционный процесс при заражении ВИЧ носит последовательный фазовый характер и начинается с проникновения вируса через слизистую оболочку половых путей или с непосредственного поступления в кровоток.

Проникнув в организм, вирус в первую очередь атакует клетки, имеющие специфичный для него рецептор CD4. Этот рецептор имеют в большом количестве Т - хелперы, в меньшем - макрофаги и моноциты, нейроны, клетки нейроглии и некоторые другие клетки (см. лекции по общей иммунологии).

Вирус распознает CD4 - рецепторы с помощью своего белка gp120.


# Жизненный цикл ВИЧ

Процесс инфицирования клетки вирусом осуществляется в два этапа:

1. прикрепления и
  2. слияния.
- Прикрепленный через белок gp120 к рецептору CD4 клетки - мишени вирус белком оболочки gp41 сливается с мембраной клетки.
  - Белок gp41 обеспечивает не только слияние вирусной и клеточной мембран, но и слияние мембран клеток с образованием синцития (многоядерных клеток), обреченного на гибель.
  - Нуклеокапсид, освобожденный от суперкапсида при слиянии мембран, попадает в цитоплазму.
  - На пути к ядру освобождается геномная РНК и ассоциированные с ней компоненты сердцевины.
  - Обратная транскриптаза синтезирует на вирионной РНК минус - цепь ДНК,
  - РНК-аза разрушает вирионную РНК,
  - а вирусная ДНК - полимераза синтезирует на минус - цепи плюс - цепь ДНК.



# Жизненный цикл ВИЧ



Двунитевая ДНК транспортируется в ядро клетки, где приобретает **кольцевую форму** и интегрируется под действием эндонуклеазы (интегразы) с ядром клетки, превращаясь в **ДНК - провирус**.

Последующие этапы жизненного цикла ВИЧ:

- *латентная фаза,*
- *фаза активации транскрипции с ДНК-провируса и*
- *последующая трансляция белков вируса,*
- *наработка компонентов вируса и формирование новых вирионов,*
- *их выход из клетки, сопровождающийся цитопатическим эффектом для клетки - мишени.*



# Жизненный цикл ВИЧ

- ДНК - провирус может длительно находиться в неактивном состоянии (персистентное инфицирование). В этот период вирус можно выявить только с помощью ПЦР.
- Активация транскрипции особым ядерным фактором в результате действия иммунокомпетентных клеток или микробных антигенов приводит к *продуктивной фазе* - активному размножению ВИЧ.
- Факторы экспрессии генов ВИЧ - специфические антигены (прежде всего - герпес - вирусы), неспецифические митогены (фитогемагглютинин), цитокины (фактор некроза опухолей, гамма - интерферон), бактериальные иммуномодуляторы (фосфолипиды сальмонелл), глюкокортикостероиды.



# Антигенные свойства ВИЧ

- Функция обратной транскриптазы не подвергается контролю, что обуславливает высокую частоту генетических ошибок при репликации.
- С учетом частоты изменчивости ни один ВИЧ не производит при репликации вирион, в точности соответствующий родительскому.
- Высокая генетическая изменчивость реализуется в *вариабельности антигенных и биологических свойств* ВИЧ.
- Высокой изменчивостью характеризуется продукт гена **env** - оболочечный белок gp120, особенно петлеобразный V3 - домен (из 35 аминокислот), к которому образуется до 90-95% всех вируснейтрализующих антител.



# Антигенные свойства ВИЧ

- ВИЧ-1 и ВИЧ-2 имеют существенные отличия в строении, гомология первичной структуры геномов составляет только около 42%, перекрестного иммунитета между этими вирусами нет.
- Антигенными свойствами обладают все основные структурные элементы вириона, прежде всего - белки. Исключительная генетическая и антигенная изменчивость позволяет вирусу выживать в инфицированном организме.
- Наряду с генетическими особенностями, ВИЧ-1 имеет фенотипические различия по ряду свойств - эффективности репликации, характеру цитопатического действия и способности образовывать синцитий (этот признак связан с вирулентностью), преимущественному тропизму к клеткам - моноцитотропные изоляты (начальные этапы болезни) и лимфотропные изоляты (разгар болезни).



# Патогенез СПИДа

Рецептором для ВИЧ является дифференцировочный **антиген CD4**, имеющий гомологичные участки с иммуноглобулинами и **белком gp120 ВИЧ**.

Расположенный на мембранах Т-хелперов и Т-индукторов, рецептор CD4 в комплексе с белками HLA II класса выполняет *функцию распознавания антигенов*.

Фиксация вируса через gp120 ВИЧ-1 (или gp105 ВИЧ-2) с мембранным рецептором CD4 **блокирует основную функцию этих иммунокомпетентных клеток - восприятие сигналов от антиген - представляющих клеток**.

Последующая репликация вируса ведет к гибели этих клеток и выпадению их функций, т.е. к развитию иммунодефицита.

Чем активнее CD4+ клетки, тем активнее процесс репродукции вируса. ВИЧ угнетает преимущественно Т-хелперы - 1 (связанные со многими цитокинами клеточного иммунитета), что способствует развитию вирусных инфекций и опухолей.



# Патогенез СПИДа

- Сродство вирусного gp120 (gp105 в случае ВИЧ - 2) к этому рецептору определяет высокую избирательность поражения клеток.
- **В патологический процесс вовлекаются в первую очередь и в наибольшей степени CD4+ лимфоциты, моноциты крови и макрофаги тканей, дендритные клетки крови, лимфоузлов, селезенки, кожи, альвеолярные и интерстициальные макрофаги легких, микроглия и другие клетки нервной системы, имеющие CD4+ рецепторы.**
- Поражаются также В- и Т- лимфоциты, ретикулярные клетки, эпителиальные клетки кишечника. Большое значение в распространении ВИЧ и длительному сохранению в организме придают клеткам Лангерганса.





# Патогенез СПИДа

В патогенезе ВИЧ - инфекции большое значение имеют механизмы иммунного повреждения. Наличие сходных участков в структуре белков gp120, HLA класса II и CD4 - рецепторов определяет перекрестное реагирование антител к ВИЧ с этими структурами с рядом патологических эффектов (блокада кооперации CD4+ лимфоцитов и HLA класса II, неадекватная стимуляция CD4+ клеток и др.).

# Патогенез СПИДа

- Поражение иммунной системы при ВИЧ - инфекции носит системный характер, проявляясь глубокой супрессией Т- и В- звеньев иммунитета.
- Происходят изменения гиперчувствительности немедленного и замедленного типа, гуморального иммунитета и факторов неспецифической защиты.
- Наряду с дефицитом CD4+ лимфоцитов в динамике болезни нарастает функциональная недостаточность CD8+ лимфоцитов, NK клеток, нейтрофилов.
- Нарушение иммунного статуса проявляется рядом синдромов - инфекционным, аллергическим, аутоиммунным, лимфопролиферативным.





# Клинические проявления

- Манифестный синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) проявляется в трех основных клинических формах: -
  - нейроСПИД,
  - онкоСПИД,
  - инфектоСПИД (оппортунистические инфекции).
- Это зависит от путей внедрения ВИЧ, его преимущественного тропизма к CD4 Т-лимфоцитам или макрофагам, наличия кофакторов (цитомегаловирус, вирус Эпштейна - Барр), дозы инфекта, иммунного статуса организма и др.



# Клинические проявления

- В динамике ВИЧ-инфекции можно выделить следующие основные стадии:
  - заражение,
  - латентный период,
  - появление лабораторных признаков инфекции,
  - первичная клиника острой вирусной (*ретровирусной*) инфекции (эта стадия может отсутствовать),
  - клинический СПИД (иммунодефицит плюс индикаторные болезни). Особое значение имеет выявление *лабораторных признаков ВИЧ-инфекции*.

Можно выделить три типа инкубации:

- - вирусологическую (от инфицирования до определения в крови вируса или его антигенов) - в среднем 2 - 4 недели;
- - серологическую (от заражения до сероконверсии - появления положительных серологических результатов) - в среднем 8 - 12 недель;
- - СПИД - инкубацию (равно или более 10 лет). Безусловный иммунологический критерий СПИДа - снижение CD4+ лимфоцитов до 200 клеток в микролитре.

# Лечение

- Лечение является одним из наиболее актуальных и до настоящего времени не решенных проблем ВИЧ - инфекции.
- Теоретически наиболее оправдано применение препаратов, ингибирующих обратную транскрипцию - зидовудин, азидотимидин, диданозин, ставудин и др.
- Вакцины против ВИЧ находятся в стадии разработки. С учетом высокой изменчивости вируса это очень сложная задача.



# Лабораторная диагностика ВИЧ – инфекции.

## Материал для исследования:

- Кровь,
- Лейкоциты периферической крови,
- Пунктат лимфатических узлов и костного мозга,
- Отделяемое слизистых оболочек генитального тракта,
- Сперма,
- Слюна
- Слёзная жидкость,
- Грудное молоко,
- Спинальная жидкость,
- Трупный материал





# Лабораторная диагностика ВИЧ – инфекции.

- Основные методы диагностики:

## 1. Экспресс-методы

### 1.1. Иммунохимические методы:

- ИФА (обнаружение Аг р24 в крови и лимфоцитах)

### 1.2. молекулярно-биологические методы:

- ПЦР (вирионная РНК).

## 2. Серодиагностика:

- ИФА (обнаружение Ат к Аг gp120). При положительном результате ставят иммуноблот.
- Иммуноблот («вестерн-блот»),
- Непрямой метод ИФ.

## 3. Вирусологический метод

## 4. Оценка иммунного статуса

Основными направлениями в лабораторной диагностике являются:

- - выявление антител к ВИЧ;
- - выявление ВИЧ или его антигенов;
- - определение изменений в иммунном статусе.



# Лабораторная диагностика. ИФА

- Для выявления антител применяют ИФА с различными тест - системами (лизатными, рекомбинантными, пептидными антигенами ВИЧ-1 и ВИЧ-2).
- Основная проблема - ложноположительные результаты (перекрестная реактивность gp120, CD4+ рецепторов, белков HLA II класса и др.).
- Поэтому исследования в ИФА проводят, как правило, с использованием параллельно нескольких различных тест - систем.





# Лабораторная диагностика.

## Иммуноблот

- Иммуноблот чаще применяют как подтверждающий тест для выявления антител к отдельным белкам ВИЧ.
- Антитела к основным внутренним белкам (p17, p24) обнаруживают у 70% инфицированных и примерно у половины больных СПИДом.
- В иммуноблоте чаще всего выявляются антитела к gp41 (до 85%) и gp120 (до 100%).
- В ранние сроки используют выявление в ИФА антигена *p24*.

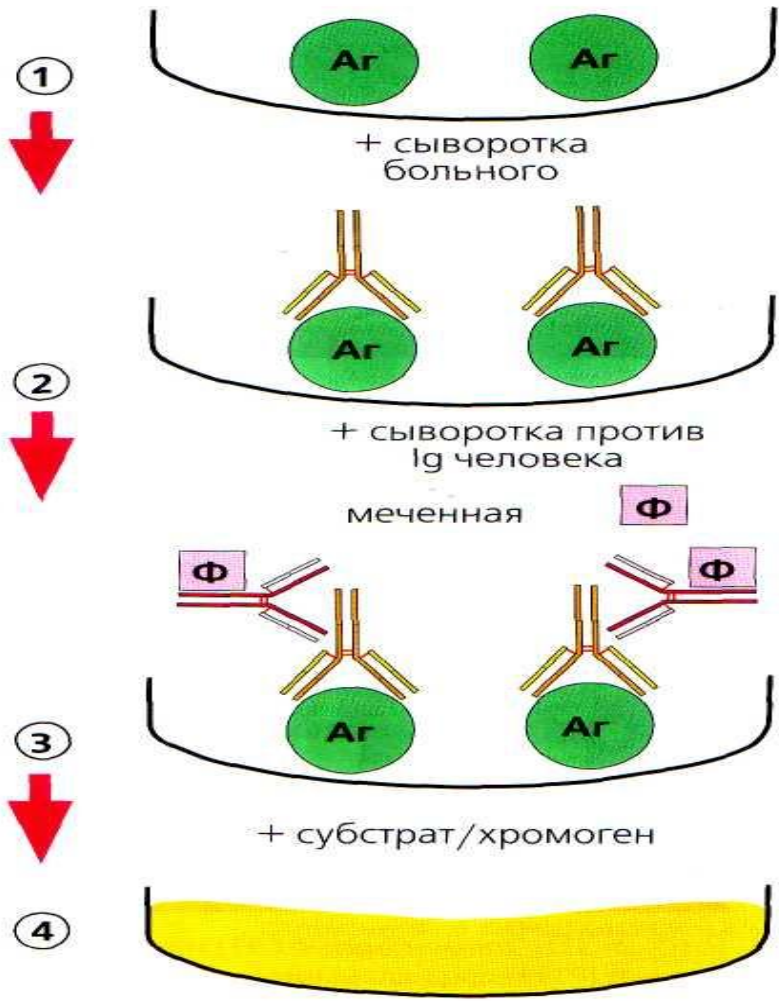


# Лабораторная диагностика.

Основным клинико-лабораторным показателем диагностики СПИДа у ВИЧ-инфицированных является определение количества CD4+ лимфоцитов.

Уровень ниже 200 клеток/мкл является основным критерием СПИДа.

# Иммуноферментный анализ



Выявление антигенов или антител с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой хрена, бета-галактозидазой или щелочной фосфатазой).

После соединения антигена с меченной ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат пероксидазы - перекись водорода.

Субстрат расщепляется ферментом, что в конечном итоге приводит изменению цвета продукта реакции: интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител. Реакцию останавливают добавлением раствора серной кислоты.

Твердофазный ИФА — вариант теста, когда один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитело) сорбирован на твердом носителе, например в лунках планшеток из полистирола.



## Расположение «прямого» и «обратного» праймеров в ПЦР

5' **CTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATACCGCGCCCGGCGACCGAGTT**  
1870 1880 1890 1900 1910 1920

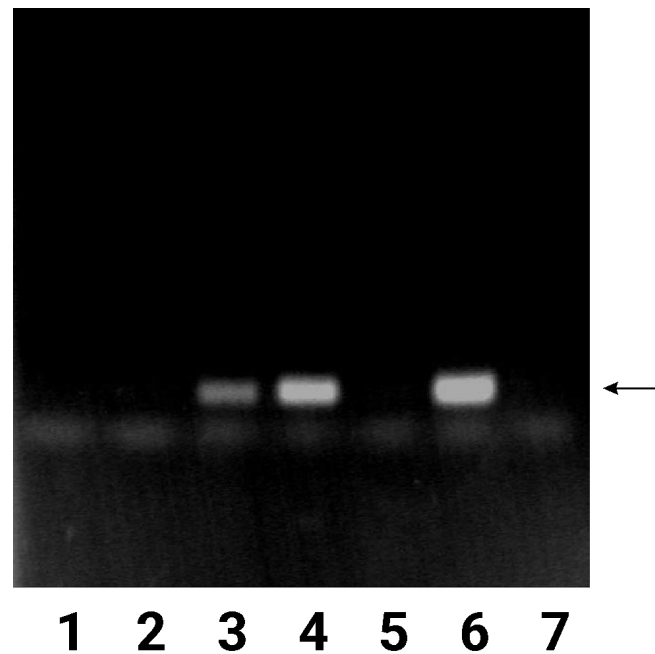
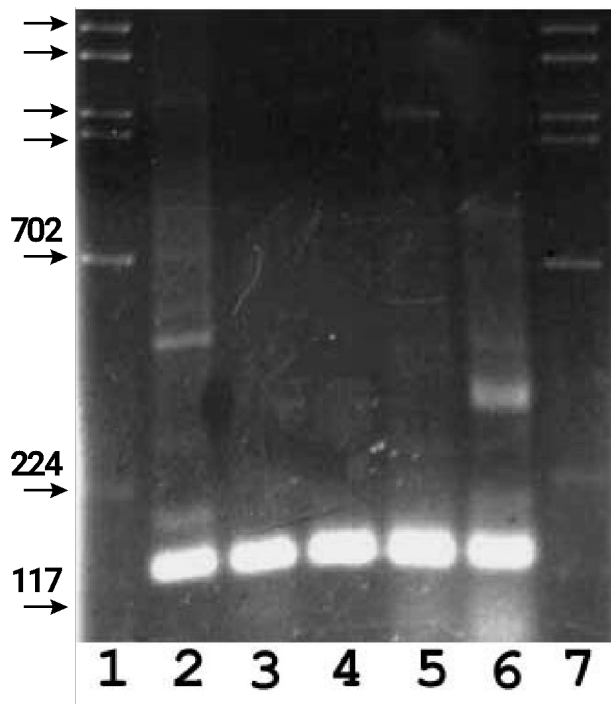
3' **GACACTGACCACTCATGAGTTGGTTCAGTAAGACTCTTATGGCGCGGGCCGCTGGCTCAA**  
**GCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATAGTGTATGACATAGCAGAACTTTAAAAGTGC**  
1930 1940 1950 1960 1970 1980  
**CGAGAACGGGCCGACAGTTATGCCCTATTATCACATACTGTATCGTCTTGAAATTTTCACG**  
**TCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGAT**  
1990 2000 2010 2020 2030 2040  
**AGTAGTAACCTTTTGCAAGAAGCCCCGCTTTTGAGAGTTCCTAGAATGGCGACAACCTCTA**  
**CCAGTTCGATGTAACCACTCGTGCACCCAACCTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTACCA**  
2050 2060 2070 2080 2090 2100  
**GGTCAAGCTACATTGGGTGAGCACGTGGGTGACTAGAAGTCGTAGAAAATGAAAGTGGT**  
**GCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGA**  
2110 2120 2130 2140 2150 2160  
**CGCAAAGACCACTCGTTTTTGTCTTCCGTTTTTACGGCGTTTTTTCCCTTATTCCCGCT**  
**CACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGG** 3'  
2170 2180 2190 2200 2210 2220  
**GTGCCTTTACAACCTTATGAGTATGAGAAGGAAAAGTTATAATAACTTCGTAAATAGTCC** 5'



# ПЦР - диагностика.

Наиболее чувствительным методом выявления ВИЧ является ПЦР - диагностика.

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР  
в «конечной точке»



# Тақ Ман детекция продуктів ПЦР в реальному часі

