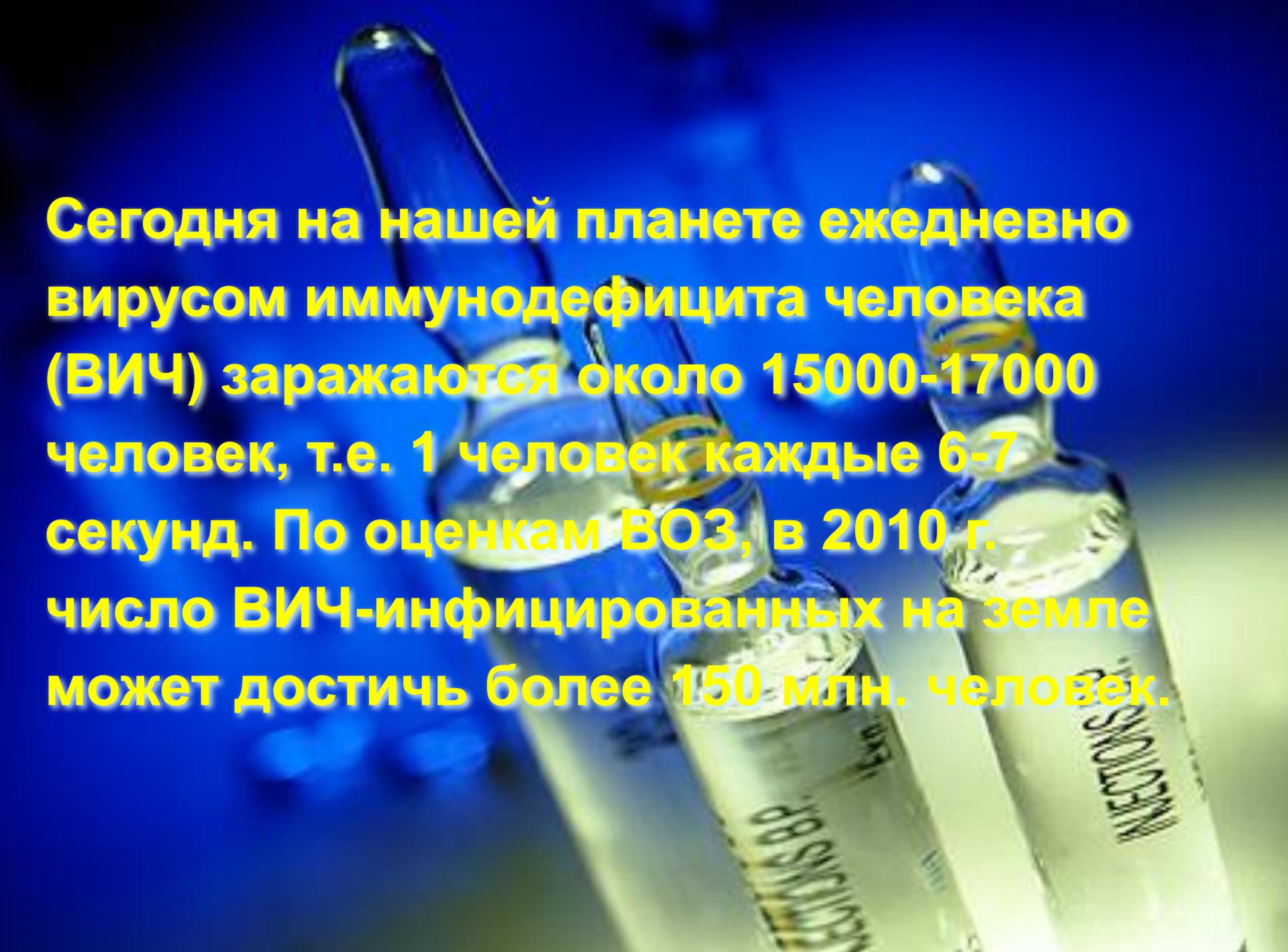


Возбудители ВИЧ- инфекции

Академик РАМН, профессор Зверев В.В.,
Профессор Бойченко М.Н.



Сегодня на нашей планете ежедневно вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) заражаются около 15000-17000 человек, т.е. 1 человек каждые 6-7 секунд. По оценкам ВОЗ, в 2010 г. число ВИЧ-инфицированных на земле может достичь более 150 млн. человек.

ТАКСОНОМИЯ

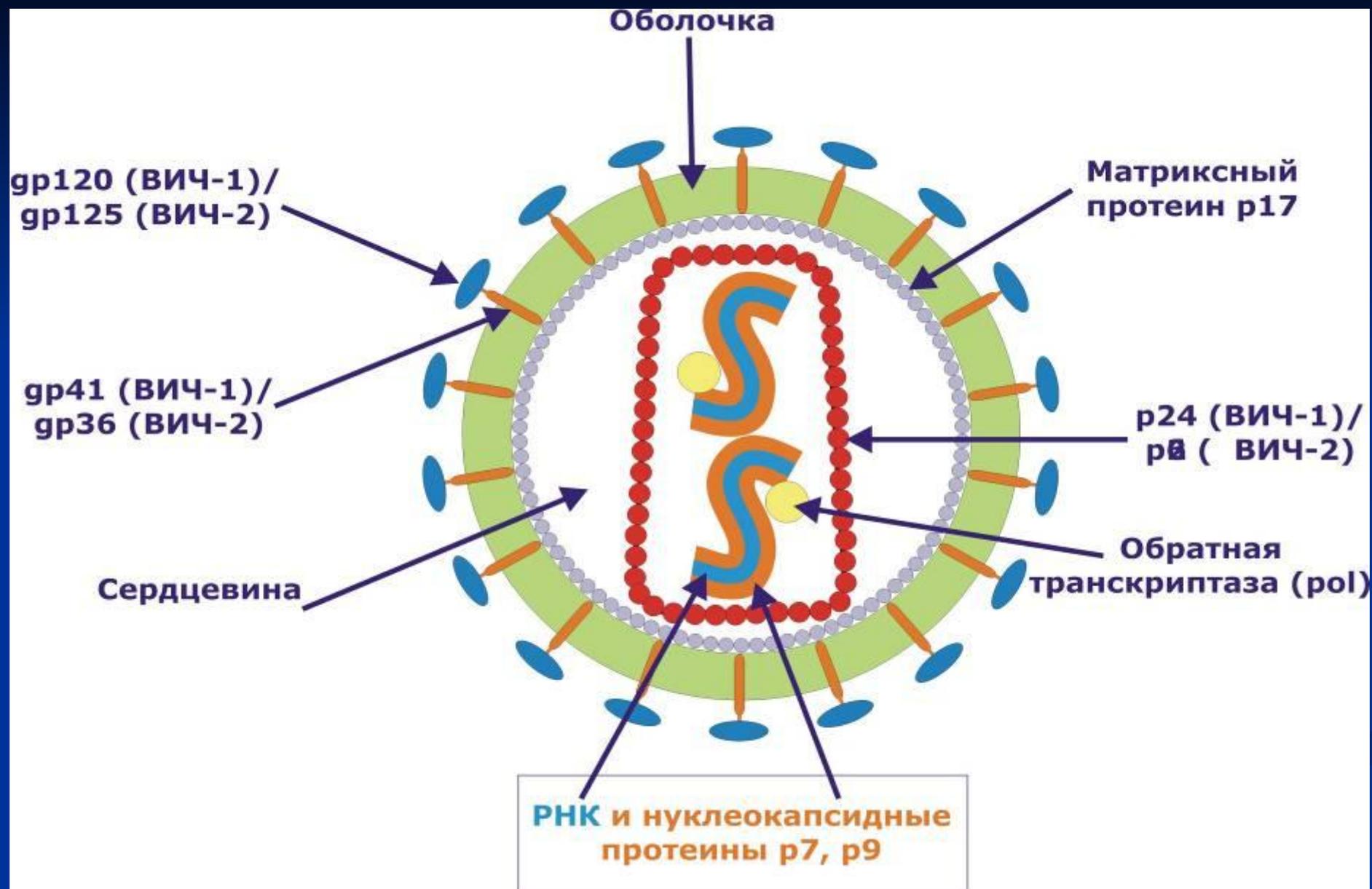
- Семейство ретровирусы (Retroviridae)
- род Lentivirus (Lentivirus)
(“медленные” вирусы).
- ВИЧ 1 и ВИЧ 2 (HIV1, HIV2)
- В род также входят: ВИО (SIV) вирус иммунодефицита обезьян, вирус висны овец, вирус иммунодефицита кошек, вирус артрита коз, вирус инфекционной анемии лошадей.
- *Кроме сходства по своему строению эти вирусы вызывают однотипные патологии.*

Строение вириона

- *Сложноорганизованный вирус*
- шарообразная микрочастица, диаметром 100-150 нм,
- Капсид конусообразной формы, напоминает «футляр», в котором хранятся 2 молекулы «плюс»- РНК, ферменты ревертаза, интегразы, протеазы. Вся поверхность «футляра» покрыта шиповидными выростами, общее число которых равно 72.
- Поэтому обычно ВИЧ изображают похожим на противолодочную мину, на поверхности которой расположены белковые "грибы", служащие вирусу отмычкой для проникновения в клетку человека. Иногда вирус сравнивают еще с подушкой, утыканной иголками.

Схема строения вириона ВИЧ





Антигенная структура

Типы антигенов	ВИЧ-1	ВИЧ-2
Группоспецифические (gag)	p24	p26
Типоспецифические (gp)	gp 160: gp41 gp120	gp140: gp36 gp 105

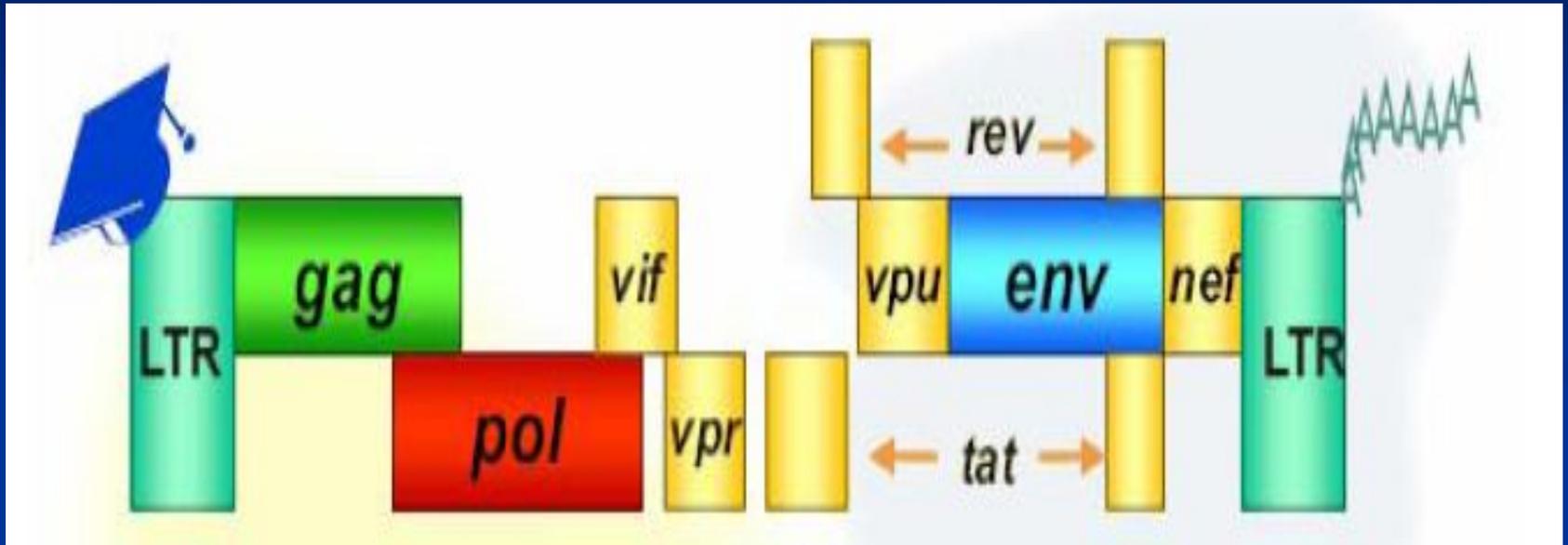
gp трансмембранные белки

- gp 41(36), обеспечивают *слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной*
- Состоят из *трансмембранного участка*, который заякорен в оболочке вириона и *участка слияния*, обеспечивающего **пенетрацию вириона внутрь клетки**

gp120 (105)

- Содержит связывающие домены, ответственные за прикрепление вируса к рецептору CD4 и корецепторам
- Определяет макрофагальный и лимфоцитный тропизм вируса
- Несет главную антигенную детерминанту, вырабатывающую нейтрализующие антитела (иммуногенный эпитоп) Иммуногенный эпитоп обладает высокой гипервариабельностью

Геном вируса



Геном вируса

- Геном вируса состоит из 2 «положительных нитей» РНК, в которые входят 9 генов, кодирующих 15 белков. По концам расположены длинные концевые повторы (LTR). Структурные гены кодируют белки, которые непосредственно входят в структуру вириона или являются ферментами. К ним относятся гены, обозначаемые env, gag, pol.

Геном вируса

- Ген *env* (от англ. *envelope* – оболочка) кодирует белок молекулярной массы 160 кД, который является предшественником гликопротеинов оболочки вируса *gp41* и *gp120*.
- Ген *gag* (от англ. *group specific antigens* – группоспецифические антигены) кодирует белок *p55*, который является предшественником 4 внутренних белков вируса- *p24*, *p17* (матриксный белок), *p7* и *p6*. Белок *p7* связан с геномной РНК вируса, необходим при сборке вириона для заключения РНК в нуклеокапсид. Белок *p6* обеспечивает высвобождение дочерних вирионов из клетки-хозяина.

Геном вируса

- Ген pol (от англ. Polymerase –полимераза) кодирует синтез ферментов: протеазы (p10), которая расщепляет белок предшественник gag p55; и еще трех других ферментов – обратной транскриптазы (ревертазы) (p64/p66 /68); РНКазы (p15), которая отделяет молекулу РНК из комплекса комплементарных цепей РНК+ДНК, который образуется в процессе обратной транскрипции; и интегразы (p31/32), которая обеспечивает интеграцию ДНК провируса в геном клетки хозяина. Все 4 ферменты локализованы в нуклеокапсиде вириона.

Строение генома

ген	Вирионные белки
LTR	Длинные терминальные повторы
gag	Группоспецифические антигены P24; p7, p6, p17
pol	Протеаза, ревертаза, интеграна
env	Типоспецифические антигены gp160, gp120, gp 41

Строение генома

- Другие 6 генов: *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpr* (vpx у ВИЧ-2) кодируют регуляторные белки, необходимые для репродукции вируса в клетке. Их функции изложены в таблице

Строение генома

ген	Регуляторные белки и их функции
tat	Трансактиватор запускает вирусную транскрипцию
rev	Обеспечивает транспорт вирусных и-РНК из ядра. Необходим для процесса трансляции
nef	Негативный регулятор , подавляет также синтез рецептора 1 класса главного комплекса гистосовместимости
vif	Фактор инфективности Участвует в процессе созревания вирионов
vpr	Обеспечивает ядерную локализацию вирусного генома
vpu	Обеспечивает процесс почкования вирионов из клетки

- На основе последовательностей в env гене ВИЧ-1 подразделяется на 3 группы:
M (main), N (new) , O (outlier)
- O и N характерны для западной Африки
- Доминирующей является M группа. Она подразделяется на 10 субтипов (A-J), которые имеют различное географическое распространение: в северной Америке и в Европе превалирует B-тип; в России – A тип; в Африке – A и C, в Индии – C, в Тайланде –E, в Южной Америке- F

Разновидность вируса

- Во всех регионах мира обнаруживаются так называемые рекомбинантные субтипы, содержащие часть генов одного субтипа и часть другого. Так в России основным субтипом ВИЧ является А, но встречаются рекомбинанты А+В.
- Значительные генетические отличия от представителей основной группы имеет группа штаммов О (от англ, outline). Случаи инфицирования штаммами ВИЧ-О имеют место на территории Западной Африки, их число пока невелико, однако, вполне вероятно быстрое распространение данного субтипа вируса за пределы Африки.

Разновидность вируса

- Определение субтипов ВИЧ осуществляется методами молекулярной биологии — полимеразной цепной реакции (RT-PCR — ПЦР) и методом, основанным на использовании разветвленных ДНК-зондов (branch DNA — разветвленная ДНК). Этим методом возможно количественное определение РНК ВИЧ и ДНК провируса ВИЧ, причем всех основных субтипов.
- Коммерческие наборы, предназначенные для определения РНК ВИЧ методом ЛЦР. Рассчитаны для выявления всех типов ВИЧ кроме О.
- Генетическая изменчивость проявляется в вариабельности не только антигенных, но и биологических свойств изолятов вируса.

ВИЧ-2

- Сотрудникам Л. Монтанье в 1985 г. удалось выделить вариант вируса иммунодефицита человека от двух африканцев с заболеванием, подобным СПИД. Вирус не распознавался антителами к ВИЧ, поэтому был обозначен как ВИЧ-2. Уже через два года заболевание, вызываемое ВИЧ-2, было выявлено на других континентах. Оно характеризуется большей длительностью бессимптомного периода по сравнению с инфекцией ВИЧ-1.

ВИЧ-2

- Строение ВИЧ-2 идентично строению ВИЧ-1. Однако большая часть структурных белков различается по молекулярной массе и антигенной характеристике.
- Так, например, поверхностный эпимембранный и трансмембранный гликопротеины имеют иную молекулярную массу, чем gp120 и gp41, и обозначаются Gp105/125* и gp36 соответственно. К рецепторным белкам клеток-мишеней gp105 имеет такое же выраженное сродство, как и gp120.
- Нуклеокапсид ВИЧ-2 состоит из белка p26, а матриксный каркас — из протеина p16.

Культивирование

- ВИЧ культивируется в культуре клеток Т-лимфоцитов с добавлением ИЛ-2, вызывая ЦПЭ в виде симпластообразования
- Гемагглютинирующими свойствами не обладает

Резистентность вируса

- 70% этанол убивает вирус в течение нескольких секунд
- ВИЧ полностью инактивируется в течение 5-10 минут при комнатной температуре под влиянием:
 - 10% хлорной извести
 - 50% этанола
 - 0,5% лизола
 - 0,3% перекиси водорода
 - УФ излучения, ионизирующей радиации

Резистентность вируса

- В случае присутствия ВИЧ в свернутой и несвернутой крови, на инструментах необходимо воздействие **неразведенной извести в течение 30 минут**
- ВИЧ инактивируется прогреванием при 56С в течение 10 минут
- Лиофилизированные кровяные продукты необходимо прогревать при 68С в течение 72 часов

Резистентность вируса

- ВИЧ сохраняется:
 - При комнатной температуре – 4 суток
 - В высохшей крови – до 2 недель
 - Замороженной сперме – месяц
 - Донорской крови - годы

Резервуар и источник инфекции- инфицированный человек

- Наибольшую эпидемиологическую опасность представляют:
 - Кровь
 - Сперма
 - Вагинальная жидкость

В них вирус находится в наибольшей концентрации

- Для заражения необходимо попадание в организм 0,1мл крови, содержащей инфицированную дозу



Основные пути передачи ВИЧ

-  Пути инфицирования, доминирующие в развивающихся странах
-  Пути инфицирования, доминирующие в развитых странах

Взаимодействие вируса с клетками

- ВИЧ инфицирует клетки, несущие на своей поверхности CD4 рецептор и хемокиновые рецепторы
- CD4 рецептором и хемокиновыми рецепторами обладают: Th (helper) лимфоциты, моноциты, макрофаги, фолликулярные дендритные клетки, клетки островков Лангерганса, клетки микроглии мозга

Взаимодействие вируса с клетками

- Вирус также инфицирует широкий спектр CD-негативных клеток, обладающих хемокиновыми рецепторами: астроциты мозга, эпителий шейки матки, почечный эпителий, эпителий кишечника, эндотелиальные клетки капилляров мозга и шейки матки, клетки роговицы глаза

Основные корцепторы для ВИЧ: CCR5 и CXCR4.

- В нормальных клетках они служат полноценными рецепторами для специфических растворимых клеточных белков регуляторов – **хемокинов**, обладающих хемоаттрактивными и цитокиновыми свойствами.
- При взаимодействии клеток с ВИЧ CCR5 CXCR4 необходимы для проникновения вируса в клетку

Проникновение вируса в клетку

- Вначале вирус связывается с CD4 рецептором
- Взаимодействие с корецепторами CCR5 CXCR4 необходимо для слияния вириона с клеточной мембраной, обеспечивающее проникновение ВИЧ в клетку
- Взаимодействие с CD4 и корецепторами приводит к конформационным изменениям в оболочке вируса, активируя gp41 (фактора слияния), запуская слияние мембран



1. gp120 связывается с молекулой CD4, а затем с корецепторами (CCR5 или CXCR4)

конформационные изменения в оболочечных белках, в результате чего пептид слияния проникает в клетку и вызывает слияние мембран

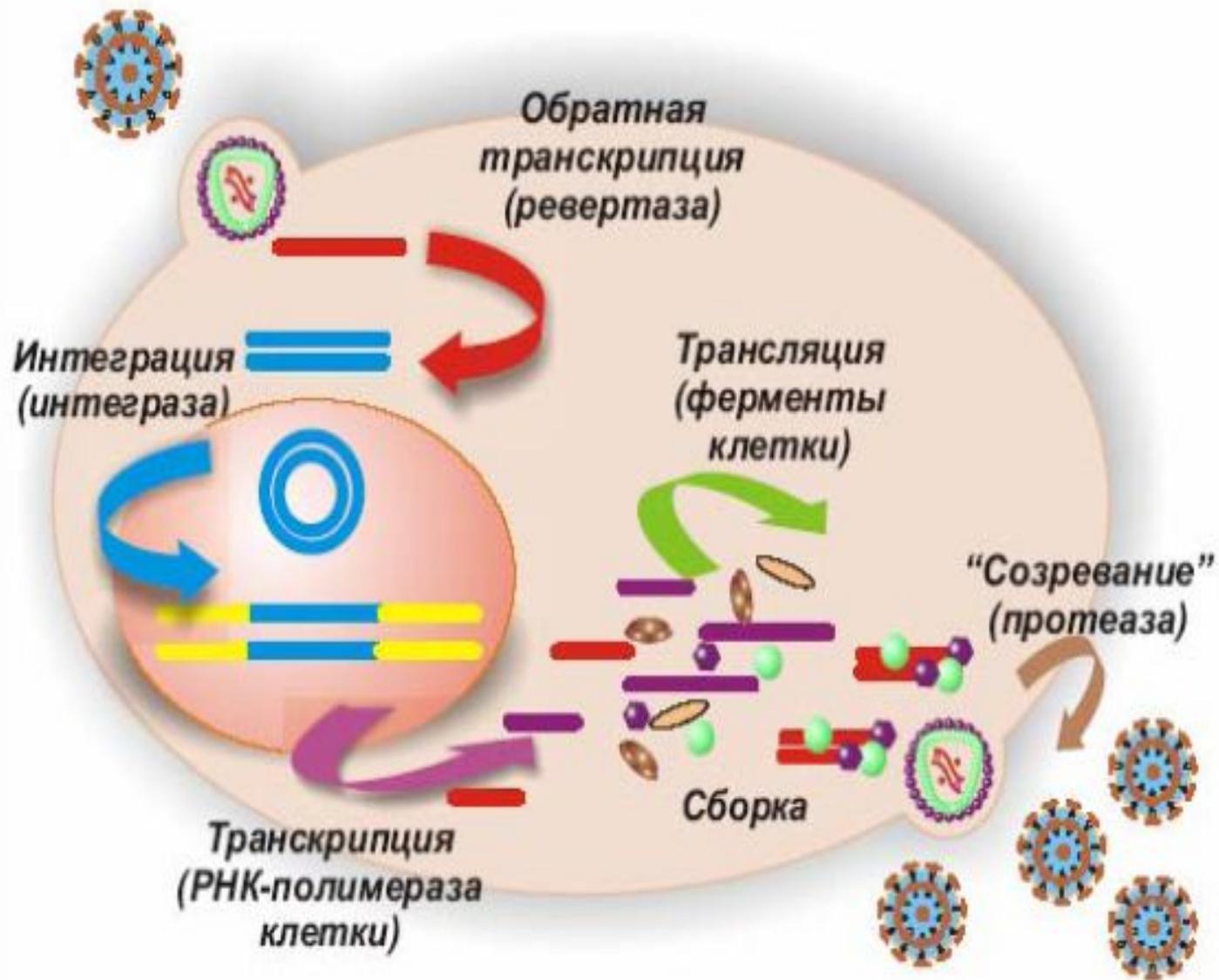
вызывает

Жизненный цикл ВИЧ

- 1) присоединение вируса к рецепторам клетки; белок gp120 ВИЧ-1 взаимодействует с CD4-рецептором и CCR5/CXCR4-корепрецептором;
- 2) изменение конформации поверхностных белков ВИЧ-1 и слияние мембран;
- 3) «раздевание вируса»; вирусная РНК освобождается от белков капсида и нуклеокапсида);
- 4) обратная транскрипция вирусной РНК с участием фермента ВИЧ-1 обратной транскриптазы; образуется двуцепочечная ДНК-копия вирусного генома;
- 5) миграция (транслокация) ДНК в ядро клетки; ДНК в составе преинтеграционного комплекса проникает через ядерную мембрану. Продукт гена vpr помогает вновь синтезированной ДНК достигать ядра и быть интегрированной в ядро

Жизненный цикл ВИЧ

- 6) интеграция ДНК в хромосомную ДНК клетки с участием фермента ВИЧ-1 интегразы; интегрированная ДНК получает название провирусной ДНК;
- 7) транскрипция провирусной ДНК с участием клеточного фермента РНК-полимеразы;
- 8) транспорт мРНК ВИЧ-1 из ядра в цитоплазму; особого внимания требуют несплайсированные – «целые» мРНК, которые позднее превратятся в геном вирионов; (процесс находится под контролем продукта гена *rev*)
- 9) синтез вирусных белков с участием клеточных ферментов;
- 10) транспорт вирусных белков к месту сборки, упаковка и сборка новых вирионов;
- 11) отпочковывание и созревание вирусных частиц с участием фермента ВИЧ-1 протеазы.



Репликация вируса

- Жизненный цикл вируса составляет 1-2 суток
- При этом образуется до 10 миллиардов новых вирусных частиц

Генетические ошибки при репликации

- Вирусная репликация сопровождается высокой частотой ошибок. Следствием этого является гетерогенность вирусных геномов, выделенных от одного ВИЧ-инфицированного лица.
- Наибольшей дивергентностью обладает район, локализованный в env гене, кодирующий gp120

Генетические ошибки при репликации

- gp120 обладает 5 переменными регионами (петлями) от V1-V5, которые различаются среди изолятов вируса, выделенного от одного зараженного лица.



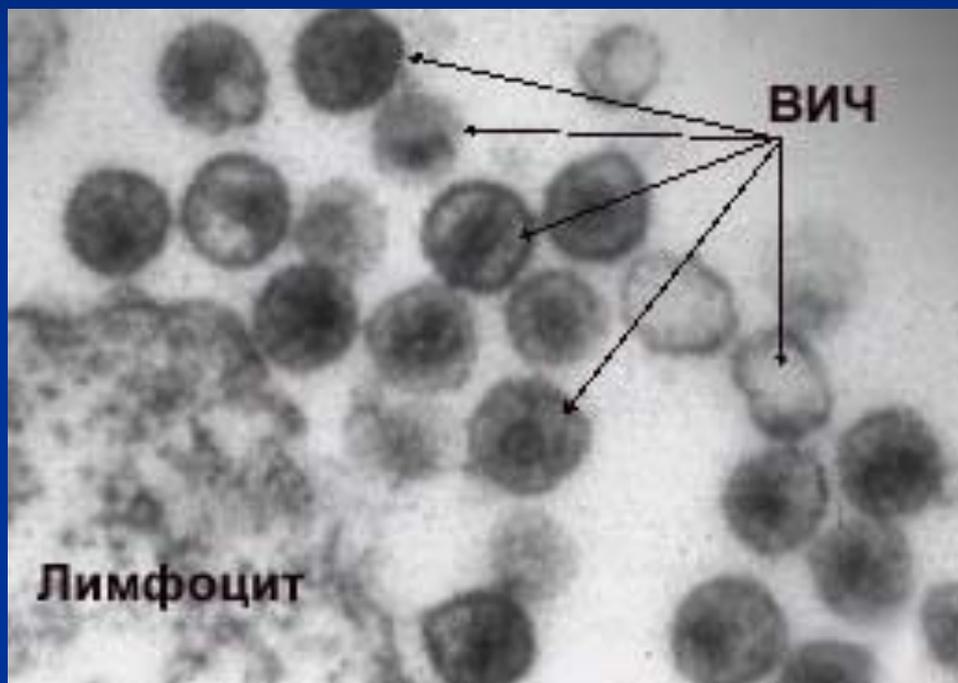
Генетические ошибки при репликации

- Главная антигенная детерминанта расположена на V3 петле. Из-за высокой гипервариабельности иммуногенного эпитопа в каждом цикле репликации формируются новые квазиварианты вируса, которые «ускользают» от нейтрализующего действия антител.

Результат взаимодействия вируса с клетками

- В результате взаимодействия с ВИЧ гибнут:
 - Th-лимфоциты
 - Клетки нейроглии мозга (астроциты)
- В-лимфоциты подвержены неспецифической поликлональной активации
- Моноциты, макрофаги, клетки островков Лангерганса, фолликулярные дендритные клетки в результате взаимодействия с ВИЧ не разрушаются, являясь резервуаром вируса

Взаимодействие вируса с клетками



Результат взаимодействия вируса с клетками

- Инфицированные макрофаги являются передатчиками вируса в головной мозг, взаимодействуя с эндотелием гематоэнцефалического барьера.

Результат взаимодействия вируса с клетками

В начале инфекционного процесса вирус является макрофаготропным, используя в качестве доминантного корцептора CCR5 корцептор. В процессе серий репликаций в организме формируются вирусные варианты, которые используют в качестве корцептора CXCR4 и являются T-тропными.

Результат взаимодействия вируса с клетками

- Появление в организме Т-тропной популяции вируса коррелирует с прогрессированием заболевания, переходу его в стадию СПИД

Результат взаимодействия вируса с клетками

- Корецептор CCR5 важен для установления инфекции
- Лица, у которых в результате мутации синтезируется дефектный CCR5, резистентны к ВИЧ-инфекции.
- В Европе приблизительно 1% населения резистентны к ВИЧ-инфекции

Стадии инфекционного процесса

- **Общая продолжительность** — в среднем 10 лет.
- **Инкубационный период** (период сероконверсии — до появления детектируемых антител к ВИЧ) — от 3-х недель до 3 месяцев.(6-10 мес)
- **Острый ретровирусный синдром** — стадия первичных проявлений- до 1 месяца. Клинические проявления: субфебрильная температура, воспаление лимфатических узлов — они становятся увеличенными, мягкими и болезненными(проходит под маской инфекционного мононуклеоза). Максимальная концентрация вируса, антител появляется только в самом конце продромального периода.

Стадии инфекционного процесса

- **Латентный период.** Единственное проявление — стойкое увеличение лимфатических узлов (плотные, безболезненные) — лимфаденопатия.
- **Стадия вторичных проявлений** — продолжительность 1-2 года — начало угнетения клеточного иммунитета. Часто рецидивирующий герпес — долго не заживающие изъязвления слизистой рта, половых органов. Лейкоплакия языка (разрастание сосочкового слоя- «волокнистый язык»). Кандидоз — слизистой рта, половых органов.

Терминальная стадия — СПИД

1-2 года

- Генерализация оппортунистических инфекций и опухолей.
- заболевание туберкулезом и микобактериозами
- сальмонеллы — переход в генерализованную форму, энцефалит, менингит.
- *Legionella pneumophyla*
- все вирусы герпеса.
- простейшие — криптоспоригии, токсоплазма (менингоэнцефалит с летальным исходом), изоспороз
- грибы — кандида, гистоплазма, криптококк, плесневые грибы.
- злокачественные опухоли.
- Саркома Капоши
- лимфомы.

Мишени для антиретровирусных препаратов

