

Մանրագրեր • Обзоры • Reviews

Биолог. журн. Армении, 3-4 (57), 2005

УДК 616.9(075)

**СИНДРОМ ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНОДЕФИЦИТА
(некоторые особенности развития и возможные пути блокирования
жизненного цикла ВИЧ)**

А.С. АГАБАЛЯН, А.М. КУШКЯН, С.Д. АДЖЯН

Ереванский государственный медицинский колледж «Эребуни», 375078

Проведен анализ литературных источников, посвященных вопросам развития, предупреждения и лечения ВИЧ-инфекции. Особое внимание уделено особенностям репродукции медленных ретровирусов: их транскрипции, трансляции и сборки. Охарактеризован геном ВИЧ, состоящий из 9 генов. Обсуждены возможные пути воздействия на ВИЧ с перечислением наиболее широко распространенных сегодня антиретровирусных препаратов.

Կատարված է գրականության աղբյուրների վերլուծությունը նվիրված ՄԻԱԿ ինֆեկցիայի զարգացման, կանխարգելման և բուժման հարցերին: Հատուկ ուշադրություն է դարձված իմունային ռեպրովիրուսների ռեպրոդուկցիայի առանձնահատկություններին տրանսկրիպցիային, տրանսլյացիային և հավաքմանը: Բնութագրված է ՄԻԱԿ-ի գենոմը, որը բաղկացած է 9 գեներից: Զննարկվում է ՄԻԱԿ-ի վրա ազդման հնարավոր ճանապարհները, ներկայացված են այսօր առավել լայն տարածված հակառեպրո-վիրուսային պրեպարատները:

The analysis of literature devoted to issues of development, prevention and treatment of HIV infection is presented. A special attention is paid to peculiarities of slow retrovirus reproduction, their transcription, translation and assembling. HIV genome comprises 9 genes is characterized. The possible ways of influencing on HIV with the enumeration of currently and widely-used antiretrovirus preparations are discussed.

ВИЧ-гены - иммунодефицит - интерферон - ДНК

Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) – медленная вирусная инфекция человека, характеризующаяся избирательным поражением иммунокомпетентных клеток и клеток мозга, выражающаяся прогрессирующим дефектом иммунной системы и проявляющаяся упорной лихорадкой, лимфоаденопатией, деменцией, нарастающей слабостью, потерей массы тела и смертью в основном от оппортунистических инфекций.

Особую группу медленных инфекций составляют заболевания, обусловленные ретровирусами, генетическим материалом которых является РНК, встраивающаяся в геном инфицированной клетки в виде ДНК-провируса. Одним из представителей этой группы вирусов является ВИЧ-вирус иммунодефицита человека

Вирус, вызывающий СПИД, был открыт в 1983г. во Франции и

США двумя разными группами исследователей. В связи с тем, что названия, предложенные авторами (LAV и HTLV-III), также как и их объединенное обозначение «LAV/HTLV-III» не полностью отражают проявление инфекции, Таксономический комитет утвердил для данного вируса следующий термин «*вирус иммунодефицита человека*» ВИЧ/НIV.

В 1986 г. было объявлено об открытии нового вируса у двух больных СПИДом. По своему строению он не отличался от ВИЧ и также убивал Т-хелперы. Однако в сыворотках этих больных отсутствовали антитела к ВИЧ-1, а ДНК обоих вирусов не были идентичны. Этот вирус получил название НIV-2 (ВИЧ-2). Сравнительное изучение генов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 показало, что в эволюционном плане ВИЧ-2 далеко отстоит от ВИЧ-1.

ВИЧ-представитель семейства ретровирусов, подсемейства лентивирусов. Зрелый вирион имеет диаметр ~ 100 нм. ВИЧ-1 представлен оболочкой, матриксным слоем, оболочкой нуклеотида, геномной РНК. Наружная мембрана вируса состоит из оболочечных белков gp41 и gp120-гликопротеины с молекулярной массой 41 и 120 kD. Молекулы gp120 могут отрываться от вирусной частицы и с током крови поступать в ткани, что может иметь существенное значение в патогенезе ВИЧ-инфекции.

Геном ВИЧ состоит из 9 генов, которые представлены тремя *структурными генами*: **Gag**-group-specific-antigens, **Pol**-polymerase, **Env**-envelope. Кроме того, геном ВИЧ представлен также 6 регуляторными генами. Гены вируса иммунодефицита и кодируемые ими белки приведены в табл. 1.

Таблица 1. Гены вируса иммунодефицита человека

| Гены | Функции | Кодируемые белки | |
|------|-------------------------|--------------------|-------------------|
| | | ВИЧ-1 | ВИЧ-2 |
| | 1. Структурные | | |
| gag | Белки ядерные | p13,p24,p35 | p26 |
| pol | Ферментные системы | p31/33.p34,p53,p64 | p36, p6 |
| env | Белки оболочечные | p41, gp120, gp160 | gp40.gp105, gp140 |
| | 2. Регуляторные | | |
| tat | Позитивный регулятор | p13/14 | p19 |
| rev | Избирательный регулятор | p17/18 | p15 |
| nef | Негативный регулятор | p27 | p27 |
| vif | Фактор инфекционности | p23 | p23 |

ВИЧ от остальных вирусов отличается исключительно высокой генетической изменчивостью, которая, по некоторым данным, почти в миллион раз выше, чем у вируса гриппа. Частота генетических ошибок при репликации ВИЧ составляет 10^4 – 10^5 ошибок/на ген/на цикл репликации, т.е. ни один ВИЧ, содержащий 10^4 нуклеотидов, не производит при репликации точной копии родительского вириона, что позволяет вирусу выжить в инфицированном организме.

Вместе с генетическими особенностями ВИЧ-1 имеет также фенотипические отличия. Показано, что по репликативной активности у ВИЧ-инфициро-

ванных выделяются две группы: rapid/high-высокоинфекционные, эффективно реплицирующие изоляты и slow/low-низкоинфекционные, слабо реплицирующие изоляты. По тропизму изоляты классифицируют лимфотропные (разгар болезни) и моноцитотропные (начальные стадии болезни). Прогрессирование ВИЧ-инфекции связано с тропизмом вируса к Т-хелперам, способности индуцировать синцитий и высокой репликативной активностью [18].

Инфекционный процесс при заражении ВИЧ носит последовательный фазовый характер: проникновение вируса через слизистую оболочку половых путей или непосредственное поступление в кровоток, связывание вириона с поверхностью клетки, которое обеспечивается как специфическими рецепторами лимфоцитов (молекула CD4), так и неспецифическими компонентами, слияние мембраны клетки и вириона, проникновение внутрь клетки, высвобождение вирусной РНК, интеграция генома вируса в геном инфицированной клетки с помощью фермента интегразы, латентная фаза, фаза активации транскрипции с ДНК-провируса и последующая трансляция белков вируса, сборка и формирование дочерних вирионов, их высвобождение из клетки. Последнее сопровождается цитопатическим эффектом для клетки-мишени.

Процесс инфицирования клетки вирусом осуществляется в две фазы: прикрепления и слияния. Прикрепленный через gp120 к рецептору CD4 клетки-мишени вирус белком gp41 оболочки сливается с мембраной клетки. Белок вируса gp41 обеспечивает не только слияние вирусной оболочки с мембраной клетки, но также слияние мембран соседних инфицированных клеток с образованием синцития.

В цитоплазме клетки-мишени репликация ВИЧ осуществляется аналогично для репликации ретровирусов. Информация вирусной РНК переписывается на ДНК клетки с помощью ОТ с образованием промежуточной дсДНК, которая, перенесясь в ядро, циркулирует и в виде кольцевой ДНК интегрирует в геном клетки, превращаясь в ДНК-провирус. Отличительная особенность ВИЧ от других ретровирусов заключается в сохранении части ДНК в свободном неинтегрированном состоянии, функционирующей самостоятельно как репликон, обеспечивая нахождение ВИЧ в организме в двух вариантах.

Заканчивается морфогенез ЦПД вируса, характеризующийся прямой деструкцией и цитолизом инфицированной клетки, образованием синцития, хронической инфекцией без выраженного цитолиза, патогенными эффектами некоторых белков ВИЧ. Динамика жизненного цикла ВИЧ отражена в табл. 2.

Исследованиями установлено, что обусловленные ВИЧ-1 и ВИЧ-2 заболевания являются самостоятельными инфекциями, вследствие различий в особенностях возбудителей, клинике и эпидемиологии. Изучение структуры ВИЧ-2 показало, что при определенном сходстве с ВИЧ-1 он отличается от последнего как по антигенной структуре, так и по последовательности оснований в нуклеиновых кислотах. Выявлено, что белок ВИЧ-2 более близок по своим свойствам антигенной структуре и составу

генетического материала к вирусу иммунодефицита обезьян, чем к ВИЧ-1. Принципиальными отличиями между двумя вирусами являются: наличие у ВИЧ-1 гена *vpr*, отсутствующего у ВИЧ-2, и, наоборот, наличие в ВИЧ-2 гена *vrx*, не выявленного у ВИЧ-1 [8]. Имеются небольшие различия и в молекулярной массе белков этих вирусов. Так, наружный гликопротеин ВИЧ-1 имеет молекулярную массу 120 kD, а у ВИЧ-2 она равна 140 kD. Белки, кодируемые геном *gag*, у ВИЧ-1 имеют молекулярную массу 24 и 17 kD, и 26 и 15 kD у ВИЧ-2. Различаются также молекулярные массы трансмембранных белков у ВИЧ-1 и ВИЧ-2, составляющие 36 и 41 kD соответственно. Более того, сыворотки крови основной массы людей, инфицированных ВИЧ-2, не реагируют с оболочечными антигенами ВИЧ-1. В то же время оба вируса инфицируют те же популяции клеток, связываются с теми же CD4-рецепторами [10].

Таблица 2. Клеточная и вирусная динамика ВИЧ

| | |
|--|---------------------------|
| Жизненный цикл инфицированной клетки | 22 дня |
| Полная ВИЧ-1 продукция | 10,3 x 10 вирионов в день |
| Минимальная продолжительность жизненного цикла ВИЧ-1 <i>in vitro</i> | 2,6 дня |
| Длительность жизни вируса в плазме | 0,3 дня |
| Внутриклеточная фаза | 0,9 дней |
| Среднее время для продукции ВИЧ-1 новой генерации | 2,6 дня |

В организме человека ВИЧ поражает клетки, имеющие на поверхности рецептор CD-4: лимфоциты, моноциты, макрофаги, промиелоциты, мегакариоциты, дендритические клетки лимфоузлов, глиальные клетки мозга, астроциты, эндотелий капилляров мозга, олигодендроциты, энтерохромозинные клетки кишечника.

При СПИДе формирование состояния иммунодефицита происходит в результате заражения ВИЧ Т-хелперов. Вирус вызывает слияние клеточных мембран и образование синцития или симпластов, в состав которых вовлекаются интактные клетки. Таким путем вирус распространяется, вызывая гибель зараженных клеток, что в свою очередь приводит к развитию лимфопении и выраженному снижению числа Т-хелперов, приводя к 2-3 - кратному снижению отношения Т-хелперов к Т-супрессорам [9]. Выключение или резкое ослабление Т-хелперов приводит к выраженному ингибированию как цитотоксической функции Т-клеток, так и к подавлению активности Т-супрессоров. Наступает расстройство антителообразующей функции В-лимфоцитов, которые при СПИДе в течение долгого времени секретируют большое количество неспецифических иммуноглобулинов, иными словами развивается гипергаммаглобулинемия.

При СПИДе происходит нарушение синтеза и секреции интерлейкина-2, что обуславливает снижение скорости роста клонов зрелых Т-лимфоцитов. В свою очередь снижение синтеза интерлейкина-2 и γ -интерферона приводит к уменьшению активности естественных киллеров и макрофагов.

Как отмечалось выше, ВИЧ способен, помимо CD4, заражать также клетки другого происхождения. Так, резервуаром вируса служат макрофаги, тромбоциты, мегакариоциты, нейроны, микроглия, астроциты, И-лимфоциты и др.

Репродукция ВИЧ в эндотелиоцитах кровеносных и лимфатических сосудов, эпителиальных клетках кожи объясняет патогенетические особенности СПИДа. Одним из важнейших патогенетических механизмов СПИДа является вирусспецифическое повреждение ткани мозга. Показано, что ВИЧ не только проникает в мозг, но и поражает его клетки. ВИЧ обнаружен в гигантских многоядерных клетках мозга, образованных из макрофагов, а вирусспецифические белки — астроцитах и нейронах, что говорит о выраженной для ВИЧ нейротропности. Кроме того, было обнаружено, что ВИЧ, выделенный из ткани мозга, легче заражает и репродуцируется в тканях мозга, чем Т-клетки [3, 12].

По всей вероятности, повреждающее действие ВИЧ на клетки обусловлено не столько репродукцией самого вируса, сколько связано с поверхностными структурами вирионов. Установлено, что инактивированный УФ-лучами ВИЧ индуцирует в Т4-лимфоцитах цитопатический эффект и гибель клеток, аналогичные таковым при заражении культуры Т4-лимфоцитов живым ВИЧ [6, 7].

Еще одной особенностью патогенеза СПИД является возможное участие других вирусов в реализации патологического процесса в организме, зараженном ВИЧ. Такое представление основывается на способности ВИЧ формировать и поддерживать в организме человека бессимптомную инфекцию, опасную для окружающих. Предполагается, что такие вирусы, как вирус Эпштейн-Барр, цитомегаловирус, вирусы папова, микоплазмы и другие могут иметь важное значение в патогенезе СПИДа [15, 16].

Ключевым вопросом в патогенезе ВИЧ-инфекции является механизм иммунного повреждения. Образование иммунодефицита при ВИЧ-инфекции не ограничивается только поражением лимфоцитов с CD4-фенотипом. Так, известно, что нарушение синтеза белков HLA I ведет к подавлению функции лимфоцитов с CD8-фенотипа, а белок вируса р15 оказывает супрессивное действие на продукцию Т-клетками ИЛ-2 и γ -интерферона, а как известно, для дифференцировки Т-эффекторов из Т-предшественников необходимы ИЛ-2, γ -интерферон и ИЛ-6. С продукцией же ИЛ-2 и других цитокинов связана функция цитотоксических Т-лимфоцитов, ответственных за противовирусную и противоопухолевую защиту организма. Наряду с поражением иммунной системы, в патологический процесс вовлекается и кроветворная ткань. Для заболевания характерны лейкопения, анемия, тромбоцитопения, наблюдается подавление функциональной активности гранулоцитов. Все сказанное однозначно говорит о том, что поражение иммунной системы при ВИЧ-инфекции носит системный характер.

Клинически нарушение иммунного статуса проявляется инфекционным, аллергическим, аутоиммунным и лимфопролиферативным синдромами иммунологической недостаточности, в основном определяющих клинику

ВИЧ-инфекции.

На фоне проведенных эпидемиологических, вирусологических, иммунологических, биохимических, молекулярно-биологических и клинических исследований предложен ряд путей возможного воздействия на вирус:

- блокирование рецепторов, которыми ВИЧ прикрепляется к клетке,
- блокирование CD-4 рецепторов клетки,
- создание CD-4 иммитаторов для блокировки «шипов» ВИЧ,
- подавление активности фермента обратной транскриптазы (ОТ),
- подавление сборки вируса,
- создание эффективной профилактической ВИЧ-вакцины.

Лечение СПИДа направлено как на клинические проявления заболевания, так и на восстановление иммунитета, что может быть достигнуто назначением антиретровирусной терапии, рациональной последовательностью применения препаратов, сохранением резервных схем лечения [17, 19, 20]. Сегодня с учетом жизненного цикла ВИЧ созданы препараты, ингибирующие активность обратной транскриптазы и протеазы. Среди активных антиретровирусных препаратов в основном используются аналоги нуклеозидов, которые, встраиваясь во вновь синтезируемые РНК или ДНК, подавляют дальнейший синтез нуклеиновой кислоты вируса.

Наиболее достоверный клинический эффект к настоящему моменту был получен при попытке заблокировать один из этапов жизненного цикла ВИЧ, а именно процесс сборки ДНК-провируса при помощи ОТ. Впервые эффективность такого подхода была показана при использовании так называемых «аналогов нуклеотидов». Как оказалось, включение в нуклеотидную цепь ВИЧ нуклеотида с измененной структурой приводит к ингибированию синтеза ДНК [13, 19].

Другая группа ингибиторов ОТ представлена ингибиторами нуклеотидной природы, которые, в отличие от нуклеотидов, не встраиваются в нить ДНК, а связываются с ОТ и блокируют её. Следующий способ влияния на жизненный цикл ВИЧ – воздействие на процесс интеграции вирусной ДНК в геном пораженных клеток при участии вирусного фермента-интегразы.

Предполагается, что на уровне сборки новой частицы ВИЧ, как и в случае других вирусов, на него могут эффективно воздействовать интерфероны (ИФН), подавляя синтез вирусспецифических белков. Сегодня имеются данные об определенном клиническом эффекте ИФН и их индукторов при лечении больных ВИЧ. Отмечается некоторая эффективность реаферона, циклоферона и др. [2, 3, 4, 11]. В настоящее время в клинической практике применяют три основных класса антивирусных препаратов [1, 8, 9].

нуклеозидные аналоги ОТ ВИЧ: AZT (азидотимидин, тимазид, ретровир, зидовудин), никавир (фосфозид), Д4Т (ставудин, зерит), ABC (абакавир, зиаген), ADV (адефовир, превеон), ddI (диданозин, видекс), ddC

(зальцитибин, хивид), ЗТС (ламивудин, эпивир);

- **нуклеозидные ингибиторы ОТ ВИЧ:** NVP (невирапин, вирамун), DLV (делавердин, рескриптор), EFV (эфавиренд, сустива, стокрин);

- **ингибиторы протеазы ВИЧ:** саквинавир в твердой желатиновой оболочке (sgv, инвираза), саквинавир в мягкой желатиновой оболочке (фортоваза), JДК (индинавир, криксиван), RTV (ритонавир, норвир), NFV (нелфинавир, вирасепт), 141W94 (ампренавир, агенераза).

Особый интерес представляют препараты, обладающие как противовирусной активностью, так и способностью стимулировать иммунную систему пораженных. К числу таких препаратов относятся ацикловир, интерлейкин-2, α -интерферон и др. [1, 5, 8].

Большое в месте борьбе с ВИЧ-инфекцией занимает разработка и создание эффективной профилактической вакцины против инфекции. Во многих лабораториях мира проходят испытания потенциальных терапевтических вакцин против ВИЧ, созданных на основе олигопептидов, гомологичных различным участкам вирусных белков, рекомбинантных белков ВИЧ, ДНК-вакцин и др. [14, 15, 18]. Кроме того, возможно создание «региональных терапевтических вакцин, созданных на основе штаммов, циркулирующих на данной территории. Широко обсуждается целесообразность использования схем, включающих ненуклеозидный ингибитор ОТ в качестве стартового терапевтического режима. Создание эффективной профилактической вакцины против ВИЧ-инфекции – кардинальная задача современных медико-биологических исследований. Генетическая изменчивость ВИЧ-1 реализуется в вариабельности антигенных свойств изолятов, зависящих от белка-предшественника оболочки (gp120), который определяет тропность вируса к клеткам, проникновение вируса внутрь клеток и характер патологического процесса.

В заключение нужно сказать, что, несмотря на значительные успехи в изучении ВИЧ-инфекции, многое еще, особенно в аспекте профилактики и лечения, остается неясным и для своего разрешения требует усилия исследователей различных медико-биологических специальностей и больших материальных затрат.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабян А.С. Глобус науки, 2, 63-66, 2002.
2. Агабян А.С. Биолог. журн. Армении, 55, 3-4, 248-252, 2003.
3. Агабян А.С, Захарян Р.А, Акопян Ж.И. и др. «Международ. симпозиум “Мозг и иммунная система”, Ереван, 2, 1997.
4. Агабян А.С, Казарян А.В, Карагезян К.Г. Вопр. теорет. и клин. медицины, 2, 3-5, 1999.
5. Белозёров Е.С, Машкевич В.С, Шортанбаев А.А. Клиническая иммунология и аллергология, “Кайнар”, Алматы, 406, 1992.
6. Бобкова М.Р, Бобков А.Ф, Буравцова Е.В. и др. Вопр. вирусол., 3, 220-224, 1993.
7. Бобков А.Ф, Покровский В.В. Эпидемиол. и инфекц. болезни, 6, 53-54, 2001.
8. Змушко Е.И, Белозеров Е.С. “ВИЧ-инфекция”, “Питер”, Санкт-Петербург, 320,

2000.

9. Змушко Е.И., Белозёров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология, «Питер», Санкт-Петербург, 575, 2001.
10. Ирова Т.И., Резников Ю.П., Покровский В.В. и др. Тер. Архив, 7, 14-16, 1988.
11. Исаков В.А. Циклоферон: применение в терапии хламидиоза и герпетической инфекции, СПб, 40, 1997.
12. Калинина Н.М., Рахманова А.Г. Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции, СПб., 7-11, 1997.
13. Кравченко А.В. Эпидемиол.и инфекц. болезни, 1, 59-62, 2001.
14. Кравченко А.В., Саламов Г.П., Богославская Е.В. и др. Эпидемиол.и инфекц. болезни, 4, 32-35, 2001.
15. Лысенко А.Я., Лавдовская М.В. СПИД-ассоциируемые инфекции и инвазии, М., 327, 1992.
16. Лысенко А.Я., Турьянов М.Х., Лавдовская М.В. и др. ВИЧ-инфекция и СПИД-ассоциируемые заболевания, М., 624, 1996.
17. Покровский В.И., Ермак Т.Н., Беляев В.В. и др. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение, М., 215, 2000.
18. Picchio G., Gulizia R., Wehrly K. et al. J.of virology. 72, 2002-2009, 1998.
19. Qingsheng L., Gerard K., Schacer T. et al. J. Virology, 1997, 71, 7080-7082
20. Pavlakis G. AIDS, Philadelphia-New-York. 746, 115-118, 1997.

Поступила 16.V.2005