**Занятие 19**

**Медленные вирусные инфекции. Микробиологическая диагностика ВИЧ-инфекции (вирус иммунодефицита человека). Онкогенные вирусы. Прионные инфекции**

**Семейство *Retroviridae* (ретровирусы)**

Семейство *Retroviridae* состоит из одноцепочечных РНК-содержащих вирусов. Название семейства дано в связи с ферментом (РНК-зависимая ДНК-полимераза, или обратная транскриптаза, или обратная транскриптаза), обеспечивающим синтез ДНК из РНК, содержащейся в вирионах. Ретровирусы имеют сферическую форму, размер 80-110 нм. Ядро вириона состоит из спирального нуклеопротеина, окруженного икосаэдрическим капсидом, снаружи окруженного липидной мембраной. На поверхности наружной оболочки имеются выпячивания гликопротеинов. В центре ядерной части характерно наличие вирусного генома и связанной с ним обратной транскриптазы. Геном состоит из двух идентичных линейных РНК с положительной цепью.

**Репродукция.** Адсорбированные посредством гликопротеинов на поверхности клетки вирусы, проникают в нее путем эндоцитоза. После высвобождения из мембран комплементарная ДНК, синтезированная на вирусной РНК с помощью вирусспецифического фермента обратной транскриптазы, интегрируется в геном клетки-хозяина и сохраняется там в виде провируса. фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза клетки-хозяина на матрице ДНК провируса синтезирует вирусную РНК, а также матричную РНК, обеспечивающую синтез вирусных белков. Информационная-РНК обеспечивает синтез вирусных белков в рибосомах клетки-хозяина, и, наконец, вирус, образовавшийся в результате соединения вирусной РНК и белков, покидает клетку путем почкования.

**Классификация ретровирусов.** Семейство *Retroviridae* состоит из 7 родов с многочисленными представителями. Большинство из них вызывают злокачественные опухоли (рак, саркому, лейкемию и др.) у различных животных. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2) и Т-лимфотропные вирусы человека (ТЛВЧ-1 и ТЛВЧ-2) имеют большее значение в патологии человека.

**Вирус иммунодефицита человека.** Вирус иммунодефицита человека — ВИЧ (на английском языке Human Immunodeficiencyvirus — HIV) — лимфотропный вирус из рода Lentivirus семейства Retroviridae. ВИЧ вызывает ВИЧ-инфекцию, приводящую к синдрому приобретенного иммунодефицита - СПИДу.

**Строение ВИЧ.** ВИЧ представляет собой РНК-содержащий сферический вирус диаметром примерно 100 нм. Его структура аналогична другим ретровирусам. Имеет наужную двухслойную липидную мембрану. Эта мембрана содержит отростки гликопротеина gp160 (молекулярная масса 160 кДа). gp160 состоит из двух субъединиц - gp120 с молекулярной массой 120 кДа, расположенной в эпимембранно на поверхности вириона, и gp41 (молекулярная масса 41 кДа), которая проходит через мембрану вируса и находится в трансмембранно. Поверхностный белок gp 120 вируса имеет 5 вариабельных доменов (V), обеспечивающих антигенные вариации его разных изолятов. Благодаря наличию этой области вариабельность ВИЧ в сто раз выше, чем у вируса гриппа.

Ядро вириона имеет конусообразную форму и состоит из капсидных белков р24, белков матрикса р17 и белков протеаз р10. Основная часть содержит фермент обратную транскриптазу, как и у других ретровирусов. Геном состоит из двух идентичных линейных РНК с положительной цепью и имеет четыре основных структурных гена (gag, pro, pol, env), 7 регуляторных и функциональных генов (tat, rev, nef, vif, vpr, vpu, vpх). Ген gag (англ., групповой антиген) кодирует коровые белки, ген про (англ., protease) кодирует белки протеазы, ген pol (англ., полимераза) кодирует обратную транскриптазу, а ген env (англ., конверт - мембрана ) кодирует гликопротеин gp160.

**Репродукция ВИЧ.** Репродукция ВИЧ аналогична репродукции других ретровирусов, но в отличие от онкогенных ретровирусов ВИЧ может лизировать клетку-хозяина. Клетки с рецепторами CD4 на своей поверхности являются клетками-мишенями для ВИЧ. Вирус преимущественно повреждает Т-лимфоциты, а также макрофаги и дендритные клетки моноцитарного ряда, глиальные клетки нервной ткани и другие клетки. После соединения белков gp120 вируса с рецепторами CD4 на поверхности этих клеток они проникают внутрь клетки.

**Культивация ВИЧ.** ВИЧ культивируют в культуре Т-лимфоцитов периферической крови и культуре моноцитов.

**Типы ВИЧ.** По структуре и антигенным характеристикам выделяют 2 типа вируса - ВИЧ-1 и ВИЧ-2. По разнообразию гена Env ВИЧ-1 подразделяют на три группы (М, N и О). Более распространенная группа M имеет десять генотипов или подтипов (A-J). ВИЧ-2 делится на 5 подтипов (А-Е).

**Устойчивость ВИЧ к факторам окружающей среды.** ВИЧ неустойчив к физическим и химическим факторам окружающей среды. 50% спирт, 0,5% лизол, 0,5% формалин, 0,3% перекись водорода инактивируют вирус в течение 10 минут. 56 С разрушается за 10 мин, а при 100 С - мгновенно. Однако вирус может храниться в высушенном состоянии, в крови неделями, а в донорской крови - годами.

**Пути заражения ВИЧ.**

* Половой:

 При гомо- и гетеросексуальном контакте с ВИЧ-инфицированным человеком;

* Парентеральный:
	+ при переливании ВИЧ-инфицированной крови и ее препаратов;
	+ при использовании контаминированного ВИЧ медицинского инструментария и/или растворов, в том числе, при инъекционном потреблении наркотиков;
	+ при трансплантации органов ВИЧ-инфицированного донора.
* Перинатальный:

 от ВИЧ-инфицированной матери ребенку во время беременности и родов (вертикальный);

* + во время грудного вскармливания (горизонтальный).

**Вероятность передачи ВИЧ-инфекции (ВОЗ)**

|  |  |
| --- | --- |
| **Путь передачи** | **Вероятность передачи, %** |
| **Переливание крови** | **92,5** |
| **Передача ВИЧ от матери ребенку**  | **15 - 30** |
| **Использование общих игл и шприцев для введение наркотиков** | **0,8**  |
| **Анальный половой контакт: пассивный партнер** | **0,5** |
| **Чрезкожный укол иглой**  | **0,3** |
| **Контакт со слизистой**  | **0,1** |
| **Вагинальный половой контакт: женщины**  | **0,15 – 1,01**  |
| **Анальный половой контакт: активный партнер** | **0,065** |
| **Вагинальный половой контакт: мужчины**  | **0,01 - 0,15** |
| **Оральный половой контакт: пассивный партнер** | **0,01** |
| **Оральный половой контакт: активный партнер** | **0,005** |

**Патогенез ВИЧ-инфекции.** На ранних этапах ВИЧ-инфекции важное значение имеет тропизм ВИЧ к клеткам моноцитарно-макрофагальной системы. Размножение ВИЧ в моноцитах/макрофагах, в отличие от хелперных клеток, не приводит к их разрушению. Происходит диссеминация вируса и образуются синтицийобразующие мутанты вируса. Вирус также инфицирует астроциты мозга, эпителий шейки матки, почечный эпителий, эпителий кишечника, эндотелий капилляров мозга, клетки роговицы глаза. На поздних стадиях ВИЧ-инфекции основное значение имеет резкое уменьшение CD4 лимфоцитов - главного фактора патогенеза, что приводит к прогрессирующей иммуннологической недостаточности, т.е. к СПИДу.

**Клиническая классификация ВИЧ-инфекции.** Инкубационный период от момента заражения до клинических проявлений острой инфекции или выработки АТ – от 3 нед до 3 мес. Стадия первичных проявлений (острый ретровирусный синдром) - около года. Субклиническая стадия, медленное развитие иммунодефицита, длит 6-7 лет(асимптоматический период). Стадия вторичных заболеваний, значительный иммунодефицит, заканчивающаяся через 10-12 лет после начала болезни. Терминальная стадия, проявляющаяся необратимым течением вторичных заболеваний (СПИД)

**Клинические проявления ВИЧ-инфекции.** СПИД — заболевание с полиморфными клиническими проявлениями, длительным течением и высокой летальностью, характеризующееся преимущественно поражением иммунной системы. После заражения развитие клинических симптомов, то есть СПИД, может начаться через 10 лет.

* Первичная инфекция сопровождается вирусемией в течение 2-3 мес. В этот период у большинства больных появляются симптомы, схожие с мононуклеозом, значительно снижается количество CD4-лимфоцитов. Ранние признаки инфекции неспецифичны и включают утомляемость, головные боли, тошноту, сыпь и ночную потливость.
* В дальнейшем за счет развития иммунного ответа виремия снижается, количество лимфоцитов CD4 восстанавливается, но вирус сохраняется в инфицированных клетках лимфатических узлов. Этот период может длиться до 10 лет без клинических признаков. Несмотря на это, продолжается активная репликация вируса в клетках-мишенях, особенно в CD4-лимфоцитах, что приводит к манифестной инфекции - СПИДу.

СПИД сопровождается тяжелыми вторичными инфекциями и необычными опухолями (особенно саркомой Капоша) на фоне угнетения иммунной системы. В этот период количество вируса в крови больных достигает максимума. Одним из самых ранних признаков СПИДа у взрослых является хроническая диарея, которая приводит к прогрессирующей потере веса. Слизистые оболочки полости рта, особенно языка, характеризуются волосатой лейкоплакией и белыми пятнами с проявлениями кандидоза, а также лимфаденопатией. После появления клинических симптомов болезнь обычно приводит к летальному исходу в течение 2 лет при отсутствии лечения.

К числу наиболее частых проявлений СПИДа относятся ***оппортунистические инфекции***, вызываемыее различными микроорганизмами - простейшими (Tochoplasma gondii, рода Cryptosporidium), грибами (Pneumocystis jiroveci, Candida albicans, Cryptococcus neoformans), бактериями (Mycobacterium avium-intracellulare, Listeria monocytogenes, Nocardia asteroides), вирусами (цитомегаловирус, вирус простого герпеса, вирус ветряной оспы и др.).

***Злокачественные опухоли.*** Еще одним проявлением угнетения иммунной системы у больных СПИДом являются злокачественные опухоли. Лимфомы, саркома Капоша, лимфома Беркитта, вызываемые преимущественно вирусами, у больных СПИДом встречаются в тысячи раз чаще, чем у остальных людей.

**Диагностика ВИЧ-инфекции.** Диагностика ВИЧ-инфекции проводится в трех основных направлениях:

* Этиологическая диагностика – установление факта инфицированности ВИЧ путем выявления в организме специфических маркеров инфицирования этим вирусом;
* Нозологическая диагностика – выявление признаков развития иммунодефицита, в частности, снижение количества СD4+ клеток в крови;
* Дополнительная диагностика – выявление характерных осложнений ВИЧ-инфекции, в частности, маркеров вторичных инфекций и опухолей.

**Этиологическая (специфическая) диагностика ВИЧ-инфекции.** Методы специфической диагностики ВИЧ-инфекции:

* Серологические – основаны на выявлении в крови антигенов ВИЧ и антител к этим антигенам
* Молекулярно-генетические – основаны на обнаружении в крови и других биожидкостях и тканях фрагментов генома ВИЧ

**ЛЕЧЕНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ.**

* Этиотропная (антиретровирусная) терапия - АРТ
* Патогенетическая терапия
* Лечение оппортунистических и СПИД-ассоциированных заболеваний
* Антиретровирусные препараты. Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ)
	+ механизм действия: аналоги нуклеозидов (“подложный стройматериал”), нуждаются в активации внутри клеток
	+ в настоящее время одобрено 7 препаратов
* Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ)
	+ механизм действия: неконкурентные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ
	+ в настоящее время одобрено 3 препарата
* Ингибиторы протеазы (ИП)
	+ механизм действия: ингибирование протеазы ВИЧ
	+ в настоящее время одобрено 7 препаратов
* Ингибиторы фузии

**Онкогенные вирусы**

Онкогенные вирусы вызывают развитие различных опухолей у животных и человека, вызывая трансформацию нормальных клеток. Этиологическая роль вирусов в онкогенезе, т. е. опухолевой трансформации клеток, впервые была продемонстрирована в 1910 г. П. Раусом на примере куриной саркомы. В 1946 г. Л.А. Зильбер выдвинул вирусогенетическую теорию происхождения опухолей в «Вирусной теории происхождения злокачественных опухолей». Согласно этой теории, интеграция вирусного генома в хромосому клетки-хозяина необходима для опухолевой трансформации клетки.

**Механизм вирусного онкогенеза.** Онкогены (onc-гены) в геноме всех клеток человеческого и животного организмов кодируют белки, обеспечивающие онкогенную трансформацию клетки. В нормальных здоровых клетках эти онкогены неактивны — в протоонкогенной форме. Различные мутагенные факторы - химические факторы, лучи, а также онкогенные вирусы активируют протоонкогены и вызывают онкогенную трансформацию. Включение ДНК-провируса в геном клетки вызывает активацию гена onc, что приводит к трансформации клетки.

* Мутация генов-супрессоров опухолей (анти-онкогенов) в клетках или комбинация или блокада белков, кодируемых этими генами.
* Ген Rb (по-английски ретинобластома) в норме контролирует пролиферацию клеток, и при его мутации наблюдается ретинобластома (опухоль, развивающаяся из сетчатки глаза). Вирусы папилломы человека и вирус SV40 синтезируют белок, который связывает и блокирует белок, кодируемый геном Rb
* Ген р53 кодирует синтез белка-супрессора опухоли (белка р53). Вирусы папилломы человека синтезируют белок, который связывает и блокирует белок р53. Мутация гена р53 наблюдается в опухолевых клетках более чем у половины онкологических больных.

 **Онкогенные ДНК-вирусы**

* **Вирус контагиозного моллюска** из семейства Pox*viridae* вызывает эритематозные узелки на коже лица, шеи, век и половых органов.
* **Семейство герпесвирусов.** Онкогенез у людей был связан с вирусом простого герпеса типа 2 (ВПГ-2), вирусом Эпштейна-Барр (EBV) и вирусом герпеса человека типа 8 (ВИЧ-8).
* **Вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2)** является потенциальной причиной рака шейки матки у женщин.
* **Вирус Эпштейна-Барра (EBV)** связан с лимфомой Беркитта, опухолью, наблюдаемой в области половых органов у детей и подростков в африканских странах.
* Вирус герпеса человека 8 типа - IHV-8, являясь лимфотропным вирусом, вызывает у больных СПИДом саркому Капоши и опухоли сосудов.
* **Семейство аденовирусов.** Некоторые аденовирусы человека вызывают саркому у новорожденных песчанок и трансформируют культуру клеток грызунов. Данных о способности аденовирусов вызывать опухоли у человека нет.
* Семейство ***Hepadnaviridae*** (вирус гепатита В). Вирус гепатита В вызывает первичный рак печени. Опухолевой процесс наблюдается у хронических вирусоносителей.
* Известно более 100 видов вирусов, относящихся к семейству ***Papillomaviridae***, большинство из которых вызывают доброкачественные бородавки, папилломы и кондиломы в области половых органов, слизистых оболочек дыхательных и пищеварительных путей, а также на коже.
* Семейство полиомавирусов включает два вируса, вызывающих заболевания у человека, — ВК-вирус и ***JC-виру***с (вирусы названы по инициалам людей, от которых они были впервые выделены), а также обезьяний вирус (обезьяний вирус-40, SV-40), вызывающий острый вакуолизирующий нефрит у обезьян. ВК- и JC-вирусы кодируют Т-антиген (лат.tum, опухоль) и вызывают онкогенную трансформацию в клетках грызунов, а также опухоли у новорожденных мышей.

**РНК-содержащие онкогенные вирусы** относятся к семейству *Retroviridae*. Большинство представителей 7 родов, входящих в это семейство, обладают онкогенными свойствами. РНК-онкогенные вирусы представляют собой вирусы со сложной структурой. Вирионы состоят из ядра, окруженного липопротеиновой мембраной с выступами. По величине и форме выпячиваний, а также локализации ядра вирусы делятся на 3 морфологических типа - типы В, С и D. Большинство онкогенных вирусов относятся к типу С. Этот тип распространен среди рыб, рептилий, птиц, млекопитающих, в том числе человека. Вирусы типа B вызывают рак молочной железы у мышей. Некоторые онковирусы обезьян, а также вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) относятся к типу D.

Семейство *Retroviridae* включает около 150 типов вирусов, вызывающих опухоли у животных, из которых только 4 типа вызывают опухоли у человека: HTLV-1, HTLV-2, ВИЧ-1, ВИЧ-2. Т-лимфотропные вирусы человека (Human T-lymphotropic virus, HTLV) относятся к роду Deltaretrovirus семейства Retroviridae. Доказана этиологическая роль этих вирусов, повреждающих преимущественно CD4-лимфоциты, в опухолевых процессах у человека. Из этих вирусов HTLV-1 вызывает Т-клеточный лейкоз, а HTLV-2 вызывает волосатоклеточный лейкоз. Оба вируса передаются трансфузионным и трансплацентарным путями. Заболевания, вызываемые этими вирусами, заканчиваются медленным развитием (скрытый период до 20 лет) и летальным исходом. Патогенез и течение инфекции напоминают ВИЧ-инфекцию, так как при этой инфекции также повреждается иммунная система. Возможно определение антител к вирусам в сыворотке крови больных.

**Медленные вирусные инфекции.** Некоторые хронические дегенеративные заболевания центральной нервной системы, длящиеся медленно (годами), вызываются классическими вирусами. Например, вирус кори иногда вызывает YSPE, вирус эпидемического паротита вызывает прогрессирующий паротитный панэнцефалит и т. д. Некоторые из этих заболеваний (например, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, туберкулез и др.) вызываются необычными инфекционными агентами — прионами. Латентный период указанных заболеваний необычайно длительный, обычно длится месяцы или годы, непрерывно прогрессирует и обязательно приводит к летальному исходу.

**Возбудители медленных вирусных инфекций.** Медленные вирусные инфекции у человека вызывают вирусы кори, эпидемического паротита, JC-вирус из семейства Poliomaviridae и др. К возбудителям типичной медленной вирусной инфекции у животных относятся вирусы Visna и Maedi, принадлежащие к роду Lentivirus семейства Retroviridae. Вирус висны заражает геном клеток в виде ДНК-провируса в виде интеграции. Болезнь поражает все внутренние органы овец, патологические изменения возникают особенно в головном мозге, легких и ретикулоэндотелиальной системе. Заболевания, подобные медленным вирусным инфекциям, также вызываются прионами.

CELLULAR PRION PROTEIN

Клеточная нормальная изоформа прионного белка с м.м 35 кДа детерминируется геном на 20-ой хромосоме. Нормальный PrP c  заякорен в мембране, чувствителен к протеазе. Регулирует передачу нервных импульсов, суточные циклы, процессы окисления, участвует в метаболизме меди в ЦНС и регуляции деления стволовых клеток костного мозга. Обнаруживается в селезенке, ЛУ, коже, ЖКТ и фолликулярных дендритных клетках

SCRAPIE PRION PROTEIN

Патологические измененные изоформы прионного белка. Устойчивы к протеолизу, излучениям, высокой температуре, формальдегиду, не вызывает воспаления и иммунного ответа. Гидрофобный глобулярный белок способный образовывать агрегаты с PrP c на поверхности клетки и в результате превращаться PrP sc. Патологическая форма накапливается в нейронах, вызывает амилоидоз, астроцитоз. Образуются фибриллы, агрегаты белка, амилоидные бляшки и губкообразные изменения мозга.

ПРИОННЫЕ ИНФЕКЦИИ

ГРУППА ПРОГРЕССИРУЮЩИХ НАРУШЕНИЙ ЦНС ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ, СИМПТОМЫ КОТОРЫХ ПРОДОЛЖАЮТСЯ ОТ НЕСКОЛЬКИХ МЕСЯЦЕВ ДО НЕСКОЛЬКИХ ЛЕТ. ЗАКАНЧИВАЮТСЯ ЛЕТАЛЬНО.

Передаются

* Алиментарным
* Гемотрансфузионным
* Через иммунобиологические препараты

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Типы** | **Клинический синдром** | **причина возникновения** |
|  **Приобретенные инфекционные****наследственные семейные** | **куру** | **Ритуальный каннибализм** |
| **Ятрогенная БКЯ** | **Инфицирование внутримозговым электродом, пересадка мозговой оболочки** |
| **Новый вариант БКЯ** | **Инфицирование от зараженных ГЭ животных** |
| **Синдром Герстманна-Штреусслера** | **Мутации в гене *PrP c*** |
| **Наследственная смертельная бессонница** | **Мутации в гене *PrP c*** |
| **Наследственная БКЯ** | **Мутации в гене *PrP c*** |
| **спорадические** | **Спорадическая наследственная бессонница****Спорадическая БКЯ** | **Спонтанная конверсия нормального** ***PrP c* в патологический**  ***PrP sc*****или соматическая мутация** |

Куру – прионная болезнь распространенная среди папуасов. Передается пищевым путем в результате ритуального каннибализма. Сопровождается поражениями ЦНС – нарушение движений, походки, ознобом и эйфорией. Через год больной погибает

Синдром ГШШ –наследственное прионное заболевание, протекает с деменцией, гипотонией, нарушением глотания, дизартрией. Нередко носит семейный характер. Инк.период от 5 до 30 лет. Может продолжаться от 5 до 13 лет

БКЯ –передается алиментарно (мясо, мозг больных коров ); при трансплантации тканей, медицинских манипуляциях, использовании плохо простерилизованных инструментов. Протекает в виде деменции, зрительных и мозжечковых нарушений и двигательных расстройств. Смерть наступает через 4-5 месяцев ( при классическом варианте), более чем через год ( при новой варианте БКЯ)

Скрепи – прионная болезнь овец и коз ( чесотка) протекает с поражением ЦНС, нарушением движений, сильным зудом и заканчивается гибелью животного

Губкообразная энцефалопатия КРС характеризуется поражением ЦНС, нарушением координации движения и гибелью. Инкубационный период от 1.5 до 15 лет. Наиболее инфицированы головной, спинной мозг и глазные яблоки

Наследственная смертельная инсомния – аутосомно-доминантное прогрессирующее заболевание с бессонницей, гиперреактивностью, тремором, атаксией, миоклониями, галлюцинациями, нарушениями сна. Смерть происходит от СС недостаточности

**Диагностика основана на:**

* **Губкообразных поражениях мозга**
* **Отсутствие инфильтратов ( воспаления)**
* **Окраска биоптатов на амилоид**
* **С помощью ИФА, ИБ обнаружение белковых маркеров в СМЖ**
* **ПЦР**

**Профилактика.**

* Для обезвреживания инструментов :
* Автоклавирование при 135° С 18 минут; при 121°С 1 час)
* Сжигание
* Обработка отбеливателем и раствором *NaOH*
* Введение ограничения на использование препаратов животного происхождения
* Запрещено производство гормонов гипофиза животного происхождения
* Ограничение трансплантации твердой мозговой оболочки
* Использование резиновых перчаток при работе с биологическим жидкостями