

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА

Вирусы представляют собой наименьшие по размерам инфекционные агенты. Они гораздо меньше бактерий, и могут быть видны только под электронным микроскопом. Вирусы состоят из молекул нуклеиновой кислоты – ДНК или РНК, окруженных множеством белковых молекул. В зависимости от типа нуклеиновой кислоты, вирусы принято подразделять на ДНК-вирусы и РНК-вирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) относится к РНК-вирусам или так называемым ретровирусам.

Вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами. Это означает, что для размножения они должны проникнуть в клетку хозяина, встроиться в ее генетическую структуру и запустить механизмы воспроизводства новых вирусных частиц. Этот процесс называется вирусной репликацией. Особенностью вируса ВИЧ является то, что для паразитирования он выбирает лимфоциты, то есть те клетки, которые призваны защищаться от вирусной инфекции. Другой особенностью является то, что для встраивания в геном лимфоцита вирус ВИЧ должен вначале превратить свою молекулу РНК в молекулу ДНК, а затем встроить ее в геном лимфоцита. Эти процессы носят название обратной транскрипции и интеграции, и блокирование их составляет основу современной антиретровирусной терапии.

Паразитическая природа вирусов объясняется тем, что, в отличие от бактерий, они лишены важнейших элементов, необходимых для жизнедеятельности, таких, как рибосомы и ферменты, необходимые для синтеза белков, липидов и углеводов. По этой причине, они вынуждены внедряться в клетки инфицированного хозяина и использовать его ресурсы.

Аналогично многим другим вирусам, молекула РНК вируса ВИЧ помещена в капсулу или конверт (envelope), который состоит из множества так называемых структурных белков. Помимо структурных белков, вирусная частица содержит множество так называемых регуляторных белков, которые помогают вирусу встраиваться в геном клетки, размножаться и формировать новые вирусные частицы. Как структурные, так и регуляторные белки можно обнаружить при помощи специального биохимического метода, называемого иммуноблотом, который позволяет поставить окончательный диагноз ВИЧ-инфекции.

Углубленные исследования молекулярной структуры вируса позволили установить, что, помимо двух основных разновидностей – ВИЧ-1 и ВИЧ-2, существует значительное множество молекулярных разновидностей вируса, которые обозначаются буквами латинского алфавита (А, В, С). Кроме того, существуют смешанные (так называемые рекомбинантные) разновидности вируса. Знание этих разновидностей будет, вероятно, иметь большое значение при разработке вакцин и методов целенаправленной терапии ВИЧ-инфекции.

Для того, чтобы внедриться внутрь иммунных клеток, вирус ВИЧ должен связаться с рецептором CD4 и другой вспомогательной молекулой, называемой ко-рецептором. К настоящему времени идентифицировано два таких ко-рецептора: CXCR4 и CCR5 (см.

ниже). После связывания с рецепторами иммунных клеток, вирус внедряется внутрь клеток и претерпевает ряд изменений, ведущих к воспроизводству новых вирусных частиц. Этот процесс характеризуется как жизненный цикл вируса.

## 5.1 История изучения вируса иммунодефицита человека

Считается, что вирус иммунодефицита человека произошел в результате мутации другого вируса, патогенного для шимпанзе рода *Pan troglodytes troglodytes* из резервуара в Центральной Африке. Это произошло приблизительно в 1930-х годах (Korber, Muldoon, Theiler, et al., 2000; Gao, Balles, Robertson, et al., 1999). Имеются свидетельства того, что впервые инфицирование человека вирусом ВИЧ произошло в 1959 году в Демократической Республике Конго (Vidal, Peeters, Mulanga-Kabeya, et al., 2000). По крайней мере, наиболее старый (1959 г.) образец крови, в котором был обнаружен вирус, имеет отношение к представителю племени Банту из Конго (Zhu et al. 1998). Однако, до появления первых клинических случаев синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИДа), данный вирус долгое время оставался неизвестным.

ВИЧ/СПИД был впервые установлен в 1981 году в ассоциации с необычной пневмонией, вызываемой *Pneumocystis carinii* и саркомой Капоши, обнаруженной среди молодых, ранее здоровых мужчин гомосексуалистов из Нью-Йорка, Лос-Анджелеса и Сан-Франциско. (Centers for Disease Control and Prevention 1981a, 1981b). В последующем были установлены другие аналогичные случаи среди больных с гемофилией и частыми переливаниями крови, а также у лиц, потребляющих инъекционные наркотики и их половых партнеров. Уже в то время ряд оснований позволил предположить, что обнаруженный синдром обусловлен инфекционным агентом, который определенным образом поражает иммунную систему. На основе эпидемиологических и лабораторных характеристик, была обнаружена взаимосвязь между иммуносупрессией, вызванной истощением лимфоцитов, несущих маркер CD4<sup>+</sup>, и вероятным этиологическим фактором – новым типом ретровирусов человека (Masur, Michelis, Greene, et al, 1981; Gottlieb, Schroff, Schanker, et al, 1981; Durack, 1981).

Следует отметить, что лишь за десятилетие до этого было введено понятие ретровирусологии. Это было связано с открытием обратной транскриптазы и новых видов человеческих ретровирусов, вызывающих Т-клеточную лимфому – вирусов I и II типов, открытых в 1980 и 1982 годах, соответственно (Kalyanaraman, Sarngadharan, Robert-Guroff, et al., 1982; Poiesz, Ruscetti, Reitz, et al. 1988).

К концу 1983 года был установлен, выделен и описан третий тип ретровирусов человека – вирус иммунодефицита человека I типа (ВИЧ-1). Первооткрывателями вируса ВИЧ считаются американский ученый Роберт Галло из Национальных институтов здоровья США и французский исследователь Люк Монтенье из Института Пастера в Париже. (Barre-Sinoussi, Chermann, Rey, et al. 1983; Gallo, Salahuddin, Popovic, et al. 1984; Popovic, Sarngadharan, Read, et al. 1984; Schupbach, Popovic, Gilden, et al. 1984; Sarngadharan, Popovic, Bruch, et al. 1984; Mitsuya, Weinhold, Furman, et al. 1985; Gallo, Montagnier, 1988).

История открытия вируса американским исследователем Робертом Галло и французом Люком Монтенье заслуживает особенного внимания. Длительное время являвшиеся соперниками, оспаривавшими пальму первенства в открытии вируса ВИЧ, эти два замечательных ученых в декабре 2003 года опубликовали совместную статью

в *New England Journal of Medicine*, ознаменовавшую долгожданный консенсус в этом важном вопросе (Gallo, Montagnier, 2003). Как указывают авторы, история открытия вируса фактически началась в 1970-е годы, когда большинство людей верили в то, что инфекционные болезни, вызываемые бактериями и вирусами, более не представляют угрозу индустриально развитым странам. В то время, также, не верили в вероятность вирусной природы рака, и что ретровирусы способны инфицировать людей.

В таких условиях заниматься вопросом поиска ретровирусов в опухолевых клетках считалось ересью. К таким группам «еретиков» относились лаборатории Галло и Монтенье. Признание пришло лишь после того, как были открыты ретровирусы, вызывающие Т-клеточную лимфому у человека - вирусы HTLV-1 и HTLV-2. Это открытие стало возможным в результате более 15 лет фундаментальных исследований ретровирусов у животных, с которыми была связана разработка чувствительных биохимических методов изучения обратной транскриптазы – фермента, обнаруживаемого в ретровирусах.

Другим важным направлением, способствовавшим данному открытию, стала разработка методов культивирования Т-лимфоцитов. В результате данной разработки стало возможным изучение факторов роста Т-лимфоцитов, называемых интерлейкинами. Впоследствии была продемонстрирована роль интерферона в развитии ретровирусов. Таким образом, к началу 1980-х годов ученые располагали достаточно обширным набором методов, который позволил детально изучать ретровирусы, ассоциированные со СПИДом у человека.

В то время было уже известно, что СПИД - это продолжительная болезнь, с длительным инкубационным периодом, тяжелыми иммунными нарушениями и оппортунистическими инфекциями. Было множество предположений относительно этиологических факторов, включая грибки, химические агенты и даже аутоиммунные реакции. Однако ученые, работавшие в области ретровирусологии, были убеждены в том, что причина СПИДа связана с ретровирусами. Этому был ряд оснований. Во-первых, важнейшим проявлением СПИДа является значительное уменьшение уровня субпопуляций Т-лимфоцитов, которые несли на себе CD4-антиген<sup>1</sup>. Было установлено, что мишенью для вируса являются Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности CD4-антиген. Таким уникальным свойством могли обладать только лимфотропные ретровирусы, а именно вирус HTLV, который, как было показано, переносится через кровь и слизистые гениталий при половых контактах. Все это, в достаточной степени, совпадало с эпидемиологической характеристикой СПИДа. Наконец, Американские центры по контролю заболеваний опубликовали случаи заболеваний СПИДом у больных с гемофилией, получавших отфильтрованную сыворотку крови. Это говорило о том, что этиологическим фактором мог быть только микроорганизм размером не более вирусных частиц.

Все это дало старт интенсивным поискам вируса группы HTLV в биологических материалах, полученных у больных СПИДом. Эти исследования были, в основном, сконцентрированы в Национальных институтах здоровья США и в Институте Пастера в Париже. В начале 1983 года ученым в Париже удалось выделить вирус из лимфоузла пациента с лимфаденопатией. Для этого потребовалось культивировать Т-лимфоциты, выделенные из лимфоузлов, и воздействовать на них интерлейкином-2 и

---

<sup>1</sup> CD-антигены, или антигены кластерной дифференциации, были открыты незадолго до этого, благодаря моноклональным антителам, разработанным Колером и Милштейном. Указанные исследователи впоследствии получили Нобелевскую премию за это открытие.

антиинтерфероновой сывороткой. Было показано, что выделенный вирус существенно отличался от вирусов группы HTLV по антигенным свойствам и морфологии.

Технологический прорыв произошел в конце 1983 года, когда исследователям из Национальных институтов здоровья в США удалось выделить вирус из клеточной линии, полученной от больного Саркомой Капоши, находившегося в Институте Пастера в Париже. Вирус, выделенный таким образом, обладал интенсивным потенциалом роста и способностью быстро заражать другие клеточные линии. Стало ясным, что именно этот вирус является этиологической причиной СПИДа. Однако, детальная характеристика выделенного вируса стала доступной только лишь в 1991 году, в результате использования нового для того времени метода полимеразной цепной реакции.

Год 1984-й стал годом интенсивных научных изысканий в США и Франции. Идентификация вируса, вызывающего СПИД, представляла определенные сложности ввиду того, что данная болезнь характеризовалась длительным инкубационным периодом, поэтому было затруднительным четко установить причинно-следственные связи. Кроме того, больные СПИДом обладали множеством других оппортунистических инфекций, включая, в том числе, те, которые вызываются вирусами. Все это потребовало выделения вирусов от большого числа больных с синдроматикой СПИДа. В 1985 году были получены убедительные доказательства связи СПИДа с инфекцией, вызываемой вирусом ВИЧ. Клонирование вируса показало, что он принадлежит к семейству лентитретровирусов. Вскоре после этого удалось установить уникальные характеристики вируса и разработать первую диагностическую тест-систему.

Непрямыми доказательствами того, что вирус ВИЧ вызывает СПИД, стало своеобразное свойство этого вируса селективно поражать CD4+ Т лимфоциты, а также систематическое выделение данного вируса от больных с различными формами и стадиями СПИДа. Важным подтверждением стала клиническая эффективность лекарственных препаратов, которые селективно подавляют ферменты вируса ВИЧ. Кроме того, было показано, что мутации одного из корцепторов вируса ВИЧ (CCR5) ведут к развитию лекарственноустойчивых форм заболевания. Позднее, в Западной Африке был открыт вирус ВИЧ второго типа, и мировое научное сообщество окончательно приняло доказательства этиологической природы СПИДа, связанной с вирусом ВИЧ.

Данная история стала наглядным примером исключительной важности международного сотрудничества в решении важнейших задач здравоохранения. Важно отметить, что открытие вируса явилось лишь альфой, но не омегой в решении вопросов, связанных с данным заболеванием. Многие еще предстоит сделать для того, чтобы разработать эффективные методы лечения СПИДа. Однако открытие Роберта Галло и Люка Монтенье заложило начало интенсивным научным изысканиям, связанным с разработкой эффективных методов диагностики, терапии и профилактики ВИЧ-инфекции. Эти исследования потребовали колоссального объема финансирования, которое было обеспечено как на государственном уровне, например, через Национальные институты здоровья США, так и частном – за счет инвестиций фармацевтических компаний.

Благодаря такой финансовой поддержке и эффективным научным разработкам, за достаточно короткий промежуток времени удалось понять динамику вирусного процесса, включая репликацию и распространение вируса, а также выяснить

механизмы развития синдрома иммунодефицита и иммунного ответа на вирусную репликацию. Важнейшим достижением стало выяснение пространственной структуры поверхностных вирусных белков, а также механизмов инфицирования Т-лимфоцитов, которое, как сейчас стало ясным, происходит благодаря использованию двойной рецепторной системы – молекул CD4 и одного из так называемых хемокиновых рецепторов.

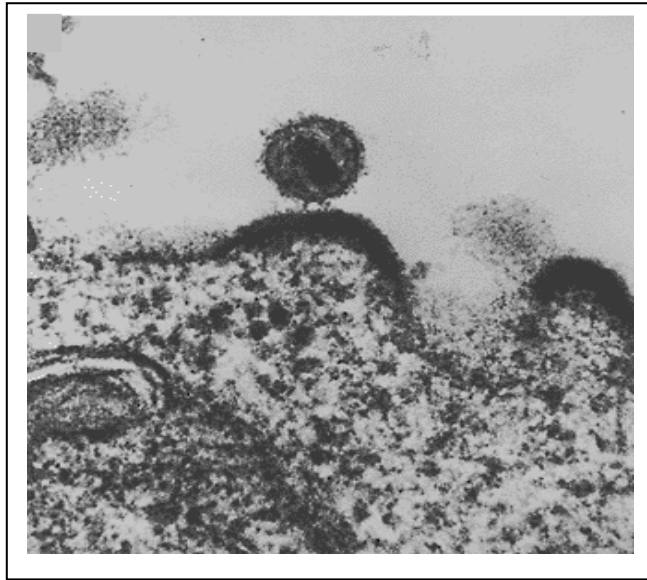
Современная ретровирусология является наиболее динамично и быстро развивающейся отраслью биомедицины. Так получилось, что она, в основном, занимается изучением вируса ВИЧ-1 и ассоциированных с вирусом клинических синдромов. В сравнении с любым другим вирусом, молекулярная и клеточная биология вируса ВИЧ оказалась изученной в наибольшей степени. Однако, несмотря на такое внимание, пока не удалось создать эффективных методов лечения, вакцинации и восстановления иммунной системы.

## **5.2 Структура вируса ВИЧ**

Ретровирусы представляют собой достаточно широкое семейство заключенных в оболочку («конверт») вирусов, основным принципом репликации которых является транскрипция РНК вириона в линейную двойную цепь ДНК, которая в последующем интегрируется в геном клетки – хозяина. Ферментом, ответственным за данный процесс, является РНК-зависимая-ДНК-полимераза. Данный фермент обеспечивает обратный поток генетической информации – от РНК к ДНК, а не наоборот, как это обычно происходит согласно основному постулату генетики: ДНК-РНК-белок. РНК-зависимую-ДНК-полимеразу иначе называют обратной транскриптазой.

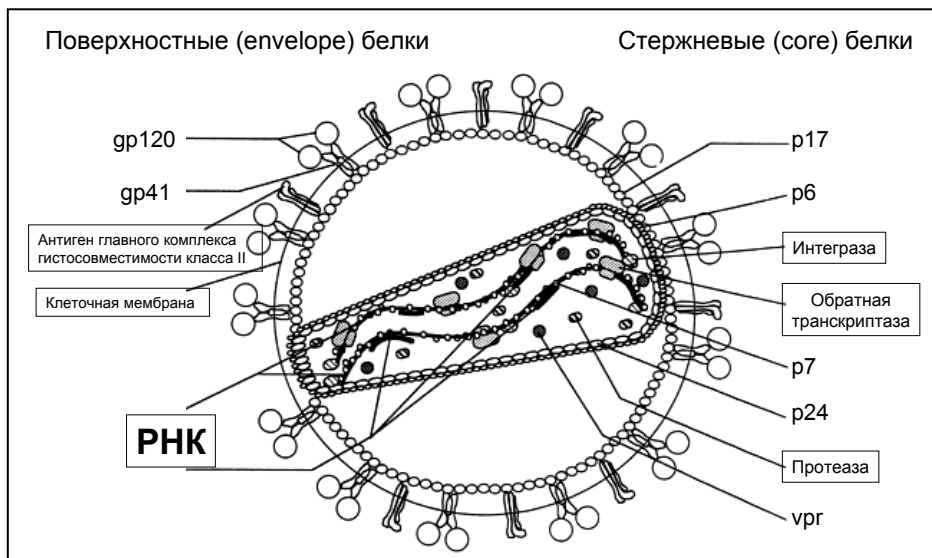
Существует две основные разновидности вируса ВИЧ - ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Обе они относятся к ретровирусам и содержат две одноцепочечные молекулы РНК, которые под влиянием обратной транскриптазы способны превращаться в ДНК и внедряться в геном Т-лимфоцитов. Результатом данного процесса является гибель Т-лимфоцита. При гибели значительного количества Т-лимфоцитов развивается синдром иммунодефицита.

Методом электронной микроскопии было установлено, что вирион ВИЧ имеет округлую форму и содержит 72 наружных выступа, обусловленных наличием наружных белков gp120 и трансмембранных белков gp41. Сам вирион выступает на поверхности инфицированного лимфоцита в виде бугорка и способен внедрять в клетку множество собственных белков, включая, также, и антигены гистосовместимости I и II классов. (рисунок 5.1). Вирусная мембрана богата холестерином и содержит интегрированные мембранные белки (Arthur, Bess, Sowder, et al., 1992)



**Рисунок 5.1.** Электронная микроскопия вируса иммунодефицита человека на поверхности CD4+ Т-лимфоцита (Займствовано из RC Gallo. *The human immunodeficiency virus*. Sci Am, January 1987).

Как видно из рисунка 5.2а, зрелый вирион ВИЧ содержит две молекулы одноцепочечной РНК, окруженные белками, составляющими сердцевину (core) вируса – р17, р18, р24 и р7. На поверхности вириона содержатся белки gp120 и gp 41. Белок gp120 является ключевым в обеспечении связывания вируса с рецептором Т-лимфоцита. Кроме указанных белков, вирион содержит множество других, так называемых регуляторных белков, ответственных за регуляцию репликации и интеграции вируса (см. ниже).



**Рисунок 5.2 а:** Схематическое изображение структуры вируса ВИЧ.

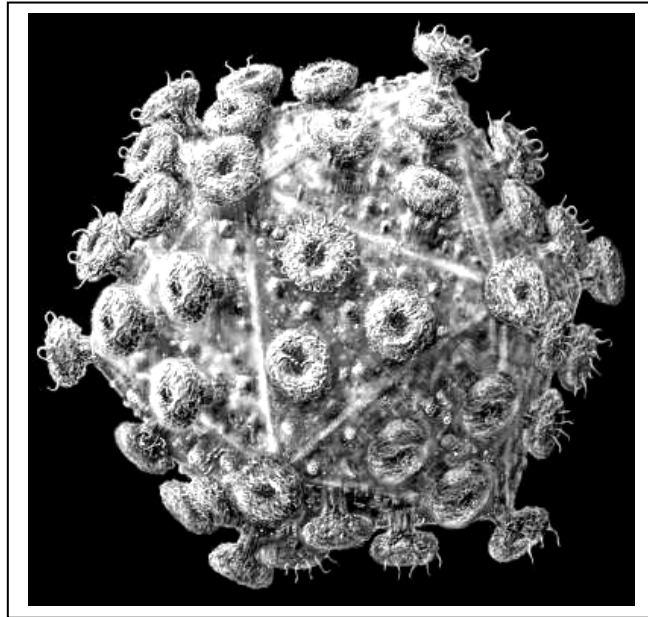
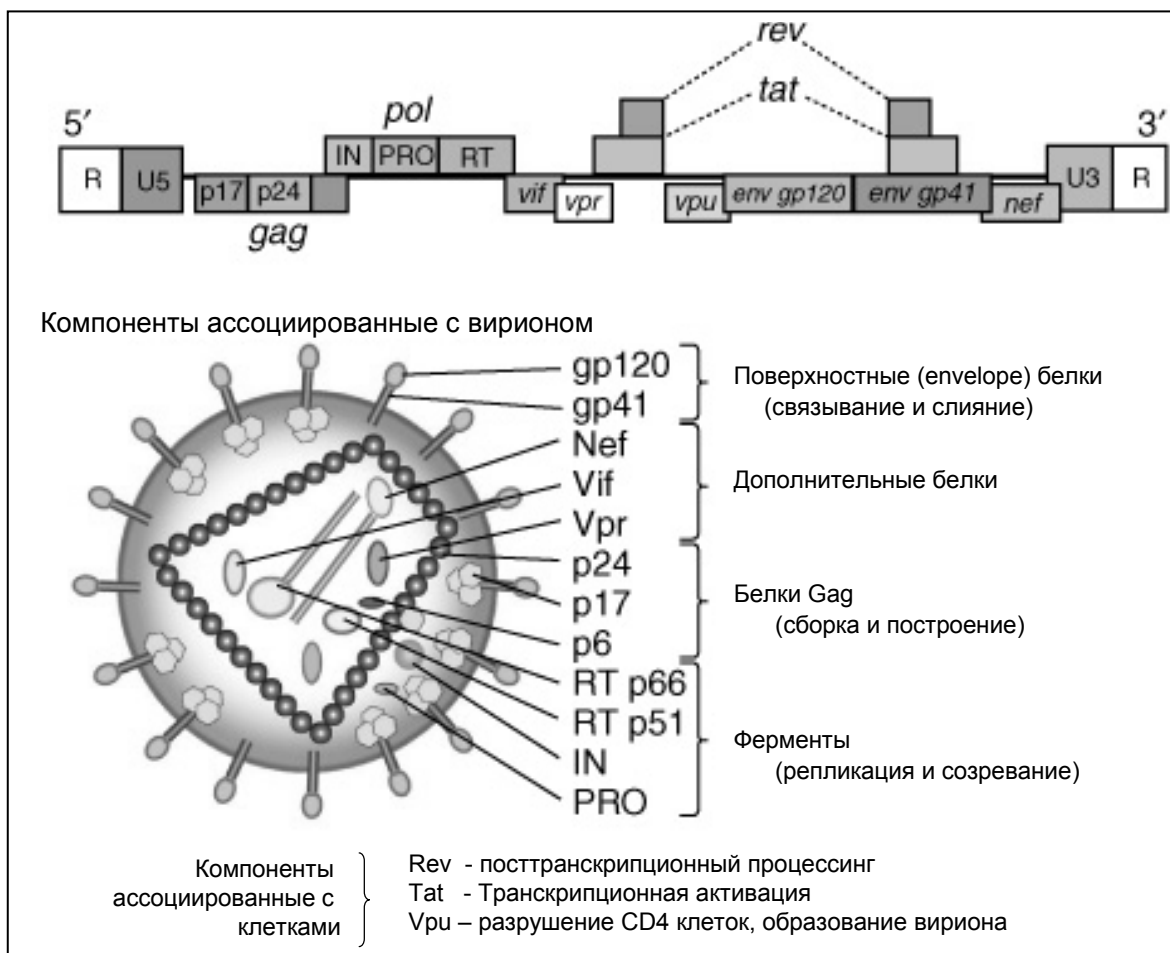


Рисунок 5.2 b: Модель пространственной структуры вируса ВИЧ.  
Займствовано из: Russell Kightley Media,  
[www.rkm.com.au/biograph.html](http://www.rkm.com.au/biograph.html)

### 5.3 Генوم вируса ВИЧ

Аналогично другим ретровирусам, молекула ВИЧ-1 содержит гены, ответственные за кодирование структурных белков вируса (см. рис 5.3). В таблицах 5.1 и 5.2 представлено описание отдельных генов ВИЧ и вирусных белков, кодируемых данными генами. К ним относятся: *gag* - ответственный за кодирование белка p24, формирующего сердцевину вируса (core proteins); *pol*, обеспечивающий кодирование ферментов, осуществляющих процессы обратной транскрипции и интеграции вируса, и *env*, кодирующий поверхностные или «конверточные» (envelope) гликопротеины.

Помимо этого, вирус ВИЧ-1 содержит множество других генов, таких, как *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* и *vri*, кодирующих белки, участвующие в регуляции генетической экспрессии вируса. По краям этих генов содержатся так называемые длинные терминальные повторения (long terminal repeats -LTRs), представляющие собой важные элементы регуляции генетической экспрессии вируса. К ним относятся такие элементы, как последовательность полиаденилового сигнала, последовательность промоторов ТАТА, усилители NF-kB и SP1, последовательность трансактивирующего ответа (transactivating response sequences – TAR) – место связывания белка *tat*, а также элемент отрицательного регулирования (negative regulatory element - NRE), удаление которого ведет к усилению генетической экспрессии. Основными отличиям генома ВИЧ-1 от генома ВИЧ-2 являются отсутствие гена *vri* и присутствие гена *vpx* у ВИЧ-2; последнего гена нет у ВИЧ-1.



**Рисунок 5.3. Генетическая организация вируса ВИЧ-1. Геном вируса содержит гены, ответственные за синтез белков, выполняющих структурные, ферментативные и регуляторные функции. *Заимствовано из Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Sixth Edition, 2005, рисунок 115-1, стр. 1507, Elsevier Inc.***

**Таблица 5.1. Структурные гены вируса ВИЧ и их функции**

Ген	Продукт(ы)	Функция
gag	Групп-специфичные антигены	Структурные белки:
	p24	капсидный белок
	p7p9	стержневой нуклеокапсидный белок
	p18	матричный белок (стабилизирует капсулу)
pol	обратная транскриптаза	продуцирует dsДНК провирус
	интеграза	обеспечивает интеграцию dsДНК провируса в клеточную ДНК
	протеаза	расщепляет полипротеин
env	gp120	поверхностный белок, связывающийся с CD4 рецептором лимфоцитов
	gp41	трансмембранный белок, ответственный за клеточное слияние



**Таблица 5.2. Регуляторные гены вируса ВИЧ**

Ген	Продукт(ы)	Функция
LTR (U3 U5)	нуклеотидные повторения терминальных участков ДНК	интеграция и экспрессия вирусных генов
tat	трансактивационный белок	трансактиватор транскрипции (усиливает транскрипцию)
rev	регуляторный белок вириона	усиливает транспорт вирусных генов в цитоплазму
nef	регуляторный фактор	подавляет транскрипцию

#### 5.4 Молекулярная гетерогенность вируса иммунодефицита человека

Вирусы ВИЧ-1 и ВИЧ-2 на 40-60% сходны друг с другом (гомологичны) по типу белков, которые они кодируют (Gurtler, 1996). В отличие от ВИЧ-1, молекулярно-генетическая характеристика ВИЧ-2 недостаточно изучена, что, вероятно, связано с его меньшей эпидемиологической значимостью. Разновидность ВИЧ-2 была впервые обнаружена в 1986 году в Западной Африке, и впоследствии ее распространенность была установлена в Европе, Южной Америке, Канаде и Соединенных Штатах.

##### Подтипы и рекомбинантные формы ВИЧ-1

Молекулярная структура и гетерогенность вируса ВИЧ-1 в настоящее время является предметом углубленного изучения множеством лабораторий мира. Считается, что лучшее понимание молекулярной гетерогенности данного вируса является исключительно важным для разработки эффективных методов антиретровирусной терапии и целенаправленной вакцинации.

ВИЧ-1 подразделяется на три типа - М (major - основной), О (outlier - посторонний) и N (non-M, non-O) (Robertson, Anderson, Bradac, et al., 1999). Тип М несет основную ответственность за распространение ВИЧ в мире, в то время как тип О встречается редко – в основном, в таких африканских странах, как Камерун, Габон, а также во Франции. Но даже там эти разновидности встречаются в незначительном числе. Что же касается типа N, лишь несколько случаев инфекции, вызванной данным типом, было обнаружено в Камеруне (Thomson, Pérez-Álvarez, Nájera, 2002).

Вирус ВИЧ-1 в дальнейшем подразделяется на 10 различных подтипов, обозначаемых буквами латинского алфавита: А–D, F–H, J, и K. Подтипы вируса различаются между собой в зависимости от нуклеотидной последовательности генов *env* (30 процентов) и генов *gag* (14 процентов). Следует отметить, что внутри подтипов А и F выделяются дополнительные разновидности, обозначаемые, как А1 и А2, а также F1 и F2. Считается, что указанные разновидности филогенетически тесно взаимосвязаны. (Thomson, Delgad, Manjón, et al., 2001; Delgado, Thomson, Villahermosa, et al., 2002; Esteves, Parreira, Venenno, et al., 2002).

Как видно из рисунка 5.4, основные типы вируса ВИЧ – М, О и N, вероятнее всего, произошли в результате независимой мутации аналогичных разновидностей вируса иммунодефицита обезьян (SIV - simian immunodeficiency virus), а не за счет

разветвления одной из разновидностей, скажем, типа М (Gao, Balles, Robertson, et al., 1999).

Анализ нуклеотидной последовательности вируса с помощью молекулярного секвестрирования позволил установить наличие так называемых рекомбинантных форм, которые произошли в результате множественного инфицирования двумя или более подтипами вируса, например, подтипами А и В, или В и С. Такие рекомбинантные формы вируса обозначаются, как циркулирующие рекомбинантные формы - CRFs (circulating recombinant forms) (Robertson, Anderson, Bradac, et al., 1999; Peeters, 2000).

Первые рекомбинантные вирусы были описаны в Таиланде и Центральной Африке. Всего к настоящему времени (октябрь 2006 г.) известно 34 рекомбинантные формы, которые обозначаются цифрами, в зависимости от времени их обнаружения, а также буквами, соответствующими родительским подтипам. Примерами обозначений рекомбинантных форм являются: CRF02\_AG или CRF03\_AB (HIV Sequence Database. Los Alamos National Laboratory NM. <http://hiv-web.lanl.gov>).

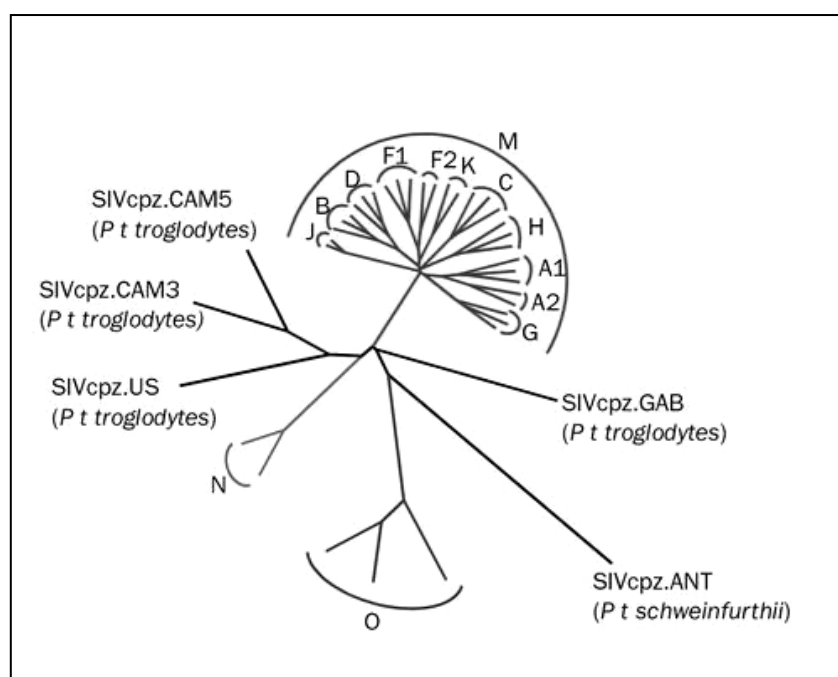


Рисунок 5.4. Филогенетическое распределение М, О и N типов, а также подтипов вируса иммунодефицита человека, по отношению к распределению основных типов вируса иммунодефицита обезьян (SIV - simian immunodeficiency virus) (заимствовано из Thomson , Pérez-Álvarez, and Nájera, The Lancet, 2002)

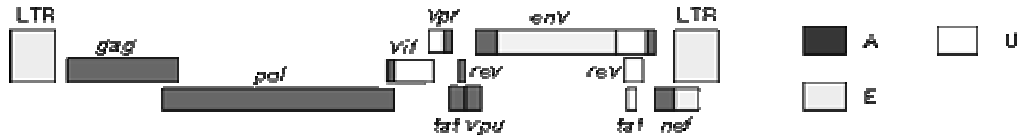
Большинство рекомбинантных форм имеют происхождение из Африки, за исключением пяти, недавно обнаруженных в Юго-Восточной Азии и Латинской Америке. Следует ожидать, что число рекомбинантных форм вируса будет, вероятно, увеличиваться. Причем, эти рекомбинантные формы приобретают все большую значимость в эпидемиологии ВИЧ-инфекции, составляя около 18 процентов новых случаев ВИЧ за последние годы (WHO-UNAIDS, 2000).

Ниже представлено описание и мозаичная генетическая структура рекомбинантных форм вируса ВИЧ, в наибольшей степени изученных на сегодняшний день. Структуру можно анализировать на основе информации, представленной выше, на рисунке 5.3. и в таблице 5.1. Как указывалось выше, база данных по рекомбинантным формам

постоянно пополняется, и спустя некоторое время возможны существенные изменения в общей мозаике генетического разнообразия вируса ВИЧ.

---

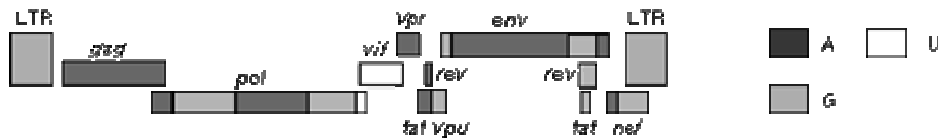
Рекомбинантная форма: **CRF01\_AE**      Разновидность: [CM240](#)      Подтип: **A, E**



CRF01\_AE (разновидность CM240) представляет собой рекомбинантную форму вируса подтипа A/E, которая получила распространение в азиатских странах, но имеет происхождение в Центральной Африке. Первые публикации: Murphy et al. 1993; Carr et al. 1996; Gao et al. 1996.

---

Рекомбинантная форма: **CRF02\_AG**      Разновидность: [IbNG](#)      Подтип: **A, G**



CRF02\_AG представляет собой рекомбинантную форму вируса подтипа A/G, которая получила распространение в западной и Центральной Африке (Howard and Rasheed 1996; Carr et al. 1998). Любопытно, что данная рекомбинантная форма была недавно обнаружена в Тайване, а также среди потребителей инъекционных наркотиков в Узбекистане и Таджикистане (Chris Veuger, февраль 2005, личная переписка).

---

Рекомбинантная форма: **CRF03\_AB**      Разновидность: [Kal153](#)      Подтип: **A, B**



CRF03\_AB представляет собой рекомбинантную форму вируса подтипа A/B, которая была впервые изолирована в Калининграде и получила распространение среди потребителей инъекционных наркотиков в России и в Украине (Liitsola et al. 1998; Lukashov 1999).

---

---

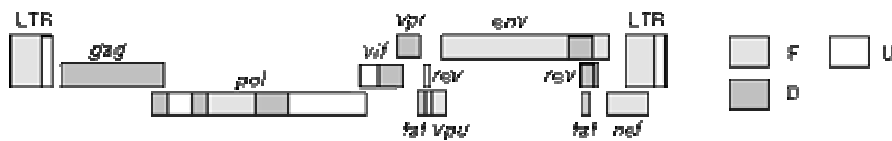
Рекомбинантная форма: **CRF04\_crx**      Разновидность: [94CY032](#)      Подтип: **A, G, H, K, U**



CRF04\_crx (разновидность 94CY032) относят к рекомбинантной форме, распространенной среди греков и киприотов (Gao et al. 1998; Nasioulas et al. 1999).

---

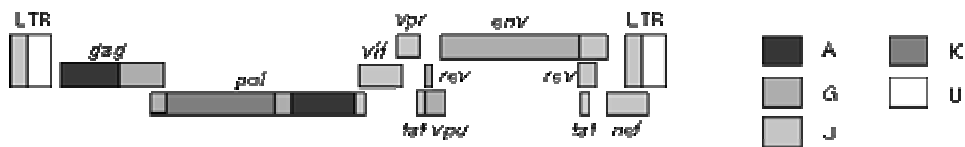
Рекомбинантная форма: **CRF05\_DF**      Разновидность: [VI1310](#)      Подтип: **D, F**



Данная разновидность была впервые обнаружена у двоих бельгийских граждан, заразившихся от половых партнеров из Демократической Республики Конго Laukkanen et al. 2000.

---

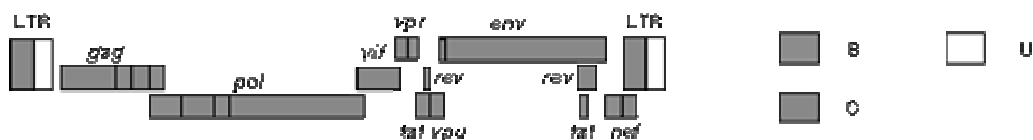
Рекомбинантная форма: **CRF06\_crx**      Разновидность: [BFP90](#)      Подтип: **A, G, J, K**



Данная рекомбинантная форма была изолирована от больного из Буркина Фасо и Республики Мали в западной Африке (Oelrichs et al. 1998; Montavon et al. 1999; Triques et al. 2000).

---

Рекомбинантная форма: **CRF07\_BC**      Разновидность: [97CN54](#)      Подтип: **B', C**

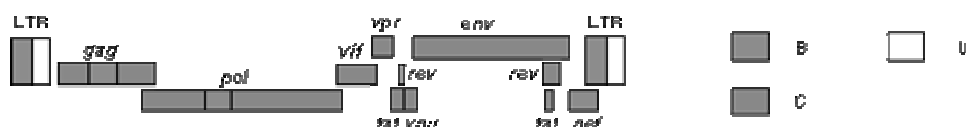


Первое описание данной разновидности было представлено Su, L. et al. 2000 в Китае. Последовательность была изучена Rodenburg et al. 2001.

---

---

Рекомбинантная форма: **CRF08\_BC**      Разновидность: [97CNGX-6F](#)      Подтипы: **B', C**



Данная последовательность была впервые обнаружена в Южном Китае и упоминается в публикациях McCutchan 2000 и Piyasirisilp et al. 2000. Информация в последующем была дополнена Rodenburg et al. 2001.

---

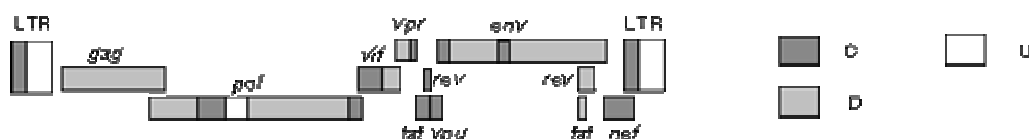
Рекомбинантная форма: **CRF09\_cpx**      Разновидность: [P2911](#)      Подтипы: **Не опубликованы**

[мозаичная структура пока не разработана]

Данная последовательность была впервые описана McCutchan 2000 и Brodine 2003 среди американских военнослужащих.

---

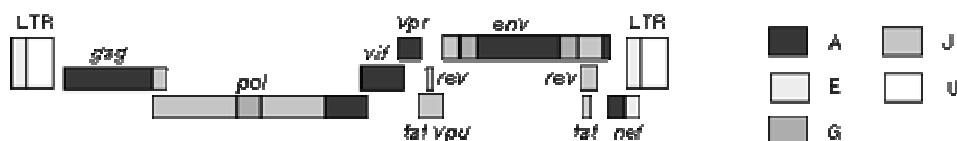
Рекомбинантная форма: **CRF10\_CD**      Разновидность: [TZBF061](#)      Подтипы: **C, D**



Данная последовательность была впервые обнаружена в 2001 году в Танзании – Юго-Восточной Африке (Koulinska et al. 2001).

---

Рекомбинантная форма: **CRF11\_cpx**      Разновидность: [GR17](#)      Подтипы: **A, G, CRF01\_AE, J**



Данная последовательность была впервые опубликована в 2000 году в Центральной Африке группой Paraskevis et al., а в 2002 году дополнена группой Montavon et al.

---

Рекомбинантная форма: **CRF12\_BF**      Разновидность: [ARMA159](#)      Подтипы: **B, F**



Данная последовательность была впервые опубликована в Аргентине и Уругвае группой Jean Carr et al. 2001. В последующем данная информация была дополнена группой Thomson et al. 2001; 2002.

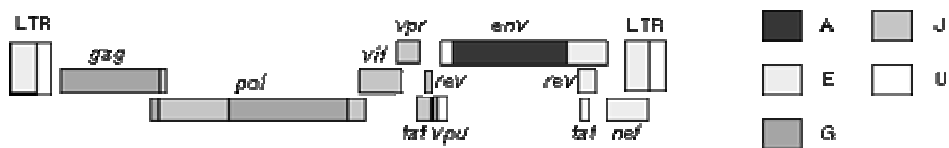
---

---

Рекомбинантная форма: **CRF13\_cpx**

Разновидность: [96CM-1849](#)

Подтипы: **A, CRF01\_AE, CRF11-cpx, G, J, U**



Данная последовательность была впервые описана в Камеруне, Западная Африка (Wilbe et al., 2002)

---

Рекомбинантная форма: **CRF14\_BG**

Разновидность: [X397](#) Подтип: **B, G**



Данная последовательность была впервые описана в Испании группой Rafael Najera (Delgado et al. 2002).

---

Рекомбинантная форма: **CRF15\_01B**

Разновидность: [99TH.MU2079](#)

Подтипы: **CRF01\_AE, B**



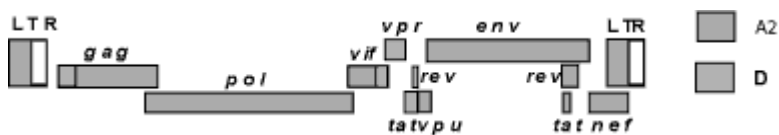
Данная рекомбинантная форма была впервые описана в Таиланде группой Фрэнсин МакКутчан в 2003 году (Tovanabutra et al. 2003).

---

Рекомбинантная форма: **CRF16\_A2D**

Разновидность: [00KE\\_KISII5009](#)

Подтипы: **A2, D**



Данная разновидность была обнаружена в Кении и Южной Корее. Это самая последняя рекомбинантная форма, идентифицированная на момент к концу 2005 года. Поиски других рекомбинантных форм продолжаются.

---

## Географическое распределение подтипов и рекомбинантных форм ВИЧ

Как указывалось выше, все разновидности вируса ВИЧ-1 имеют происхождение из Центральной Африки. В мире наиболее распространенными подтипами вируса являются подтипы С, А (А1), В, и рекомбинантная форма CRF02\_AG. В Африке более 75 процентов разновидностей вируса принадлежит к подтипам А, С, и D. В Азии наиболее распространенными являются подтипы Е, С и В. Причем, подтип Е в наибольшей степени распространен в Юго-Восточной Азии, в то время как подтип С получил широкое распространение в Индии. В Соединенных Штатах наиболее распространенным подтипом вируса является В (Korber, Theiler, Wolinsky, 1998; Meyers, Berzofsky, Korber, et al, 1992). Географическое распределение различных подтипов и рекомбинантных форм вируса ВИЧ представлено на рисунке 5.5.

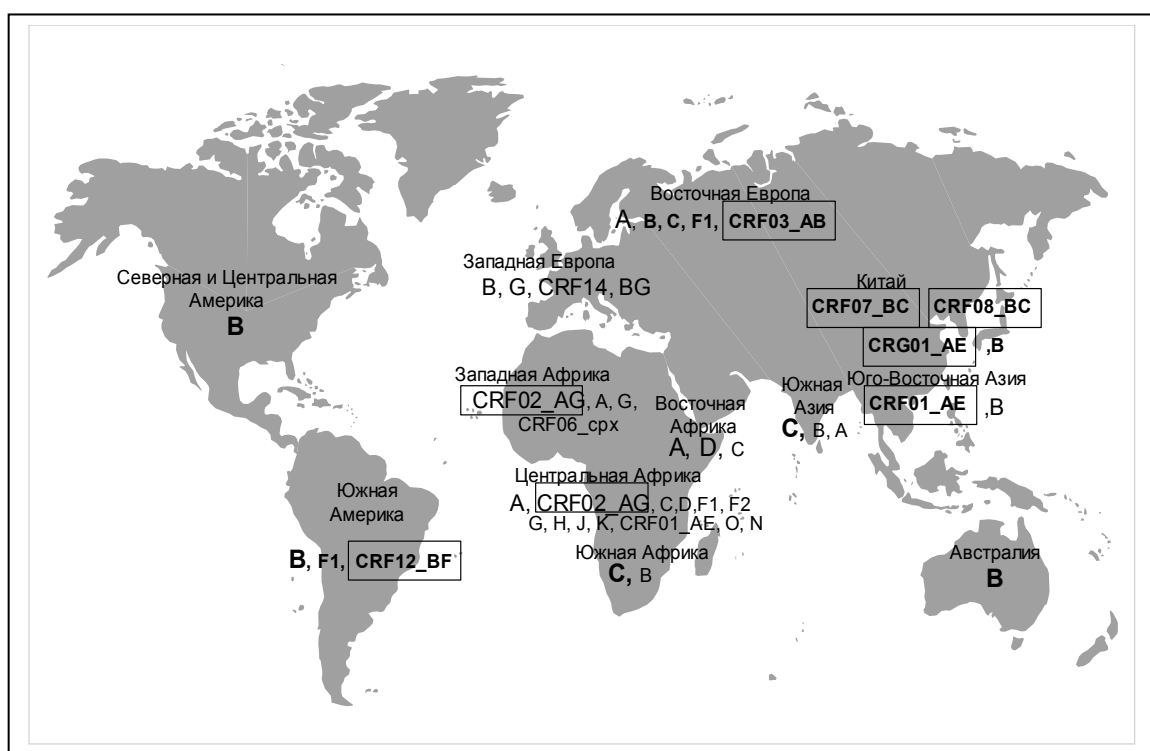


Рисунок 5.5. Географическое распределение различных подтипов и рекомбинантных форм вируса ВИЧ (заимствовано из Michael M Thomson, Lucía Pérez-Álvarez, and Rafael Nájera, *The Lancet*, 2002).

В Европейской части России наиболее распространенным подтипом вируса является АВ. Любопытно, что в Азиатской части России распространение получил подтип ВС, который, вероятнее всего, происходит из Юго-Восточной Азии и Индии (Chris Beyrer, Johns Hopkins University, personal communications, 2002). В Центральной Азии возможно распространение рекомбинантной формы вируса с характеристиками CRF02\_AG подтипа А/Г. Как указывалось выше, данная рекомбинантная форма была недавно обнаружена в Тайване, а также среди потребителей инъекционных наркотиков в Узбекистане и Таджикистане (Chris Beyrer, февраль 2005, личная переписка).

Большинство инфекций в южной части Африки, Индии и Эфиопии вызываются вирусом подтипа С, которые также циркулируют, но в меньшей степени, в Бразилии и России. Рекомбинантные формы, содержащие компоненты подтипа С, распространены в Танзании, а такие формы, как CRF07\_BC и CRF08\_BC, часто встречаются среди инфицированных наркопотребителей в Китае. Подтип А вируса

ВИЧ получил распространение в центральной и восточной частях Африки (Кении, Уганде, Танзании и Руанде), а также в странах восточной Европы (Украине и России). Любопытно отметить, что заражение данным подвидом вируса в бывшем Советском Союзе, главным образом, происходит инъекционным путем, что принципиально отличает эпидемиологическую характеристику данного подтипа вируса в Африке, где заражение происходит, в основном, гетеросексуальным путем.

В Западной Африке и определенных регионах Центральной Африки наиболее распространенной генетической формой вируса является его рекомбинантная форма CRF02\_AG. Подтип В, вариабельность которого на 17 процентов локализуется в гене *env*, помимо Соединенных Штатов, нередко обнаруживается в ряде стран Юго-Восточной Азии, Северной Африке, на Ближнем Востоке, в Западной и Центральной Европе, Латинской Америке и Австралии, а также среди гомосексуалистов, проживающих в Южной Африке и России. Считается, что впервые инфицирование данным подтипом вируса произошло в конце 1970-х годов. Рекомбинантная форма CRF01\_AE распространена в Юго-Восточной Азии. В конце 1980-х годов эта форма вируса встречалась исключительно среди работниц секса в Таиланде, а также их клиентов. Затем данная форма начала распространяться на наркопотребителей, и в последующем перенеслась на такие страны, как Китай, Япония и Корея.

К менее распространенным, по глобальным масштабам, но часто встречающимся на локальном уровне, генетическим формам вируса ВИЧ относятся: подтип D, в основном встречающийся в Восточной Африке (Уганде, Танзании и Кении); подтип F, нередко встречающийся в Бразилии, и распространенный в Румынии среди детей, проживающих в интернатах, зараженных контаминированными иглами и кровезаменителями; подтип G, распространенный в Центральной Африке, Нигерии, а также в Португалии и северо-восточной части Испании. (Thomson, Delgado, Manjón, et al., 2001; Delgado, Thomson, Villahermosa, et al., 2002; Esteves, Parreira, Venenno, et al., 2002).

Следует отметить также локальную распространенность таких рекомбинантных форм, как CRF12\_BF в Аргентине, и CRF03\_AB в Калининграде, Санкт-Петербурге, Смоленске и Перьми (Thomson, Villahermosa, Vázquez-de Parga, et al., 2000; Thomson, Delgado, Herrero, et al., 2002; Thomson, Pérez-Álvarez, and Nájera, 2002). Такие разновидности вируса ВИЧ, как A2, F2, H, J, K, а также ряд рекомбинантных форм лишь в незначительной степени циркулируют в Центральной Африке, и не играют существенной роли в глобальной эпидемиологии ВИЧ-инфекции. Было установлено, что в ряде стран Западной Европы вирусы ВИЧ имеют происхождение из других континентов (из Африки, например) и они передаются, в основном, гетеросексуальным путем (Thomson, Nájera, 2001).

В последнее время определенное внимание уделяется рекомбинантным формам вируса со сложной мозаичной структурой, явившихся результатом суперинфекции различными подтипами или рекомбинантными формами. В частности, такие разновидности были недавно обнаружены в Демократической Республике Конго, Аргентине, Кубе, Танзании и Испании (Thomson, Delgado, Manjón, et al., 2001; Cuevas, Ruibal, Villahermosa, et al., 2002; Vidal, Peeters, Mulanga-Kabeya, et al., 2000; Thomson, Delgado, Herrero, et al., 2002; Hoelscher, Kim, Maboko, et al., 2001).

Например, в Аргентине обнаружена разновидность вируса, происхождение которого связано с рекомбинацией CRF12\_BF с подтипом В, который наслоиился в результате суперинфекции (Thomson, Delgado, Herrero, et al., 2002). В Испании установлена



рекомбинация вируса CRF14\_BG с суперинфекцией В (Delgado, Thomson, Villahermosa, et al., 2002). Суперинфекция рекомбинантной формы АЕ подтипом В также недавно документирована (Jost, Bernard, Kaiser, et al., 2002). Тот факт, что новые рекомбинантные формы обнаруживаются в ограниченных географических регионах, таких, как, например, Галиция в Испании, позволяет предположить, что обнаружение других рекомбинантных форм с уникальной мозаичной структурой в будущем будет, вероятно, нередким явлением (Thomson, Delgado, Manjón, et al., 2001; Cuevas, Ruibal, Villahermosa, et al., 2002).

### Значимость изучения молекулярной гетерогенности ВИЧ

В настоящее время активно обсуждается стратегия разработки целенаправленных вакцин и лекарственных препаратов, обладающих специфическим действием по отношению к отдельным молекулярным разновидностям вируса ВИЧ. Данный вопрос имеет предысторию в связи с разработкой вакцин против других вирусов. В связи с этим, казалось бы, возможно применение ранее разработанных принципов получения противовирусных вакцин при изыскании эффективной вакцины против ВИЧ-инфекции. Например, вакцина против кори применяется уже около 40 лет, и более миллиарда детей в мире были успешно вакцинированы ею. Вирус полиомиелита имеет три основные разновидности, и вакцина против нее успешно применяется около 50 лет. С другой стороны, противогриппозная вакцина пока недостаточно эффективна, и необходимо ежегодно менять ее антигенные свойства. Это связано со склонностью вируса гриппа ежегодно менять свои антигенные характеристики.

Как оказалось, ситуация с вакциной против вируса ВИЧ гораздо сложнее ввиду ряда причин. Во-первых, пока недостаточно изучены иммунологические механизмы защиты против ВИЧ-инфекции, на основе которых можно было бы сконструировать эффективную вакцину против ВИЧ. Во-вторых, поскольку вакцина должна быть высокоспецифичной, важным препятствием является наличие большого количества молекулярных вариантов вируса, а также разнообразных рекомбинантных форм. В идеальной ситуации, вакцины должны быть направлены против конкретных антигенных детерминант вируса. Поскольку каждая молекулярно-генетическая разновидность вируса ВИЧ несет уникальную антигенную структуру, вакцина против одной разновидности, скажем А, должна существенно отличаться от вакцины, специфичной к другой разновидности – скажем, рекомбинантной формы CRF14\_BG. В долгосрочной перспективе, создание высокоспецифичных вакцин, безусловно, окажется приоритетной задачей. По этой причине, знание различных молекулярно-генетических форм будет приобретать все большее практическое значение.

В ближайшей перспективе необходима разработка поливалентной вакцины, которая была бы способна защищать против множества известных молекулярных форм вируса ВИЧ. В ряде экспериментальных работ была подтверждена теоретическая вероятность разработки такой вакцины (Pu, Coleman, Omori, et al., 2001). Современный подход в данном вопросе основан на конструировании вакцины путем насаждения множества молекулярных эпитопов, соответствующих отдельным подтипам и рекомбинантным формам вируса ВИЧ. Однако требуются более углубленные экспериментальные и клинические исследования, для того чтобы подтвердить практическую значимость такого подхода (Ferrari, Kostyu, Cox, 2000; Hanke, McMichael, 2000; Schultz, Bradac, 2001)

Тем временем, конструирование поливалентных вакцин, обладающих нейтрализующими свойствами по отношению к одновременно нескольким молекулярным вариантам вируса ВИЧ, рекомендовано Совместной Комиссией ВОЗ/ЮНЭЙДС в качестве наиболее перспективного направления (Hanke, McMichael, 2000; Schultz, Bradac, 2001; WHO-UNAIDS Vaccine Advisory Committee. Geneva, 21–23 February 2000).

## **5.5 Жизненный цикл вируса ВИЧ**

Жизненный цикл вируса ВИЧ-1 может рассматриваться в рамках двух различных фаз развития инфекционного процесса. На рисунке 5.6 схематично представлены основные внутриклеточные этапы репликации вируса ВИЧ.

Начальный, достаточно короткий период, характеризуется прикреплением вируса, проникновением, обратной транскрипцией, проникновением внутрь ядра клетки и интеграцией в молекулу ДНК с формированием так называемого провируса. Вторая фаза происходит в течение всего жизненного цикла инфицированной клетки, по мере того, как вирусные и клеточные белки регулируют образование других вирусных белков, а также новых инфекционных вирионов.

Как указывалось выше, ключевым фактором патогенетического действия вируса ВИЧ является обратная транскрипция геномной РНК в провирусную ДНК при помощи фермента обратной транскриптазы. Поэтому одним из основных принципов современной антиретровирусной терапии является блокирование фермента обратной транскриптазы.

### Связывание с рецепторами и ко-рецепторами иммунных клеток

Жизненный цикл вируса начинается с момента прикрепления вирусного белка gp120 к молекуле CD4 на поверхности Т-лимфоцита. Молекула CD4 представляет собой гликопротеин с молекулярной массой в 55 килодальтон. Ее роль в патогенезе ВИЧ-инфекции была впервые установлена в 1984 году, то есть практически одновременно с выделением и описанием самого вируса (Dalglish, et al, 1984; Klatzmann, Barre-Sinoussi, Nugeyre, et al., 1984; Klatzmann, Champagne, Chamaret, et al., 1984). Молекулы CD4, в основном, обнаруживаются на Т-лимфоцитах, ответственных за хелперную и индьюсерную функции иммунной системы. Данный гликопротеин, также, обнаруживается на поверхности моноцитов/макрофагов и дендритных клеток, а также клеток Лангерганса.

Кристаллографические исследования позволили установить, что, для связывания с рецептором CD4, вирусный белок gp120 имеет специальный «карман», представляющий собой своеобразную структурную деформацию молекулы. Причем, показано, что конкретный участок рецептора CD4, предназначенный для связывания с вирусом, ассоциирован с аминокислотой фенилаланином в 43-й позиции (Wyatt, Sodroski, 1998). Также была продемонстрирована роль углеводных молекул – гликозамингликанов в связывании с молекулой gp120 при участии хемокиновых рецепторов (Reitter, 1998).

Долгое время считалось, что CD4 является единственной молекулой, ответственной за связывание вируса с иммунными клетками. Однако впоследствии было показано, что, даже несмотря на удаление CD4-рецептора, способность Т-лимфоцитов к инфицированию вирусом ВИЧ сохранялась. В другом экспериментальном

исследовании было установлено, что экспрессия человеческого CD4-рецептора на лимфоцитах мышей не обеспечивала их инфицирования вирусом ВИЧ, даже несмотря на то, что вирусный белок gp120 эффективно связывался с рецептором CD4 (Maddon, Dalglish, McDougal, et al., 1986). Эти данные свидетельствовали о том, что, помимо CD4-рецептора, существуют дополнительные клеточные факторы, необходимые для связывания и проникновения вируса, однако природа этих дополнительных факторов длительное время оставалась неустановленной (Broder, Berger, 1995; Alkhatib, Broder, Berger, 1996).

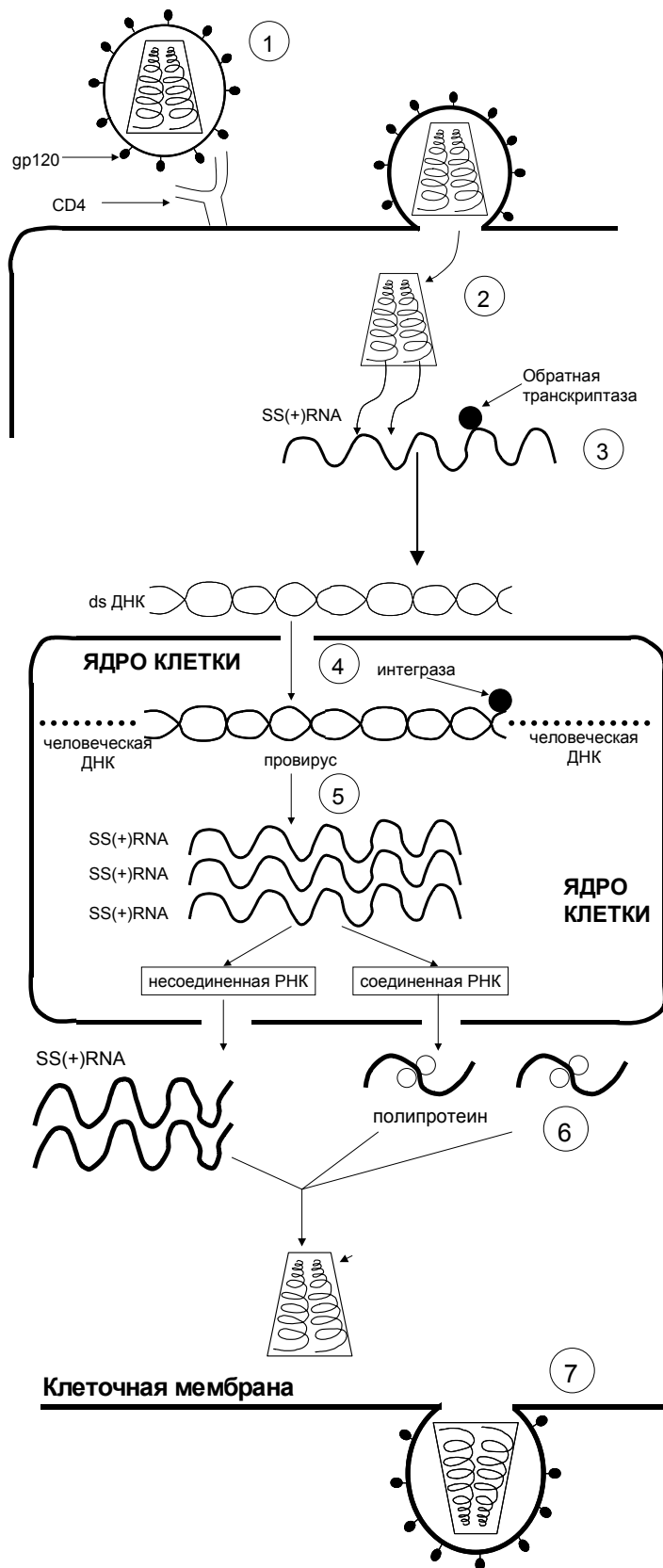


Рисунок 5.6 Жизненный цикл вируса ВИЧ

1. Связывание с рецепторами лимфоцита
2. Вторжение вируса (РНК) внутрь клетки
3. Обратная транскрипция и образование ДНК провируса
4. Интеграция ДНК провируса в геном клетки-хозяина
5. Репликация вируса с образованием РНК праймеров новых вирусных частиц
6. Выход РНК новых вирусных частиц из ядра в цитоплазму
7. Отпочковывание, инкапсулирование и формирование новых вирусных частиц, выход в тканевую жидкость.

К середине 90-х годов стало ясным, что существуют две разновидности вируса ВИЧ. Одна из них предпочтительно связывается с Т-лимфоцитами, а другая – с макрофагами. Такое предпочтительное связывание было охарактеризовано, как «тропизм» вируса к Т-лимфоцитам или макрофагам, а соответствующие разновидности вируса были названы, как Т-тропные и М-тропные, соответственно. Позднее было показано, что, помимо молекулы CD4, для связывания вируса ВИЧ необходимо присутствие вспомогательных рецепторов, или так называемых ко-рецепторов.

В частности, в серии исследований, проведенных в 1995-1996 годах, было установлено, что такими ко-рецепторами являются молекула CXCR4 (фузин) для вирусов, тропных к Т-лимфоцитам и CCR - для вирусов, тропных к макрофагам. Оба ко-рецептора вируса ВИЧ принадлежат к семейству так называемых трансмембранных белков G (Feng Y, 1996; Berson, Long, Doranz, et al. 1996; Bleul, Farzan, Choe, et al. 1996; Oberlin, Amara, Bachelierie, et al. 1996; Paxton, Martin, Tse, et al. 1996; Samson, Labbe, Mollereau, et al. 1996; Combadiere, Ahuja, Tiffany, et al. 1996; Raport, Gosling, Schweickart, et al. 1996; Deng, Liu, Ellmeier, et al. 1996; Dragic, Litwin, Allaway, et al. 1996; Alkhatib, Combadiere, Broder, et al. 1996; Choe, Farzan, Sun, et al. 1996; Doranz, Rucker, Yi, et al. 1996; O'Brien, 1998; Kwong et al, 1998; Rizzuto et al, 1998; Wyatt et al, 1998).

Все рецепторы различаются между собой тем, что они способны связываться со свойственными только лишь им молекулами. Этими уникальными молекулами являются так называемые лиганды. Они, словно ключ к замку, подходят к конкретному рецептору. Не исключением являются рецепторы иммунных клеток. Как указывалось выше, лигандом для рецептора CD4 является вирусный белок gp120. Естественным лигандом Т-лимфоцитарного ко-рецептора CXCR4 является так называемый стромальный клеточный фактор - SDF-1. Показано, что данный лиганд, вместе с антителами к рецептору CXCR4, способен эффективно блокировать проникновение Т-тропных вирусов. Легко догадаться, что в использовании этих лигандов можно видеть одну из перспектив антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции (Feng, Broder, Kennedy, et al. 1996; Berson, Long, Doranz, et al. 1996; Bleul, Farzan, Choe, et al., 1996; Oberlin, Amara, Bachelierie, et al., 1996).

Лигандами для ко-рецептора CCR5, связывающего М-тропные вирусы, являются так называемые СС-хемокины (цитокины, участвующие в регуляции воспаления и являющиеся хемоаттрактантами). К СС-хемокинам относятся такие, как про-воспалительный протеин 1 $\alpha$  - MIP-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ ), MIP-1 $\beta$ , и вещество называемое RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted). Показано, что ко-рецептор М-тропных вирусов CCR5 способен связываться со всеми тремя  $\beta$ -хемокинами - RANTES, MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$ . Причем, указанные СС-хемокины способны подавлять инфицирование активированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов вирусом ВИЧ. Также примечательно, что СС-хемокины избирательно подавляли инфицирование клеток М-тропными вирусами, но не влияли на инфицирование Т-тропными вирусами (Walker, Moody, Stites, et al., 1986; Cocchi, DeVico, Garzino-Demo, et al., 1995).

Механизмы действия хемокинов и фактора SDF-1 остаются до конца не выясненными. Однако предполагается, что подавление инфекции, скорее всего, происходит на уровне блокирования рецепторов, но не за счет подавления внутриклеточной передачи. Учитывая сложность взаимодействия вируса ВИЧ с иммунными клетками, можно предположить, что в будущем будут обнаружены другие вирусные ко-рецепторы.

Модель связывания М-тропных и Т-тропных вирусов с CCR5 и CXCR4 ко-рецепторами и роль соответствующих лигандов представлена на рисунке 5.7.

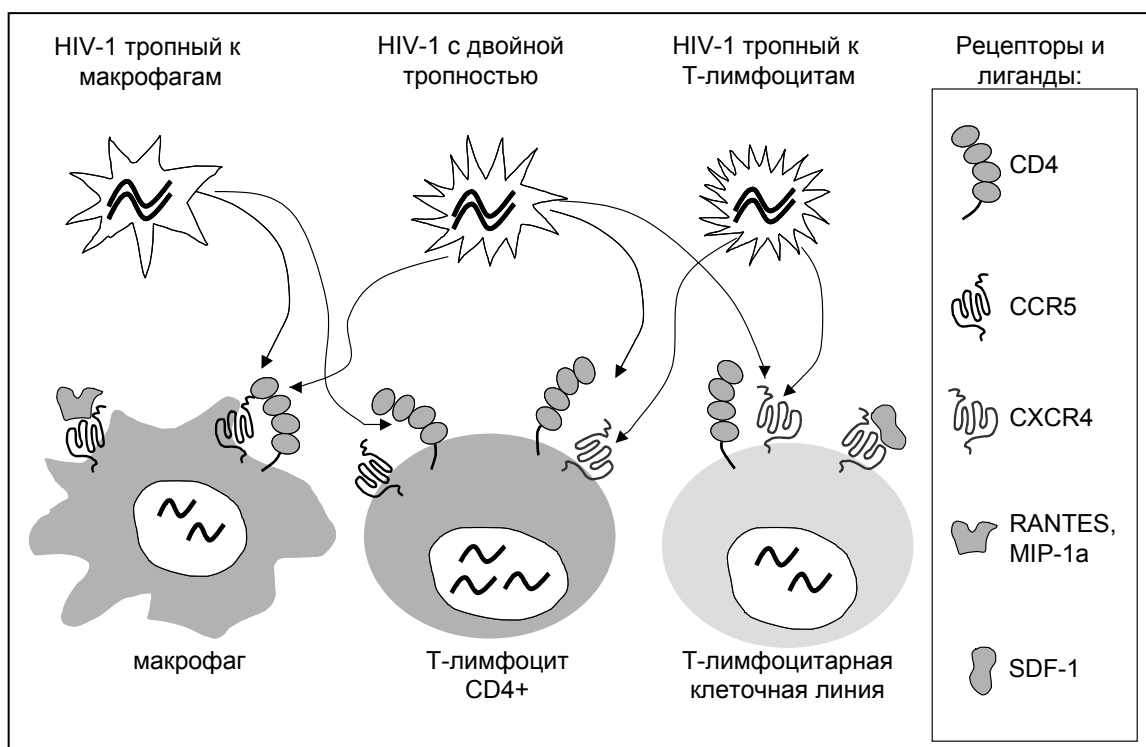


Рисунок 5.7. Модель связывания М-тропных и Т-тропных вирусов с CCR5 и CXCR4 ко-рецепторами и роль соответствующих лигандов (заимствовано из Michael M Thomson, Lucía Pérez-Álvarez, and Rafael Nájera, *The Lancet*, 2002).

Понимание факта необходимости ко-рецепторов для реализации патогенетического действия вируса является ключевым в разработке новых подходов в антиретровирусной терапии (на основе блокирования ко-рецептора CXCR4 или ко-рецептора CCR5), а также методов вакцинации против ВИЧ-инфекции (Baggiolini, Moser, 1997). На этом принципе, в частности, основан новый препарат Т-20 (фузеон), который в настоящее время прошел клинические испытания и рекомендован к применению в США.

#### Проникновение вируса внутрь клетки

Период после вторжения вируса в клетку также является достаточно непростым. Показано, что для начала процесса обратной транскрипции вирус должен внедрить в клетку так называемый белок циклофилин А, который предназначен для прикрепления вирусного капсидного белка р17. При отсутствии циклофилина происходит блокирование последующего вторжения вируса в клетку. Интересно, что циклофилин по своей природе является связывающим белком для циклоспорина – известного иммунодепрессанта, подавляющего активацию Т-лимфоцитов. Это дает основание полагать, что процесс внедрения вируса, в той или иной мере, ассоциирован с активацией Т-лимфоцитов (Sherry, Zybarth, Alfano, et al 1998, Braaten, Franke, Luban, 1996).

#### Обратная транскрипция и вирусная репликация

После вторжения вируса внутрь клетки происходит главный процесс – обратная транскрипция, которая характеризуется образованием молекулы ДНК (провируса) из вирусной РНК. Обратная транскрипция является уникальной особенностью, характерной для всех ретровирусов, включая вирус ВИЧ (Wong-Staal F, 1990). Этот

процесс происходит в цитоплазме лимфоцита и требует наличия четырех компонентов: 1) вирусной РНК; 2) транспортной РНК – праймера, на шаблоне которой строится ДНК; 3) фермента обратной транскриптазы; и 4) нуклеозидов цитоплазмы. Лимитирующими факторами, без которых процесс обратной транскрипции невозможен, являются: 1) обратная транскриптаза и 2) нуклеозиды. Нуклеозиды отсутствуют в вирусных частицах, но в избытке содержатся в лимфоцитах. По указанной причине, современная стратегия антиретровирусной терапии ВИЧ/СПИД основана на следующих двух принципах: а) блокировании обратной транскриптазы при помощи антиретровирусных препаратов и б) подавлении образования нуклеозидов путем использования гидроксимочевины, способной подавлять фермент рибонуклеозид редуктазу (Lori, Malykh, Cara, et al. 1994; Rutschmann, Opravil, Iten, et al., 1998).

Процесс обратной транскрипции завершается образованием провируса (вирусной ДНК) из вирусной РНК. Молекула вирусной ДНК теперь уже способна перемещаться в ядро клетки, где встраивается в хромосому. Это явление, называемое интеграцией, происходит при участии другого вирусного белка – интегразы. Находясь в составе хромосомы, провирус может в течение длительного времени находиться в неактивном состоянии, но в конечном итоге начинает кодировать синтез вирусных белков и образовывать другие вирусные копии. Этот процесс, собственно, и называется вирусной репликацией. Многократный процесс репликации приводит к формированию большого количества вирусных частиц, которые наводняют кровь и тканевые жидкости инфицированного больного. Данное явление ассоциируется с понятием вирусной нагрузки. Оценку эффективности и мониторинг антиретровирусной терапии необходимо проводить на основании определения степени вирусной нагрузки, которая обратно коррелирует со степенью подавления вирусной репликации.

#### Регуляция вирусной репликации

Интенсивность репликации вируса зависит от множества внешних факторов, таких, как наличие цитокинов, а также от степени клеточной активации (Honda et al, 1998). Молекулярными факторами, ответственными за регулирование вирусной репликации, являются факторы каппа-В клеточного ядра (NF-κB). Они относятся к семейству факторов транскрипции, ведущих к каскаду процессов, способствующих экспрессии вирусного генома (Kawakami, 1988, Nabel, Baltimore, 1987).

Уникальным свойством ВИЧ-1 является то, что экспрессия вируса регулируется ферментами клетки-хозяина. В частности, транскрипция провируса инициируется при помощи фермента РНК-полимеразы II. При этом матричная РНК вируса и геномная реплика подвергаются обработке клеточными ферментами (сращиваются, инкапсулируются, подвергаются полиаденилированию) и транспортируются в цитоплазму, где происходит синтез вирусных белков. Процесс сращивания фрагментов вирусной РНК является ключевым, поскольку он определяет тип вирусных белков, которые в последующем должны синтезироваться. Данный процесс контролируется регуляторным белком Rev.

На ранней стадии инфекции активированные лимфоциты образуют матричную РНК, ответственную за кодирование регуляторных белков. Белками, кодируемыми такой матричной РНК, являются Tat, Rev, и Nef. Белок Tat усиливает активность промоторов вирусной РНК, главным образом путем удлинения РНК, в результате чего вирус способен производить большее количество вирусных антигенов. Белок Rev

подавляет процесс сращивания фрагментов РНК вируса. В результате накопления белков Rev происходит усиление экспрессии фрагментированных частиц вирусной РНК, которые кодируют поздние вирусные белки, такие как Gag, Pol, Env, Vpr, Vpg и Vif. Данный процесс имеет большое значение, поскольку он определяет фазность развития инфекции. Регуляторные белки можно установить при помощи метода Northern blot (Kim, Wynn, Groopman, Baltimore, 1989). Матричную РНК, ответственную за кодирование регуляторных белков, можно определить при помощи полимеразной цепной реакции в течение 6 часов после попадания вируса в организм (Klotman, Kim, Buchbinder, et al., 1991).

#### Инкапсулирование и формирование зрелой вирусной частицы

Другим важным этапом жизненного цикла вируса ВИЧ является инкапсулирование вирусной РНК, которое происходит за счет специфического сигнала, исходящего из кодона, расположенного между концом 5' генома и иницирующего кодона для белков Gag. В отсутствие такого сигнала происходит формирование зрелых вирусных частиц, лишенных геномной РНК. Сборка вирусной частицы осуществляется на клеточной мембране лимфоцита, при участии белков p7 и p17, кодируемых белком Gag, а также поверхностных белков gp41 и gp120. Собранная и инкапсулированная вирусная частица включает поверхностные белки, клеточную мембрану и ассоциированные клеточные белки, а также матрицу, состоящую из белка p17 и внутреннего стержня, представленного РНК, вирусными ферментами (обратной транскриптазой и интегразой), а также вирусными белками p7, p24, Vpr и p6.

Зрелая вирусная частица характеризуется формированием своеобразных выступов на поверхности лимфоцита (рис 5.1). В таком виде и завершается жизненный цикл вируса ВИЧ.