

УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Для студентов медицинских институтов

А.Г. Букринская

Вирусология

Допущено Главным управлением учебных заведений Министерства здравоохранения СССР в качестве учебного пособия для студентов медицинских институтов

ББК 52.64
Б 90
УДК 578.7(075.8)

Рецензенты: В. Е. Яворовская, проф., зав. кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией Новосибирского государственного медицинского института; Л. Б. Борисов, проф., зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии I Ленинградского медицинского института им. акад. И. П. Павлова

Букринская А. Г.
Б90 Вирусология. — М.: Медицина, 1986. — 336 с.,
ил.

В пер.: 95 к. 50 000 экз.

В учебном пособии изложены основы общей и частной вирусологии. Обобщены данные о природе и происхождении вирусов человека и животных, их морфогенезе, химическом составе, механизме репродукции вирусов в клетках. Представлены сведения об отдельных вирусах и вызываемых ими заболеваниях. Особое внимание уделено возбудителям массовых инфекций — гриппа, острых респираторных заболеваний, гастроэнтеритов, гепатитов. Дано описание методов лабораторной диагностики, экспресс-методов.

Учебное пособие соответствует программе, утвержденной Министерством здравоохранения СССР, и предназначено для студентов медицинских институтов.

Б 4107000000—299
039 (01)—86 93—86

ББК 52.64

© Издательство «Медицина», Москва, 1986

ПРЕДИСЛОВИЕ

Стремительное развитие вирусологии за последние десятилетия, резко возросший удельный вес вирусных болезней в инфекционной патологии обуславливают целесообразность расширения программ по вирусологии на кафедрах микробиологии и инфекционных болезней и организации кафедр вирусологии в институтах усовершенствования врачей. В этой связи возникла необходимость создания учебника вирусологии, так как соответствующие разделы учебников микробиологии уже недостаточны, а руководства по вирусологии могут быть использованы для дальнейшего усовершенствования.

Предлагаемый учебник предназначен для вирусологов, проходящих первичную специализацию в институтах усовершенствования врачей, студентов медицинских вузов, а также для вирусологов, работающих в лечебно-профилактических и санитарно-эпидемиологических учреждениях.

Учебник состоит из двух частей. В первой части приведены основные сведения по общей вирусологии, вторая содержит основные данные о патогенных для человека вирусах, вызываемых ими заболеваниях и их лабораторной диагностике и профилактике.

Автор благодарит профессоров С. М. Клименко и А. Ф. Быковского, кандидатов медицинских наук Б. В. Гущина, Ю. П. Кадошникову и кандидата биологических наук В. Б. Григорьеву за предоставленные ими оригинальные электронно-микроскопические снимки вирусов, профессора Ю. З. Гендона и кандидата медицинских наук А. Л. Лиознера за критические замечания при подготовке рукописи к печати, а также сотрудников кафедры вирусологии Центрального ордена Ленина института усовершенствования врачей за помощь в работе над рукописью. Особую благодарность автор выражает профессору В. М. Жданову за ценные советы и большую помощь в работе над книгой.

Все пожелания и критические замечания будут приняты автором с благодарностью.

Часть I. ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Глава 1. ИСТОРИЯ ВИРУСОЛОГИИ

ОТКРЫТИЕ ВИРУСОВ

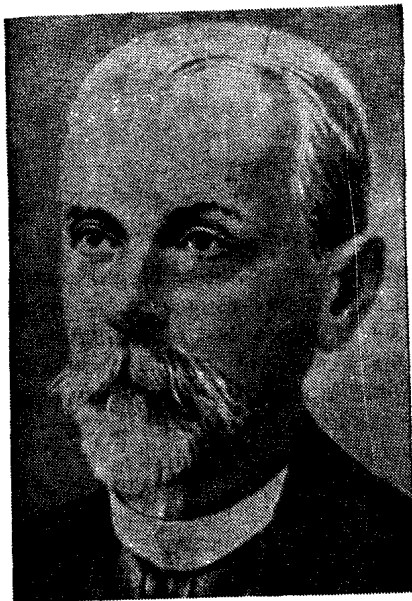
История вирусологии довольно необычна. Первая вакцина для предупреждения вирусной инфекции — оспы была предложена английским врачом Э. Дженнером в 1796 г., почти за сто лет до открытия вирусов, вторая вакцина — антирабическая была предложена основателем микробиологии Л. Пастером в 1885 г. — за семь лет до открытия вирусов.

Честь открытия вирусов принадлежит нашему соотечественнику Д. И. Ивановскому, который впервые в 1892 г. доказал существование нового типа возбудителя болезней на примере мозаичной болезни табака. Будучи студентом Петербургского университета, он выезжал на Украину и в Бессарабию для изучения причин болезни табака, а затем, после окончания университета, продолжал исследования в Никитском ботаническом саду под Ялтой. В содержимом пораженного листа он не обнаружил бактерий, однако сок больного растения вызывал поражения здоровых листьев. Д. И. Ивановский профильтровал сок больного растения через свечу Шамберлана, поры которой задерживали мельчайшие бактерии. В результате он обнаружил, что возбудитель проходит даже через такие поры, так как филтрат продолжал вызывать заболевание листьев табака. Культивирование его на искусственных питательных средах оказалось невозможным. Д. И. Ивановский приходит к выводу, что возбудитель имеет необычную природу: он фильтруется через бактериальные фильтры и не способен расти на искусственных питательных средах. Он назвал новый тип возбудителя «фильтрующиеся бактерии».

Опыты Д. И. Ивановского в 1898 г. повторил голландский ученый М. В. Бейеринк, придя, однако, к выводу, что возбудитель табачной мозаики — жидкий живой контагий. Д. И. Ивановский с этим выводом не согласился. К этому времени были опубликованы работы Ф. Леффлера и П. Фроша, показавших, что возбудитель ящура также проходит через бактериальные фильтры. Д. И. Ивановский, анализируя эти данные, пришел к вы-

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВИЭФ	Встречный иммуноэлектрофорез
ИФ	Иммунофлюоресценция
ИФА	Иммуноферментный анализ
ИЭМ	Иммунная электронная микроскопия
МГ	Молекулярная гибридизация
РГА	Реакция гемагглютинации
РГ _{адс}	Реакция гемадсорбции
РГТО	Реакция гемадсорбции на твердой основе
РДИД	Реакция двойной иммунодиффузии
РИА	Радиоиммунный анализ
РН	Реакция нейтрализации
РНП	Рибонуклеопротеид
РОПГА	Реакция обратной пассивной гемагглютинации
РРГ	Реакция радиального гемолиза
РСК	Реакция связывания комплемента
РТГ _{адс}	Реакция торможения гемадсорбции
РТГА	Реакция торможения гемагглютинации
ЦПД	Цитопатическое действие



Д. И. Ивановский (1864—1920)

воду, что агенты ящура и табачной мозаики принципиально сходны. В споре с М. В. Бейеринком прав оказался Д. И. Ивановский.

Опыты Д. И. Ивановского были положены в основу его диссертации «О двух болезнях табака», представленной в 1888 г., и изложены в книге того же названия, вышедшей в 1892 г. Этот год и считается годом открытия вирусов.

Д. И. Ивановский открыл вирус растений. Ф. Леффлер и П. Фрош открыли вирус, поражающий животных. Наконец, в 1917 г. Ф. д'Эррель открыл бактериофаг — вирус, поражающий бактерии. Та-

ким образом, вирусы вызывают болезни растений, животных, бактерий.

Слово «вирус» означает яд, оно применялось еще Л. Пастером для обозначения заразного начала. Позже стали применять название «ультравирус» или «фильтрующий вирус», затем определение отбросили и укоренился термин «вирус».

ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ ВИРУСОЛОГИИ

Быстрый прогресс в области вирусологических знаний, основанный в значительной мере на достижениях смежных естественных наук, обусловил возможность углубленного познания природы вирусов. Как ни в одной другой науке, в вирусологии прослеживается быстрая и четкая смена уровней познания — от уровня организма до субмолекулярного.

Приведенные периоды развития вирусологии отражают те уровни, которые являлись доминирующими в течение одного — двух десятилетий.

Уровень организма (30-40-е годы XX века). Основной экспериментальной моделью являются лабораторные

животные (белые мыши, крысы, кролики, хомяки и т. д.), основным модельным вирусом — вирус гриппа.

В 40-е годы в вирусологию в качестве экспериментальной модели прочно входят куриные эмбрионы в связи с их высокой чувствительностью к вирусам гриппа, оспы и некоторым другим. Использование этой модели стало возможным благодаря исследованиям австралийского вирусолога и иммунолога Ф. М. Бернета, автора пособия по вирусологии «Вирус как организм».

Открытие в 1941 г. американским вирусологом Херстом феномена гемагглютинации немало способствовало изучению взаимодействия вируса с клеткой на модели вируса гриппа и эритроцитов.

Большим вкладом отечественных вирусологов в медицинскую вирусологию явилось изучение природно-очаговых заболеваний — эпидемических энцефалитов. В 1937 г. была организована первая экспедиция, возглавляемая Л. А. Зильбером, в составе которой были Е. Н. Левкович, А. К. Шубладзе, М. П. Чумаков, В. Д. Соловьев и др. Благодаря проведенным исследованиям был открыт вирус клещевого энцефалита, выявлены его переносчики — иксодовые клещи, разработаны методы лабораторной диагностики, профилактики и лечения. Советскими вирусологами были изучены вирусные геморрагические лихорадки, разработаны препараты для диагностических и лечебно-профилактических целей.

Уровень клетки (50-е годы). В 1949 г. происходит значительное событие в истории вирусологии — открытие возможности культивировать клетки в искусственных условиях. В 1952 г. Дж. Эндерс, Т. Уэллер, Ф. Роббинс получили Нобелевскую премию за разработку метода культуры клеток. Использование культуры клеток в вирусологии явилось подлинно революционным событием, послужившим основой для выделения многочисленных новых вирусов, их идентификации, клонирования, изучения их взаимодействия с клеткой. Появилась возможность получения культуральных вакцин. Эта возможность была доказана на примере вакцины против полиомиелита. В содружестве с американскими вирусологами Дж. Солком и А. Сейбином, советскими вирусологами М. П. Чумаковым, А. А. Смородинцевым и др. была разработана технология производства, апробирована и внедрена в практику убитая и живая вакцины против полиомиелита. В 1959 г. была проведена массовая иммунизация детского населения в СССР (около 15 млн.) живой полиомиелитной вакциной,

в результате резко снизилась заболеваемость полиомиелитом и практически исчезли паралитические формы заболевания. В 1963 г. за разработку и внедрение в практику живой полиомиелитной вакцины М. П. Чумакову и А. А. Смородинцеву была присуждена Ленинская премия. Другим важным применением техники выращивания вирусов явилось получение Дж. Эндерсом и А. А. Смородинцевым живой коревой вакцины, широкое применение которой обусловило значительное снижение заболеваемости корью и является основой для искоренения этой инфекции.

Широко внедрялись в практику и другие культуральные вакцины — энцефалитная, ящурная, антирабическая и т. д.

Молекулярный уровень (60-е годы). В вирусологии широко стали использовать методы молекулярной биологии, а вирусы благодаря простой организации их генома стали распространённой моделью для молекулярной биологии. Ни одно открытие молекулярной биологии не обходится без вирусной модели, включая генетический код, весь механизм внутриклеточной экспрессии генома, репликацию ДНК, процессинг (созревание) информационных РНК и т. д. В свою очередь использование молекулярных методов в вирусологии позволило установить принципы строения (архитектуры) вирусных индивидуумов — вирионов (термин, введенный французским микробиологом А. Львовом), способы проникновения вирусов в клетку и их репродукции.

Субмолекулярный уровень (70-е годы). Стремительное развитие молекулярной биологии открывает возможности изучения первичной структуры нуклеиновых кислот и белков. Появляются методы секвенирования ДНК, определения аминокислотных последовательностей белка. Получают первые генетические карты геномов ДНК-содержащих вирусов.

В 1970 г. Д. Балтимором и одновременно Г. Теминым и С. Мизутани была открыта обратная транскриптаза в составе РНК-содержащих онкогенных вирусов, фермент, переписывающий РНК на ДНК. Становится реальным синтез гена с помощью этого фермента на матрице, выделенной из полисом иРНК. Появляется возможность переписать РНК в ДНК и провести ее секвенирование.

В 1972 г. возникает новый раздел молекулярной биологии — геновая инженерия. В этом году публикуется сообщение П. Берга в США о создании рекомбинантной

молекулы ДНК, которое положило начало эре геновой инженерии. Появляется возможность получения большого количества нуклеиновых кислот и белков путем введения рекомбинантных ДНК в состав генома прокариот и простых эукариот. Одним из основных практических приложений нового метода является получение дешевых препаратов белков, имеющих значение в медицине (инсулин, интерферон) и сельском хозяйстве (дешевые белковые корма для скота).

Этот период характеризуется важными открытиями в области медицинской вирусологии. В фокусе изучения — три наиболее массовых болезни, наносящих огромный ущерб здоровью людей и народному хозяйству, — грипп, рак, гепатит.

Установлены причины регулярно повторяющихся пандемий гриппа. Детально изучены вирусы рака животных (птиц, грызунов), установлена структура их генома и идентифицирован ген, ответственный за злокачественную трансформацию клеток — онкоген. Установлено, что причиной гепатитов А и В являются разные вирусы: гепатит А вызывает РНК-содержащий вирус, отнесенный к семейству пикорнавирусов, а гепатит В — ДНК-содержащий вирус, отнесенный к семейству гепаднавирусов. В 1976 г. Г. Бламберг, исследуя антигены крови у аборигенов Австралии, обнаружил так называемый австралийский антиген, который он принял за один из антигенов крови. Позже было выявлено, что этот антиген является антигеном гепатита В, носительство которого распространено во всех странах мира. За открытие австралийского антигена Г. Бламбергу в 1976 г. была присуждена Нобелевская премия.

Другая Нобелевская премия в 1976 г. присуждена американскому ученому К. Гайдушеку, который установил вирусную этиологию одной из медленных инфекций человека — куру, наблюдающейся в одном из туземных племен на острове Новая Гвинея и связанной с ритуальным обрядом — поеданием зараженного мозга умерших родственников. Благодаря усилиям К. Гайдушека, поселившегося на острове Новая Гвинея, эта традиция была искоренена и число больных резко сократилось.

НАУЧНЫЕ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ В СССР

Первые вирусологические лаборатории в СССР созданы в 30-е годы: в 1930 г. — лаборатория по изучению вирусов растений в Украинском институте защиты растений, в 1935 г. — отдел вирусов в Институте микробиологии АН СССР, а в 1938 г. он был реорганизован в отдел вирусов растений, которым в течение многих лет руководил В. Л. Рыжков. В 1935 г. организована Центральная вирусологическая лаборатория Наркомздрава РСФСР в Москве, которой заведовал Л. А. Зильбер, а в 1938 г. эта лаборатория реорганизована в отдел вирусов Всесоюзного института экспериментальной медицины, его руководителем был назначен А. А. Смородинцев. В 1946 г. на базе отдела вирусов создан Институт вирусологии АМН СССР, которому в 1950 г. присвоено имя Д. И. Ивановского.

В течение 50-х и 60-х годов созданы научные и производственные вирусологические учреждения в нашей стране: Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Институт вирусных препаратов Министерства здравоохранения СССР, Киевский институт инфекционных болезней, Всесоюзный научно-исследовательский институт гриппа Министерства здравоохранения СССР в Ленинграде и ряд других.

Важную роль в подготовке кадров вирусологов сыграла организация в 1955 г. кафедры вирусологии в Центральном институте усовершенствования врачей МЗ СССР. Кафедры вирусологии были созданы на биологических факультетах Московского и Киевского университетов.

Глава 2. ПРИРОДА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ВИРУСОВ

ПРИРОДА ВИРУСОВ

Со времени открытия вирусов по настоящее время представления о природе вирусов претерпели значительные изменения.

Д. И. Ивановский и другие исследователи того времени подчеркивали два свойства вирусов, позволившие выделить их из общей массы микроорганизмов: фильтруемость и неспособность размножаться на всех искусственных питательных средах. Позже выяснилось, что эти свойства не абсолютны, так как были обнаружены фильтрующиеся

(L) формы бактерий и микоплазмы, растущие на искусственных питательных средах, по размерам приближающиеся к наиболее крупным вирусам (вирусы оспы человека и животных).

Внутриклеточный паразитизм вирусов также оказался не абсолютным критерием, отграничивающим их от остальных микроорганизмов. Внутриклеточными паразитами являются не только вирусы, но и некоторые бактерии (гонококки, менингококки) и простейшие (малярийный плазмодий). С развитием знаний о вирусах были найдены более надежные критерии, например существование у вирусов только одной из двух нуклеиновых кислот, в то время как у всех других микроорганизмов имеются обе нуклеиновые кислоты — дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК).

Другим уникальным свойством вирусов является отсутствие у них собственных белок-синтезирующих систем. Синтез вирусных белков осуществляется белок-синтезирующим аппаратом клетки — клеточными рибосомами, которые связываются с вирусными иРНК. Вирусы вводят в клетку лишь свою генетическую информацию, которая успешно конкурирует с клеточной информацией, несмотря на ничтожно малые размеры вирусных геномов (на 5—6 порядков меньших по молекулярным массам, чем геном эукариотической клетки). Поэтому и уровень паразитизма у вирусов иной, чем у бактерий или простейших: в отличие от внутриклеточного паразитизма последних паразитизм вирусов определяется как генетический паразитизм, а вирусы рассматриваются как генетические паразиты. Ярким примером генетического паразитизма является способность ряда вирусов интегрировать (объединяться) с клеточным геномом. В этом случае вирусные гены превращаются в группу клеточных генов и обозначаются как провирус. Стадия интеграции, помимо умеренных ДНК-содержащих фагов, характерна для онкогенных ДНК-содержащих вирусов и вируса гепатита В. Эта стадия обязательна для большой группы РНК-содержащих вирусов — ретровирусов.

Однако и в том случае, когда интеграции не происходит и вирусный геном находится в автономном состоянии, возникновение инфекции обусловлено конкуренцией вирусного и клеточного геномов.

К уникальным свойствам вируса относится его способ размножения, который резко отличается от способов размножения всех других клеток и организмов (бинарное

деление, почкование, образование спор). Вирусы не растут, и их размножение обозначается как дисъюнктивная (разобшенная) репродукция, что подчеркивает разобщенность в пространстве (на территории клетки) и времени синтеза вирусных компонентов (нуклеиновых кислот и белков) с последующей сборкой и формированием вирионов.

В связи с вышеизложенным не раз возникали дискуссии по поводу того, что же такое вирусы — живое или не живое, организмы или не организмы. Безусловно, вирусы обладают основными свойствами всех других форм жизни — способностью размножаться, наследственностью, изменчивостью, приспособляемостью к условиям внешней среды; они занимают определенную экологическую нишу, на них распространяются законы эволюции органического мира на земле. Поэтому к середине 40-х годов сложилось представление о вирусах как о наиболее простых микроорганизмах. Логическим развитием этих взглядов было введение термина «вирион», обозначающего внеклеточный вирусный индивидуум. Однако с развитием исследований по молекулярной биологии вирусов стали накапливаться факты, противоречащие представлению о вирусах как организмах.

Отсутствие собственных белок-синтезирующих систем, дисъюнктивный способ репродукции, интеграция с клеточным геномом, существование вирусов сателлитов и дефектных вирусов, феноменов множественной реактивации и комплементации — все это мало укладывается в представление о вирусах как организмах. Представление это еще более теряет смысл, когда мы обратимся к вирусоподобным структурам — плазмидам, вириодам и агентам типа возбудителя скрепи.

Плазмиды (другие названия — эписомы, эпивирусы) представляют двунитчатые кольцевые ДНК с молекулярной массой в несколько миллионов, реплицируемые клеткой. Они вначале были обнаружены у прокариотов, и с их существованием связаны разные свойства бактерий, например устойчивость к антибиотикам. Поскольку плазмиды обычно не связаны с бактериальной хромосомой (хотя многие из них способны к интеграции), их считают экстрахромосомными факторами наследственности.

Плазмиды были обнаружены и у эукариотов (дрожжей и других грибов), более того, обычные вирусы высших животных также могут существовать в виде плазмид, т. е. кольцевых ДНК, лишенных собственных белков и репли-

цируемых клеточными ферментами синтеза ДНК. В частности, в виде плазмид могут существовать вирусы папилломы коров, обезьяний вирус 40 (SV40). При персистенции вируса герпеса в культуре клеток могут образовываться плазмиды — кольцевые ДНК, составляющие лишь часть генома этого вируса.

К вирусам примыкают вириоды — агенты, открытые Т. О. Дайнером в 1972 г., вызывающие заболевания некоторых растений и способные передаваться как обычные инфекционные вирусы. При их изучении оказалось, что это сравнительно небольшие по размерам молекулы кольцевой суперспирализованной РНК, состоящие из немногих, 300—400 нуклеотидов. Механизм репликации вириодов не вполне ясен.

Наконец, следует упомянуть об агенте скрепи — возбудителе подострой трансмиссивной губкообразной энцефалопатии овец. Вероятно, сходные агенты вызывают и другие формы губкообразных энцефалопатий животных и человека, в основе которых лежит прогрессирующее разрушение нервных клеток, в результате чего мозг приобретает губчатую (спонгиозную) структуру. Агент скрепи имеет белковую природу и даже получил специальное название — прион (от слов proteinaceous infectious particle — белковая инфекционная частица). Предполагается, что этот белок является одновременно и индуктором и продуктом какого-то клеточного гена, ставшего автономным и ускользнувшего от регуляции («взбесившийся ген»).

Все вирусы, включая сателлиты и дефектные вирусы, плазмиды, вириоды и даже агенты скрепи (их гены), имеют нечто общее, их объединяющее. Все они являются автономными генетическими структурами, способными функционировать и репродуцироваться в восприимчивых к ним клетках животных, растений, простейших, грибов, бактерий. По-видимому, это наиболее общее определение, позволяющее очертить царство вирусов. На основании сформулированного определения вирусы, не будучи организмами, тем не менее являются своеобразной формой жизни и поэтому подчиняются законам эволюции органического мира на земле.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ВИРУСОВ

По вопросу о происхождении вирусов высказывались разные предположения. Одни авторы считали, что вирусы

являются результатом крайнего проявления регрессивной эволюции бактерий или других одноклеточных организмов. Гипотеза регрессивной эволюции не может объяснить разнообразия генетического материала у вирусов, неклеточной их организации, дисъюнктивного способа репродукции и отсутствия белок-синтезирующих систем. Поэтому в настоящее время эта гипотеза имеет скорее историческое значение и не разделяется большинством вирусологов.

Согласно второй гипотезе вирусы являются потомками древних, доклеточных форм жизни — протобионтов, предшествовавших появлению клеточных форм жизни, с которых и началась биологическая эволюция. Эта гипотеза также не разделяется в настоящее время большинством вирусологов, так как она не объясняет тех же вопросов, разрешить которые оказалась бессильной первая гипотеза.

Третья гипотеза предполагает, что вирусы произошли от генетических элементов клеток, ставших автономными, хотя не ясно, какие из этих элементов дали начало столь большому разнообразию генетического материала у вирусов. Эта гипотеза, которую иронически называли гипотезой «взбесившихся генов», находит наибольшее число сторонников, однако не в том первоначальном виде, в каком она была высказана, так как и она не объясняет наличие у вирусов форм генетического материала (однонитчатая ДНК, двунитчатая РНК), отсутствующих в клетках, образование капсида, существование двух форм симметрии и т. п.

Вероятно, вирусы действительно являются дериватами генетических элементов клеток, но они возникали и эволюционировали вместе с возникновением и эволюцией клеточных форм жизни. Природа как бы испробовала на вирусах все возможные формы генетического материала (разные виды РНК и ДНК), прежде чем окончательно остановила свой выбор на канонической его форме — двунитчатой ДНК, общей для всех клеточных форм организмов, начиная от бактерии и кончая человеком. Будучи, с одной стороны, автономными генетическими структурами, с другой стороны, неспособными развиваться вне клеток, вирусы на протяжении миллиардов лет биологической эволюции проделали настолько разнообразные пути развития, что отдельные их группы не имеют преемственной связи между собой. По-видимому, разные группы вирусов возникали в исторически разные времена из разных генети-

ческих элементов клеток и поэтому существующие в настоящее время разные группы вирусов имеют полифилетическое происхождение, т. е. не имеют единого общего предка. Тем не менее, универсальность генетического кода распространяется и на вирусы, свидетельствуя тем самым, что и они являются порождением органического мира земли.

РОЛЬ ВИРУСОВ В ЭВОЛЮЦИИ

Вирусы обычно рассматриваются как паразиты — возбудители инфекционных болезней, наносящих вред человеку, животным, растениям. Однако такой подход нельзя признать правильным. Была высказана гипотеза [Жданов В. М., 1974], согласно которой вирусы являются важным фактором эволюции органического мира. Преодолевая видовые барьеры, вирусы могут переносить отдельные гены или группы генов, а интеграция вирусной ДНК с хромосомами клеток может приводить к тому, что вирусные гены становятся клеточными генами, выполняющими важные функции.

Поскольку вирусы, будучи особыми формами жизни, не являются микроорганизмами, то и вирусология является не разделом микробиологии, а самостоятельной научной дисциплиной, имеющей свой объект изучения и свои методы исследования.

Глава 3. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРУСОВ

Просто организованные вирусы представляют собой нуклеопротеиды или нуклеокапсиды и состоят из нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК) и нескольких кодируемых ею белков, формирующих вирусную оболочку вокруг нуклеиновой кислоты — капсид.

Сложно организованные вирусы содержат дополнительные оболочки, белковые или липопротеидные, и имеют более сложный химический состав. Помимо нуклеиновой кислоты и белков, они содержат липиды в наружных оболочках и углеводы в составе белков наружных оболочек (гликопротеидов). Обычно липиды и углеводы имеют клеточное происхождение. В составе некоторых вирусов обнаруживаются также клеточные нуклеиновые кислоты и белки.

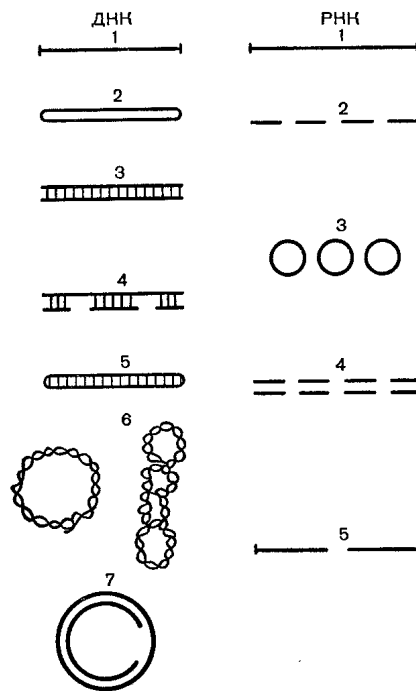


Рис. 1. Типы молекул вирусных ДНК и РНК.

ДНК: 1— парвовирусов; 2— фага Х174; 3— аденовирусов; 4— вирусов герпеса; 5— фага Т5; 6— папавирусов; 7— вируса гепатита В. РНК: 1— пикорнавирусов, тогавирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов; 2— ортомиксовирусов, аренавирусов; 3— буньявирусов; 4— реовирусов; 5— ретровирусов.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Клетки всех живых организмов содержат два вида нуклеиновой кислоты — ДНК и РНК. ДНК представляет собой двунитчатую молекулу, а РНК — однонитчатую. Двунитчатая ДНК — это клеточный геном, выполняющий функции хранения и репликации наследственной информации. Однонитчатая РНК представлена 3 классами молекул: 1) информационные РНК (иРНК), образующиеся в результате транскрипции генома и передающие заложенную в геноме информацию на белок-синтезирующий аппарат клетки; 2) рибосомальные РНК, являющиеся структурным элементом рибосомы; 3) тРНК, доставляющие аминокислоты к белок-синтезирующему аппарату.

В отличие от клеток вирусы содержат лишь один вид нуклеиновой кислоты — либо РНК, либо ДНК. И та, и другая может быть хранителем наследственной информации, выполняя таким образом функции генома.

Вирусные нуклеиновые кислоты характеризуются поразительным разнообразием форм. Вирусный геном может быть представлен как однонитчатыми, так и двунитчатыми молекулами РНК и ДНК. ДНК может быть как линейной, так и кольцевой молекулой (табл. 1), РНК — как непрерывной, так и фрагментированной и кольцевой молекулой (табл. 2, рис. 1).

Таблица 1. Типы молекул вирусных ДНК

Вирусы	Тип ДНК
Парвовирусы фХ174 и другие фаги Аденовирусы, вирусы герпеса фаг Т7 и другие фаги Фаг Т5	Линейная однонитчатая Кольцевая однонитчатая Линейная двунитчатая
Вирусы оспы	Линейная двунитчатая с разрывами в одной цепи Двунитчатая с замкнутыми концами
Папавирусы, фаг RM2, вирус мозаики цветной капусты Вирус гепатита В	Двунитчатая кольцевая со сверхвитками или без них Двунитчатая кольцевая с однонитчатым участком

Таблица 2. Типы молекул вирусных РНК

Вирусы	Тип РНК
Пикорнавирусы, тогавирусы, парамиксовирусы, рабдовирусы Ортомиксовирусы, аренавирусы, вирус мозаики, коства Буньявирусы	Линейная однонитчатая Фрагментированная однонитчатая Фрагментированная однонитчатая кольцевая Фрагментированная двунитчатая
Реовирусы, вирус раневых опухолей растений, вирус цитоплазматического полиэдроса насекомых Ретровирусы	Линейная однонитчатая, диплоидный геном

Вирусные ДНК

Молекулярная масса вирусных ДНК варьирует в широких пределах от $1 \cdot 10^6$ до $250 \cdot 10^6$ (табл. 3). Самые большие вирусные геномы содержат несколько сотен генов, а самые маленькие содержат информацию, достаточную для синтеза лишь нескольких белков.

В геномах, представленных двунитчатыми ДНК, информация обычно закодирована на обеих нитях ДНК. Это свидетельствует о максимальной экономии генетического материала у вирусов, что является неотъемлемым свойством их как генетических паразитов. В связи с этим оценка генетической информации не может быть проведена по молекулярной массе молекул.

Таблица 3. Молекулярная масса и тип ДНК некоторых вирусов животных

Вирус	Тип ДНК	Молекулярная масса	Примерное число нуклеотидов или их пар
Парвовирусы	Однонитчатая линейная	$1,5 \cdot 10^6$ — $2,2 \cdot 10^6$	4500
Вирус гепатита В	Двунитчатая кольцевая с однонитчатым фрагментом	$1,6 \cdot 10^6$	3150
Паповавирусы	Двунитчатая кольцевая сверхспирализованная	$3 \cdot 10^6$ — $5 \cdot 10^6$	4500
Аденовирусы	Двунитчатая линейная	$20 \cdot 10^6$ — $30 \cdot 10^6$	35 000
Вирусы герпеса	Двунитчатая линейная	$90 \cdot 10^6$ — $130 \cdot 10^6$	150 000
Иридовирусы	Двунитчатая линейная	$100 \cdot 10^6$ — $250 \cdot 10^6$	150 000
Вирусы оспы	Двунитчатая с замкнутыми концами	$85 \cdot 10^6$ — $240 \cdot 10^6$	230 000

Хотя в основном структура ДНК уникальна, т. е. большинство нуклеотидных последовательностей встречаются лишь по одному разу, однако на концах молекул имеются повторы, когда в концевом фрагменте линейной ДНК повторяется ее начальный участок. Повторы могут быть прямыми и инвертированными.

Способность к приобретению кольцевой формы, которая потенциально заложена в концевых прямых и инвертированных повторах, имеет большое значение для вирусов. Кольцевая форма обеспечивает устойчивость ДНК к экзонуклеазам. Стадия образования кольцевой формы обязательна для процесса интеграции ДНК с клеточным геномом. Наконец, кольцевые формы представляют собой удобный и эффективный способ регуляции транскрипции и репликации ДНК.

В составе вирионов, содержащих однонитчатую ДНК, обычно содержатся молекулы ДНК одной полярности. Исключение составляют аденоассоциированные вирусы, вирионы которых содержат ДНК либо одной полярности (условно называемой «плюс»), либо ДНК с противоположным знаком (условно — «минус»). Поэтому тотальный препарат вируса состоит из двух типов частиц, содержащих по одной молекуле «плюс»- или «минус»-ДНК.

Инфекционный процесс при заражении этими вирусами возникает лишь при проникновении в клетку частиц обоих типов.

Вирусные РНК

Из нескольких сотен известных в настоящее время вирусов человека и животных РНК-геном содержит около 80% вирусов. Способность РНК хранить наследственную информацию является уникальной особенностью вируса.

У просто организованных и некоторых сложно организованных вирусов вирусная РНК в отсутствие белка может вызвать инфекционный процесс. Впервые инфекционная активность РНК вируса табачной мозаики была продемонстрирована Х. Френкель-Конратом и соавт. в 1957 г. и А. Гирером и Г. Шраммом в 1958 г. Впоследствии положение об инфекционной активности РНК было перенесено на все РНК-содержащие вирусы, однако долгие усилия доказать это для таких вирусов, как вирусы гриппа, парамиксовирусы, рабдовирусы (так называемые минус-нитевые вирусы), оказались бесплодными: у этих вирусов инфекционной структурой являются не РНК, а комплекс РНК с внутренними белками. Таким образом, геномная РНК может обладать инфекционной активностью в зависимости от своей структуры.

Структура вирусных РНК чрезвычайно разнообразна. У вирусов обнаружены однонитчатые и двунитчатые, линейные, фрагментированные и кольцевые РНК (см. табл. 2). РНК-геном в основном является гаплоидным, но геном ретровирусов — диплоидный, т. е. состоит из двух идентичных молекул РНК.

Однонитчатые РНК. Молекулы однонитчатых вирусных РНК существуют в форме одиночной полинуклеотидной цепи со спирализованными ДНК-подобными участками. При этом некомплементарные нуклеотиды, разделяющие комплементарные участки, могут выводиться из состава спирализованных участков в форме различных «петель» и «выступов» (рис. 2). Суммарный процент спирализации вирусных РНК не обнаруживает каких-либо особенностей по сравнению с таковыми у клеточных РНК.

Вирусы, содержащие однонитчатые РНК, делятся на две группы. У вирусов первой группы вирусный геном обладает функциями информационной РНК, т. е. может непосредственно переносить закодированную в нем информацию на рибосомы. По предложению Д. Балтимора

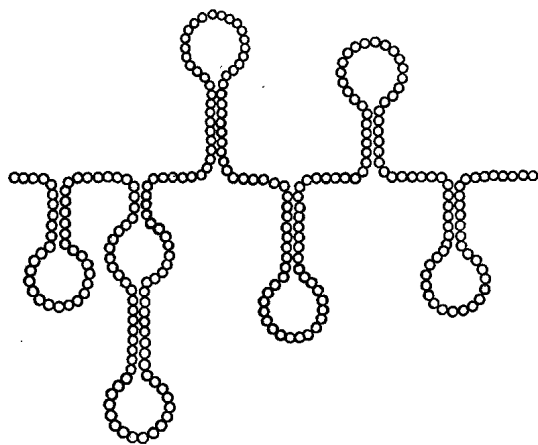


Рис. 2. Вторичная структура вирусных РНК (схема).

(1971), РНК со свойствами информационной условно обозначена знаком «плюс» и в связи с этим вирусы, содержащие такие РНК (пикорнавирусы, тогавирусы, коронавирусы, ретровирусы), обозначены как «плюс-нитевые» вирусы, или вирусы с позитивным геномом.

Вторая группа РНК-содержащих вирусов содержит геном в виде однонитчатой РНК, которая сама не обладает функциями иРНК. В этом случае функцию иРНК выполняет РНК, комплементарная геному. Синтез этой РНК (транскрипция) осуществляется в зараженной клетке на матрице геномной РНК с помощью вирусспецифического фермента — транскриптазы. В составе «минус-нитевых» вирусов обязательно присутствие собственного фермента, осуществляющего транскрипцию геномной РНК и синтез иРНК, так как аналога такого фермента в клетках нет. Геном этих вирусов условно обозначают как «минус-РНК», а вирусы этой группы как «минус-нитевые» вирусы, или вирусы с негативным геномом. К этим вирусам относятся ортомиксовирусы, парамиксовирусы, буньявирусы, рабдовирусы. РНК этих вирусов не способна вызвать инфекционный процесс.

В соответствии с разными свойствами вирусных РНК между двумя группами вирусов есть и структурные различия. Поскольку РНК «плюс-нитевых» вирусов выполняет функцию иРНК, она имеет специфические структурные особенности, характерные для 5'- и 3'-концов этих РНК.

5'-Конец клеточных и вирусных РНК обычно имеет структуру так называемой шапочки (по-английски «cap»):



где m^7G представляет собой 7-метилгуанин, присоединенный через пирофосфатную связь к гуаниловому нуклеотиду, сахарный остаток которого также метилирован по второму углеродному атому. На 3'-конце информационных РНК имеются поли(А), количество которых достигает 200 и выше. Эти модификации концов иРНК, осуществляемые после синтеза полинуклеотидной цепи, имеют существенное значение для функции иРНК: «шапочка» нужна для специфического узнавания иРНК рибосомами, функции поли(А) менее точно определены и, по-видимому, заключаются в придании стабильности молекулам иРНК.

Таковыми же модифицированными концами обладают геномные РНК «плюс-нитевых» вирусов. Исключение составляет 5'-конец геномной РНК вируса полиомиелита, которая не содержит «шапочку», и вместо нее имеет на 5'-конце ковалентно присоединенный к остатку урацила низкомолекулярный терминальный белок. Геномные РНК «минус-нитевых» вирусов не имеют ни «шапочки», ни поли(А); модифицированные концы характерны для иРНК этих вирусов, синтезирующихся в клетке на матрице вирусной РНК и комплементарных ей. Геномная РНК ретровирусов, хотя и является «плюс-нитевой», однако не содержит «шапочку»; эту структуру содержит гомологичная РНК, синтезируемая на матрице интегрированной провирусной ДНК.

Существуют вирусы, содержащие как «плюс-нитевые», так и «минус-нитевые» РНК гены (амбисенс-вирусы). К ним относятся аренавирусы.

В основном однонитчатые РНК являются линейными молекулами, однако РНК-фрагменты буньявирусов обнаружены в виде кольцевой формы. Кольцевая форма возникает за счет образования водородных связей между концами молекул.

Двунитчатые РНК. Этот необычный для клетки тип нуклеиновой кислоты, впервые обнаруженный у реовирусов, широко распространен среди вирусов животных, растений и бактерий. Вирусы, содержащие подобный геном, называют диплорнавирусы.

Общей особенностью диплорнавирусов является фрагментированное состояние генома. Так, геном реовирусов

состоит из 10 фрагментов, ротавирусов — из 11 фрагментов.

Размеры РНК ряда вирусов животных приведены в табл. 4. Как видно, молекулярная масса РНК варьирует в широких пределах.

БЕЛКИ

В зараженной клетке вирусный геном кодирует синтез двух групп белков: 1) структурных, которые входят в состав вирусных частиц потомства, и 2) неструктурных, которые обслуживают процесс внутриклеточной репродукции вируса на разных его этапах, но в состав вирусных частиц не входят.

Структурные белки. Количество структурных белков в составе вирусной частицы варьирует в широких пределах в зависимости от сложности организации вириона. Наиболее просто организованный вирус табачной мозаики содержит всего один небольшой белок с молекулярной массой $17-18 \cdot 10^3$, некоторые фаги содержат $2-3$ белка, просто организованные вирусы животных — $3-4$ белка. Сложно устроенные вирусы, такие как вирусы оспы, содержат более 30 структурных белков.

Структурные белки делятся на 2 группы:

1) капсидные белки, образующие капсид, т. е. футляр для нуклеиновой кислоты вируса (от лат. capsula — сосуд, капсула), и входящие в состав капсида геномные белки, и ферменты;

2) суперкапсидные белки, входящие в состав суперкапсида, т. е. наружной вирусной оболочки.

Поскольку суперкапсид называют также «пеплос» (от греч. perlos — покров, мантия), эти белки называют пепломерами.

Просто организованные вирусы, представляющие собой нуклеокапсид, содержат только капсидные белки. Сложно организованные вирусы содержат капсидные и суперкапсидные белки.

Капсидные белки. Первоначальное представление о том, что капсидные белки являются всего лишь инертной оболочкой для вирусной нуклеиновой кислоты, сложилось на основании изучения наиболее просто организованного вируса табачной мозаики, частица которого состоит из одной молекулы РНК и одного типа белка, образующего чехол для РНК. Однако такое представление неправильно. Хотя основной функцией капсидных белков

Таблица 4. Структура и молекулярная масса РНК-геномов вирусов животных

Семейство	Структура	Информационные функции	Наличие «шапочки» на 5'-конце	Молекулярная масса
Пикорнавирусы	Линейная односторонняя	«Плюс-нитевая»	+	$2,7 \cdot 10^6$
Тогавирусы	Линейная односторонняя	»	+	$4 \cdot 10^6$
Парамиксовирусы	Линейная односторонняя	«Минус-нитевая»	+	$5 \cdot 5 \cdot 10^6 - 7,5 \cdot 10^6$
Рабдовирусы	Линейная односторонняя	»	+	$3,8 \cdot 10^6 - 4,5 \cdot 10^6$
Ортомиксовирусы	Фрагментированная (8 уникальных фрагментов)	»	+	От $0,2 \cdot 10^6$ до $1 \cdot 10^6$, всего $5 \cdot 10^6$
Буньявирусы	Фрагментированная односторонняя кольцевая (3 уникальных фрагмента L, M, S)	»	+	$L 3 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$ $M 1 \cdot 10^6 - 2 \cdot 10^6$ $S 0,4 \cdot 10^6 - 0,8 \cdot 10^6$
Ареновирусы	Фрагментированная односторонняя кольцевая и линейная формы; 2 вирус-специфических фрагмента L и S;	«Амбисенс»	+	$L 2,1 \cdot 10^6 - 3,2 \cdot 10^6$ $S 1,1 \cdot 10^6 - 1,6 \cdot 10^6$
Реовирусы	Фрагментированная двусторонняя (10—12 уникальных фрагментов)	—	+	От $0,2 \cdot 10^6$ до $3 \cdot 10^6$
Ретровирусы	Односторонняя, 2 идентичные молекулы	«Плюс-нитевая», в составе внутриклеточной формы	+	По $3 \cdot 10^6$, всего $6 \cdot 10^6 - 7 \cdot 10^6$

является функция защиты вирусного генома от неблагоприятных воздействий внешней среды, у многих вирусов в составе капсида есть белки и с другими функциями. Поэтому термин «капсид» далеко выходит за пределы представления о нем как о футляре или чехле для вирусной нуклеиновой кислоты.

В составе капсида некоторых вирусов (пикорнавирусы, паповавирусы, аденовирусы) содержатся белки, ковалентно связанные с вирусным геномом (геномные белки). Эти белки являются терминальными, т. е. соединенными с концом вирусной нуклеиновой кислоты. Функции их неразрывно связаны с функциями генома и их регуляцией.

У ряда сложно организованных вирусов в составе капсида имеются ферменты, осуществляющие транскрипцию и репликацию вирусного генома — РНК и ДНК (РНК- и ДНК-полимеразы), а также ферменты, модифицирующие концы иРНК. Если ферменты и геномные белки представлены единичными молекулами, то капсидные белки представлены множественными молекулами. Эти белки и формируют капсидную оболочку, в которую у сложно организованных вирусов вставлены молекулы белков с другими функциями.

Основным принципом строения капсидной оболочки вирусов является принцип субъединичности, т. е. построение капсидной оболочки из субъединиц-капсомеров, образованных идентичными полипептидными цепями. Правильно построенные белковые субъединицы — капсомеры возникают благодаря способности вирусных капсидных белков к самосборке. Самосборка объясняется тем, что упорядоченная структура — капсид имеет наименьшую свободную энергию по сравнению с неупорядоченными белковыми молекулами. Сборка капсидной оболочки из субъединиц запрограммирована в первичной структуре белка и происходит самопроизвольно или при взаимодействии с нуклеиновой кислотой.

Принцип субъединичности в строении вирусного капсида является универсальным свойством капсидных белков и имеет огромное значение для вирусов. Благодаря этому свойству достигается огромная экономия генетического материала. Если бы капсидная оболочка была построена из разных белков, то на кодирование ее потребовалась бы основная часть генетической информации, заложенной в вирусном геноме. В действительности на кодирование, например, одной полипептидной цепи вируса табачной

мозаики, расходуется менее 10% генома. Далее, в механизме самосборки заложена возможность контроля за полноценностью вирусных полипептидов: дефектные и чужеродные полипептидные цепи при таком способе сборки вирионов будут автоматически отбрасываться.

Описанная способность к самосборке в пробирке и в зараженной клетке характерна только для простых вирусов. Сборка сложно организованных вирусов является гораздо более сложным многоступенчатым процессом, хотя отдельные ее этапы, например формирование капсидов и нуклеокапсидов, также основаны на самосборке.

Суперкапсидные белки. Гликопротеиды. Суперкапсидные белки, или пепломеры, располагаются в липопротеидной оболочке (суперкапсиде или пеплосе) сложно устроенных вирусов. Они либо пронизывают насквозь липидный бислой как, например, гликопротеиды альфа-вирусов (вируса леса Семлики), либо не доходят до внутренней поверхности. Эти белки являются типичными внутримембранными белками и имеют много общего с клеточными мембранными белками. Как и последние, суперкапсидные белки обычно гликозилированы. Углеводные цепочки прикреплены к молекуле полипептида в определенных участках. Гликозилирование осуществляют клеточные ферменты, поэтому один и тот же вирус, продуцируемый разными видами клеток, может иметь разные углеводные остатки: может варьировать как состав углеводов, так и длина углеводной цепочки и место прикрепления ее к полипептидному остову.

У большинства вирусов гликопротеиды формируют «шипы» на поверхности вирусной частицы, длина которых достигает 7—10 нм. Шипы представляют собой морфологические субъединицы, построенные из нескольких молекул одного и того же белка. Вирусы гриппа имеют два типа шипов, построенных соответственно из гемагглютини-на и нейраминидазы. Парамиксовирусы также имеют два типа шипов, построенных соответственно из двух гликопротеидов (HN и F), рабдовирусы имеют только один гликопротеид и, соответственно, один тип шипов, а альфа-вирусы имеют два или три гликопротеида, формирующих один тип шипов.

Гликопротеиды являются амфипатическими молекулами: они состоят из наружной, гидрофильной части, которая содержит на конце аминогруппу (N-конец), и погруженной в липидный бислой, гидрофобной части, которая содержит на погруженном конце гидроксильную группу

(С-конец). С-концом полипептид «заякоривается» в липидном бислое. Есть, однако, и исключения из этого общего положения: нейраминидаза вируса гриппа взаимодействует с липидным бислоем не С-, а N-концом.

Основной функцией гликопротеидов является взаимодействие со специфическими рецепторами клеточной поверхности. Благодаря этим белкам осуществляется распознавание специфических клеточных рецепторов и прикрепление к ним вирусной частицы, т. е. адсорбция вируса на клетке. Поэтому гликопротеиды, выполняющие эту функцию, называют вирусными прикрепительными белками.

Другой функцией гликопротеидов является участие в слиянии вирусной и клеточной мембран, т. е. в событии, ведущем к проникновению вирусных частиц в клетку. Вирусные белки слияния ответственны за такие процессы, как гемолиз и слияние плазматических мембран соседних клеток, приводящие к образованию гигантских клеток, синцитиев и симпластов.

«Адресная функция» вирусных белков. Вирусы вызывают инфекционный процесс у относительно небольшого круга хозяев. Вирус должен «узнать» чувствительную клетку, которая сможет обеспечить продукцию полноценного вирусного потомства. Если бы вирус проник в любую клетку, которая встретила на его пути, это привело бы к исчезновению вирусов в результате деструкции «родительской» вирусной частицы и отсутствия вирусного потомства. В процессе эволюции у вирусов вырабатывалась так называемая адресная функция, т. е. поиск чувствительного хозяина среди бесконечного числа нечувствительных клеток. Эта функция реализуется путем наличия специальных белков на поверхности вирусной частицы, которые узнают специфический рецептор на поверхности чувствительной клетки.

Неструктурные белки. Неструктурные белки изучены гораздо хуже, чем структурные, поскольку их выделяют не из очищенных препаратов вирусов, а из зараженных клеток, и возникают трудности в их идентификации и очистке от клеточных белков.

К неструктурным белкам относятся:

1) предшественники вирусных белков, которые отличаются от других неструктурных белков нестабильностью в зараженной клетке в результате быстрого нарезания на структурные белки;

2) ферменты синтеза РНК и ДНК (РНК- и ДНК-

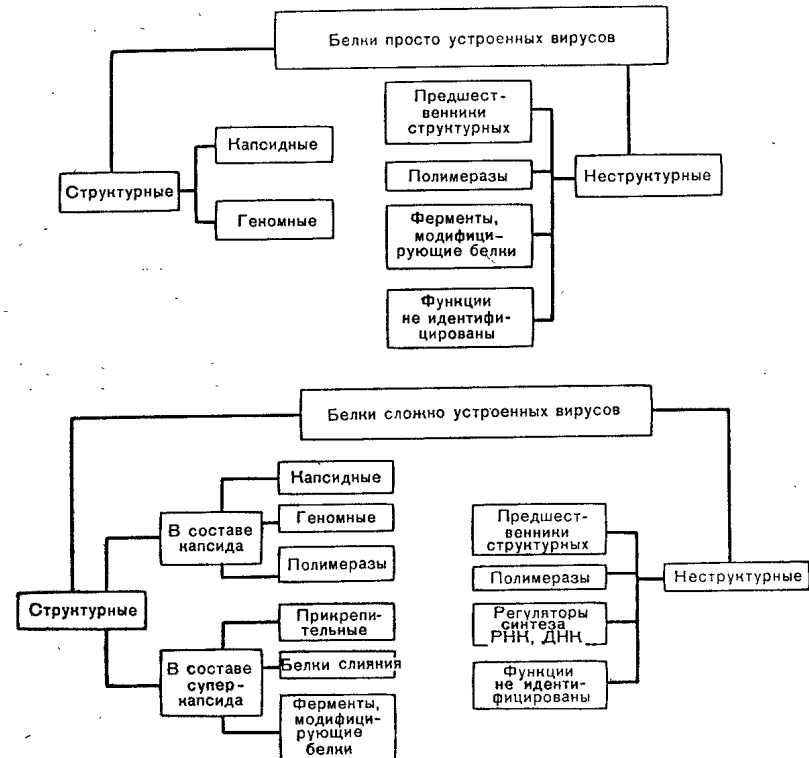
полимеразы), обеспечивающие транскрипцию и репликацию вирусного генома;

3) белки-регуляторы;

4) ферменты, модифицирующие вирусные белки, например протеиназы и протеинкиназы.

Однако многие неструктурные белки при ряде вирусных инфекций еще не идентифицированы и функции их не определены. Типы структурных и неструктурных белков просто и сложно устроенных вирусов и их функции показаны на схеме 1.

Схема 1. Белки просто и сложно устроенных вирусов.



ЛИПИДЫ

Липиды обнаружены у сложно организованных вирусов и в основном находятся в составе липопротеидной оболочки (суперкапсида), формируя ее липидной бислоем, в который вставлены суперкапсидные белки.

Все сложно организованные РНК-содержащие вирусы имеют в своем составе значительное количество липидов (от 15 до 35% от сухого веса). Из ДНК-содержащих вирусов липиды содержат вирусы оспы, герпеса и гепатита В (табл. 5). Примерно 50—60% липидов в составе вирусов представлено фосфолипидами, 20—30% составляет холестерин.

Таблица 5. Процентное содержание липидов и гликопротеидов в составе вирусов животных (процент сухой массы на вирион)

Вирусы	Процентное содержание	
	липиды	гликопротеиды
ДНК-содержащие		
Парвовирусы	—	—
Паповавирусы	—	—
Аденовирусы	—	?
Вирусы герпеса	?	?
Вирусы оспы	4	3
Вирус гепатита В	30 в HBs-антигене	3,6—6,5 в HBs-антигене
РНК-содержащие		
Пикорнавирусы	—	—
Ортомиксовирусы	18—37	5—9
Парамиксовирусы	20—25	6
Рабдовирусы	15—25	3
Тогавирусы		
Альфа-вирусы	27—31	6,4
Флавивирусы	?	?
Ретровирусы	35	3,5
Коронавирусы	?	?
Буньявирусы	33	7
Аренавирусы	?	?
Реовирусы	—	?

Липидный компонент стабилизирует структуру вирусной частицы. Экстракция липидов органическими растворителями, обработка вирусной частицы детергентами или липазами приводит к деградации вирусной частицы и потере инфекционной активности.

Вирусы, содержащие липопротеидную мембрану, формируются путем почкования на плазматической мембране клеток (или на мембранах эндоплазматической сети с выходом во внутриклеточные вакуоли). Поэтому липопротеидная оболочка этих вирусов представляет собой мембрану клетки-хозяина, модифицированную за счет наличия на ее наружной поверхности вирусных суперкапсидных белков. Из этого следует, что состав липидов почкующихся вирусов близок к составу липидов клетки-

хозяина. К почкующимся вирусам относятся крупные РНК-содержащие вирусы: ортомиксовирусы, парамиксовирусы, рабдовирусы, тогавирусы, ретровирусы, буньявирусы, аренавирусы, коронавирусы.

В связи с клеточным происхождением липидов общий состав липидной фракции и содержание ее отдельных компонентов у одного и того же вируса могут существенно различаться в зависимости от клетки-хозяина, где происходила репродукция вируса. Наоборот, если разные почкующиеся вирусы репродуцировались в одних и тех же клетках, их липиды оказываются более или менее сходными.

У вирусов оспы и гепатита В липиды имеют иное происхождение, так как эти вирусы не почкуются через плазматическую мембрану. У вирусов оспы липиды не образуют дифференцированной оболочки. Обработка вируса осповакцины эфиром не приводит к потере инфекционной активности или каким-либо структурным изменениям вириона. Липиды вируса гепатита В и его HBs-антигена образуются путем инвагинации мембран эндоплазматической сети. Вирус герпеса формируется путем почкования через ядерную оболочку, поэтому в его составе есть липиды ядерной оболочки.

УГЛЕВОДЫ

Углеводный компонент вирусов находится в составе гликопротеидов. Наличие гликопротеидов у вирусов и их процентное содержание показано в табл. 5. Количество сахаров в составе гликопротеидов может быть достаточно большим, достигая 10—13% от массы вириона. Химическая специфичность их полностью определяется клеточными ферментами, обеспечивающими перенос и присоединение соответствующих сахарных остатков. Обычными сахарными остатками, обнаруживаемыми в вирусных белках, являются фруктоза, сахароза, манноза, галактоза, нейраминная кислота, глюкозамин. Таким образом, подобно липидам, углеводный компонент определяется клеткой-хозяином, благодаря чему один и тот же вирус, выращенный в клетках разных видов, может значительно различаться по составу сахаров в зависимости от специфичности клеточных гликозилтрансфераз.

Углеводный компонент гликопротеидов играет существенную роль в структуре и функции белка. Он является каркасом для локальных участков гликопротеида,

обеспечивая сохранение конформации белковой молекулы, и обуславливает защиту молекулы от протеаз. Возможны и другие функции углеводов, пока достоверно не установленные.

КОМПОНЕНТЫ КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА

В составе вирионов могут находиться компоненты клетки-хозяина. К таким компонентам могут относиться белки и даже целые клеточные структуры. Так, например, в составе ряда оболочечных вирусов может находиться белок цитоскелета актин, в составе папавирусов содержатся клеточные гистоны. Ряд вирусов содержит клеточные ферменты, например протеинкиназы. В составе аренавирусов обнаружены рибосомы.

Клеточные компоненты могут включаться в вирион случайно или закономерно. В некоторых случаях они играют существенную роль в репродукции вируса, как, например, гистоны в репродукции папавирусов.

Глава 4. МОРФОЛОГИЯ, МОРФОГЕНЕЗ И БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИРУСОВ

АРХИТЕКТУРА ВИРИОНОВ

Изучение строения вирионов привело к заключению, что их формирование подчиняется строгим математическим законам построения пространственных структур — от кристаллов до архитектурных сооружений — законам, основанным на образовании структур с наименьшим уровнем свободной энергии. Поэтому понятие «структура вирионов» заменено более точным определением «архитектура вирионов», которое и укоренилось в вирусологии.

Обязательным структурным элементом вирусов является капсид — белковая оболочка, окружающая вирусную нуклеиновую кислоту. Просто устроенные вирусы, такие как пикорнавирусы и парвовирусы, состоят из капсида, окружающего одну молекулу нуклеиновой кислоты. Сложно устроенные вирусы имеют еще дополнительную внешнюю оболочку — суперкапсид. Эта терминология введена Д. Каспаром и А. Клагом в 1962 г.

Морфологическими субъединицами капсида, видимыми в электронный микроскоп, являются капсомеры. Этот термин обычно применяют для изометрических капсидов

с кубическим типом симметрии. Структурными единицами капсида являются белковые субъединицы, состоящие из одной или нескольких молекул белка (рис. 3). Структурная единица вируса табачной мозаики состоит из одной молекулы белка, вируса полиомиелита — из четырех молекул белка.

Существуют два типа строения капсидов вирионов, которые обеспечивают образование структуры с минимумом свободной энергии. В одном случае капсомеры ассоциируются с геном и образуют спиралевидную, винтообразную структуру. Такой тип укладки называется спиральным типом симметрии, а сама структура — нуклеокапсидом.

Такой тип симметрии нуклеокапсида характерен для вирионов табачной мозаики, ортомиксовирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов. Нуклеокапсиды могут быть ригидными, как, например, у парамиксовирусов, или гибкими, если межмолекулярные силы не слишком жестко связывают структурные единицы капсида, как, например, у вируса везикулярного стоматита (рис. 4).

В другом случае капсомеры образуют полое изометрическое тело, в центре которого находится геном. Такая укладка называется кубическим типом симметрии. Последнее означает, что тело является симметрическим в трех взаимно перпендикулярных направлениях (осях симметрии). Изометрические вирусные частицы с кубическим типом симметрии имеют форму геометрической фигуры икосаэдра — многогранника, состоящего обычно из 60 или кратных 60 геометрически идентичных элементов, имеющих 12 вершин, 20 граней, 20 ребер (рис. 5). Если смотреть перпендикулярно плоскости рисунка, то

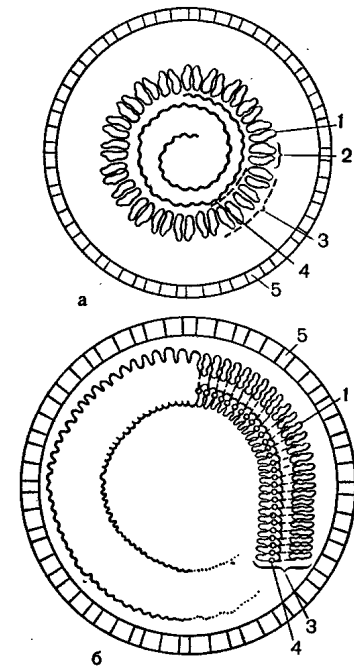


Рис. 3. Кубическая (а) и спиральная (б) симметрия капсидов сложно устроенных вирусов (схема).

1 — структурная единица капсида; 2 — морфологическая единица капсида (капсомер); 3 — капсид; 4 — нуклеиновая кислота; 5 — суперкапсид [Д. Каспар и др., 1962].

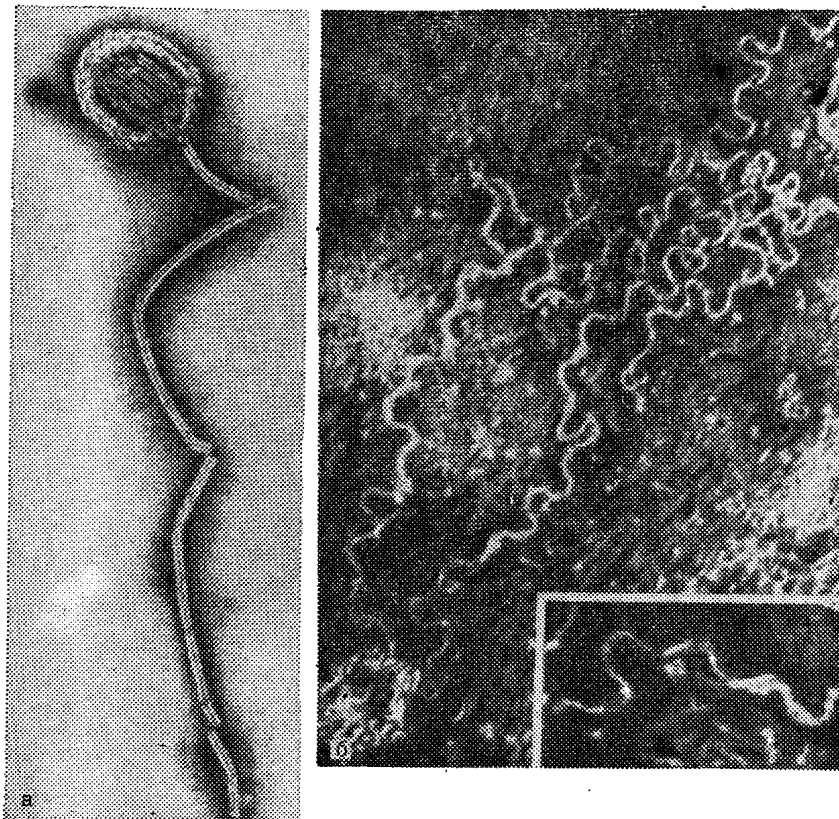
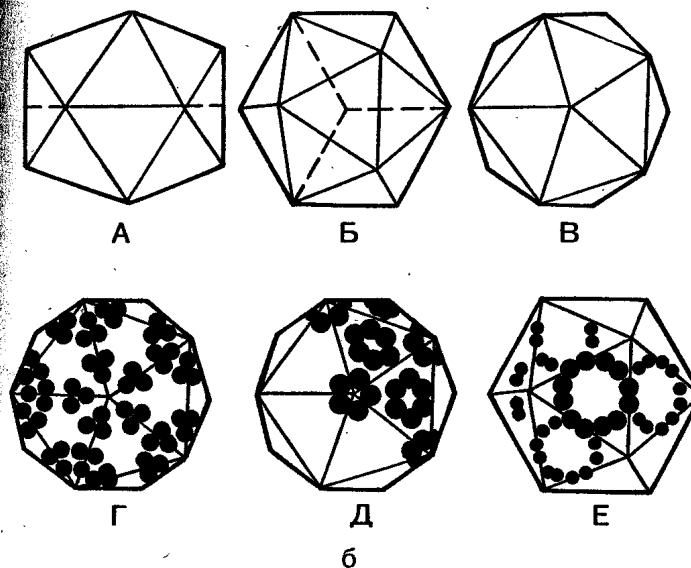
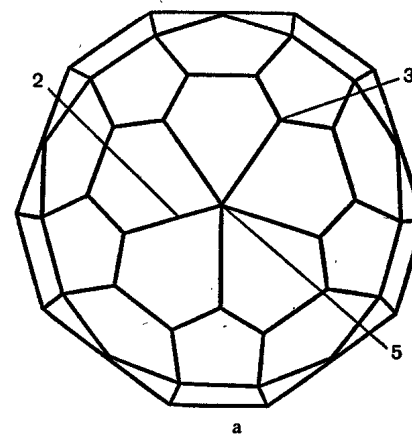


Рис. 4. Типы вирусных нуклеокапсидов (электронно-микроскопическое изображение).
а — вирион парамиксовируса (вирус Сендай) с частично высвобожденным нуклеокапсидом; б — нуклеокапсид вируса везикулярного стоматита.

ось симметрии будет окружена 5 субъединицами, в другом направлении она будет окружена тремя, а в третьем — двумя субъединицами, поэтому симметрию икосаэдра обозначают символом (5, 3, 2). По типу икосаэдра построены многие мелкие вирусы и нуклеокапсиды сложно устроенных вирусов. Например, вирион полиомиелита представляет икосаэдр, состоящий из 60 капсомеров; вирион парвовируса представляет икосаэдр, состоящий из 32 капсомеров. В зараженной клетке икосаэдры изометрических вирусов образуют кристаллоподобные скопления (рис. 6). Многие сложно устроенные вирусы имеют внешнюю липопротеидную оболочку — суперкап-

3. Строение икосаэдра по Шару и А. Клягу (1962) и строение вирусных капсомеров (схема).

Симметрии показаны стрелками: ось симметрии икосаэдра: на них (5) проходит перпендикулярно плоскости рисунка через центр, окруженную пятью капсомерами; б — характеристика икосаэдрической структуры: А — икосаэдр со стороны оси второго порядка; Б — третьего порядка; В — четвертого порядка; Г, Д, Е — различные группировки структурных единиц вирусных капсидов: Г — капсид полиомиелита (20 тримеров); Д — капсид парвовируса (12 пентамеров и 20 гексамеров); Е — капсид калицивируса (димеры треугольных граней и на их ребрах).



сид, представляющую собой липидный бислой со встроенными в него суперкапсидными белками. Форма таких вирионов приближается к сферической. Суперкапсидные белки являются типичными интрамембранными белками и чаще всего представлены гликопротеидами. Гликопротеиды формируют морфологические субъединицы, которые в электронном микроскопе выглядят в виде шипов (рис. 7,а). У ряда тогавирусов шипы имеют палочко-

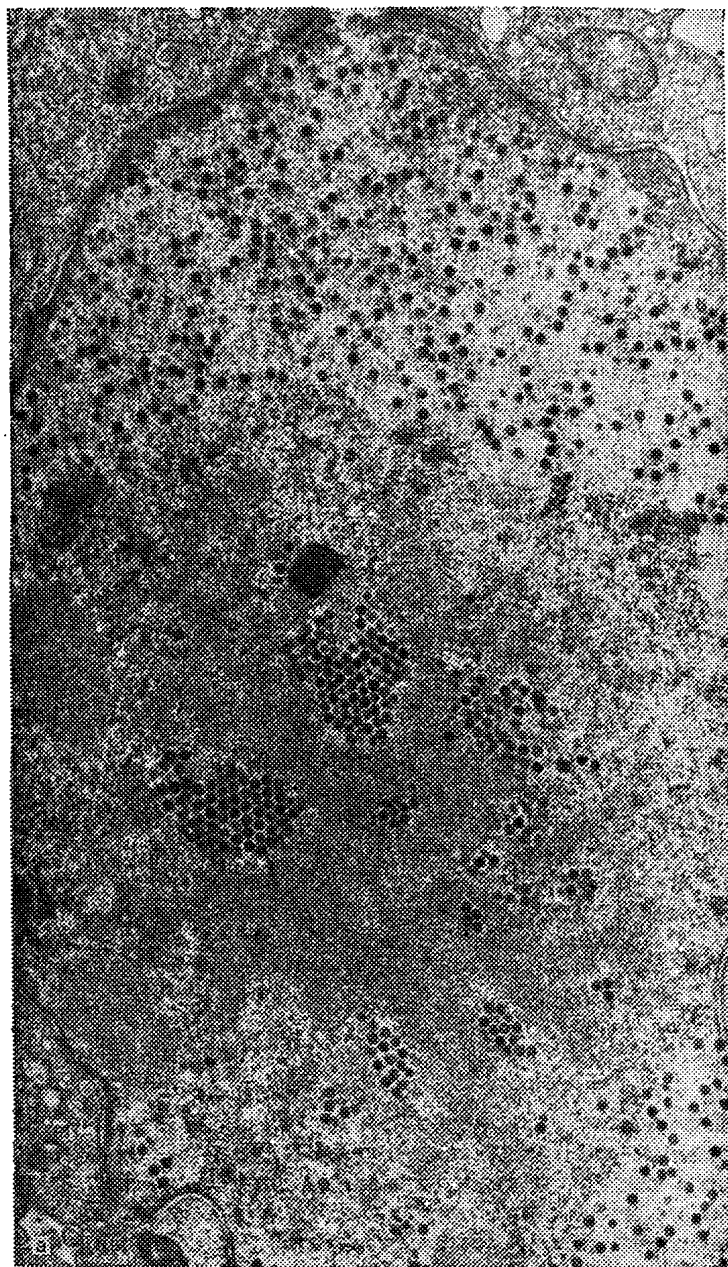
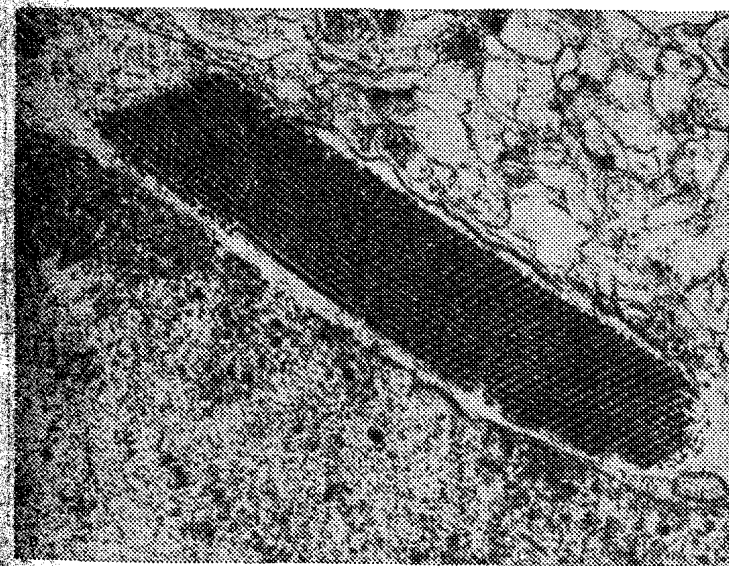
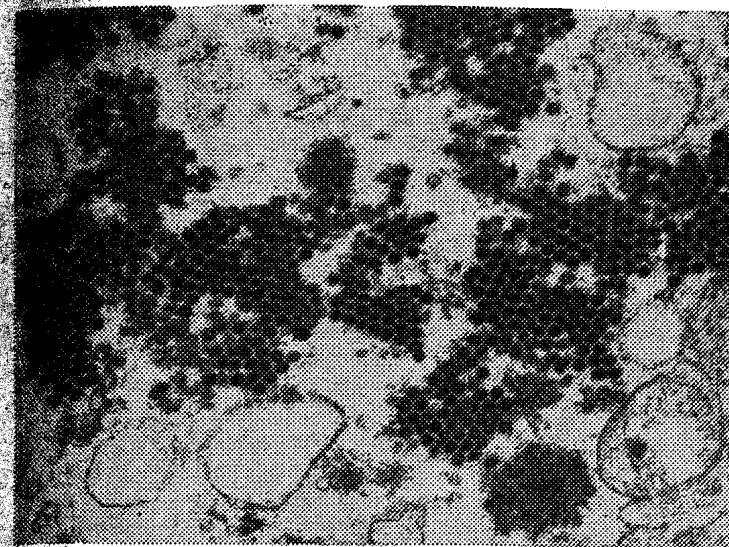


Рис. 6. Кристаллообразные скопления вирионов в зараженных клетках (электронно-микроскопическое изображение).



а — кристаллоподобные скопления аденовирусов в ядре; б — вирионы реовируса в цитоплазме; в — паракристаллические скопления пикорнавирусов в цитоплазме.

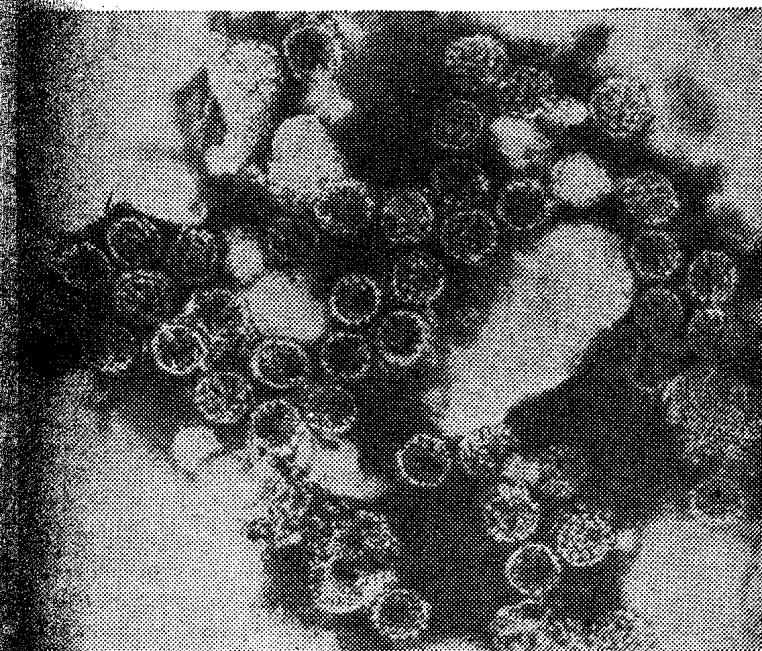
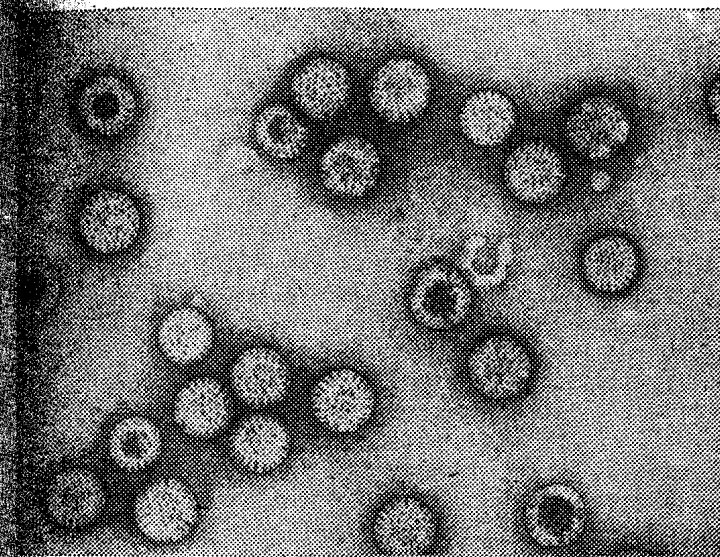
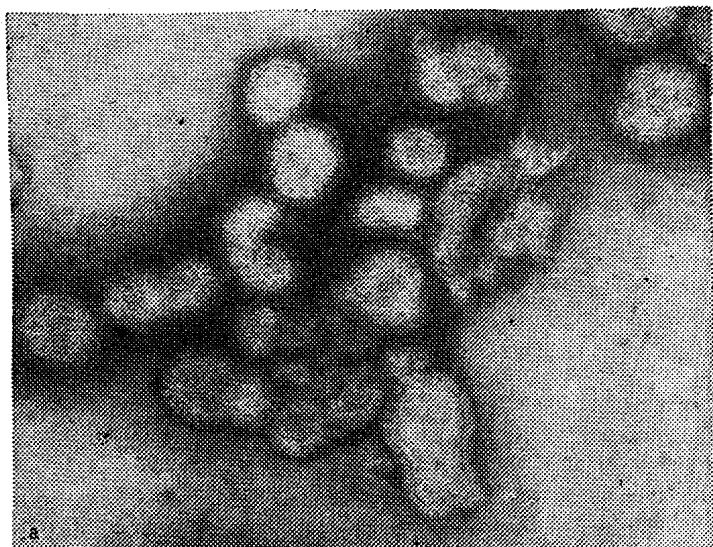
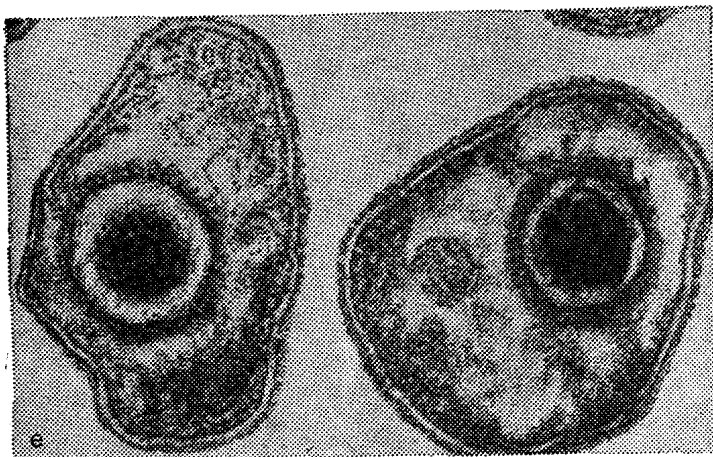
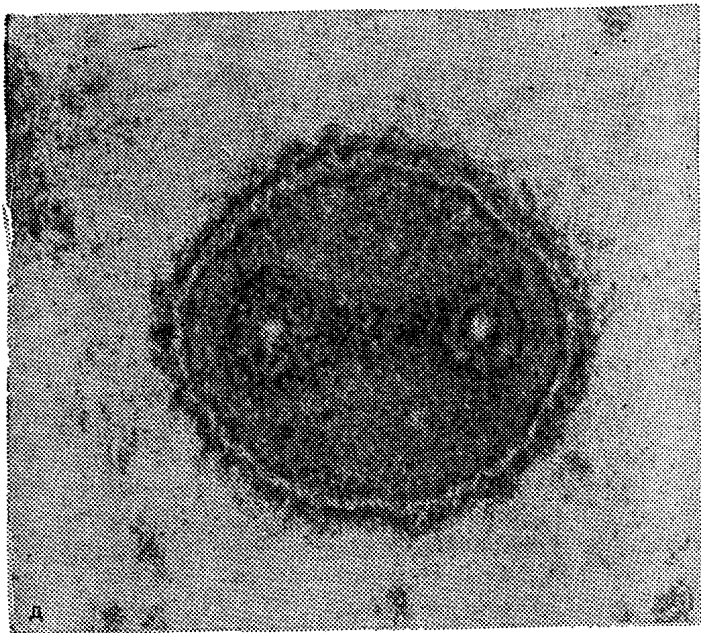


Рис. 7. Электронно-микроскопическое изображение ряда патогенных для человека вирусов.
 а — вирионы гриппа; б — вирионы везикулярного стоматита; в — вирионы ротавируса; г — вирионы реовируса; д — вирион осповакцины; е — вирионы герпеса.



видную форму; у респираторно-синцитиального вируса (семейство парамиксовирусов) — форму бутылки; у коронавирусов — форму солнечной короны; у вируса гриппа шипы, образованные гемагглютинином, имеют палочковидную форму, а шипы, образованные нейраминидазой, — форму барабанной палочки.

Некоторые вирионы, содержащие спиральный нуклео-

капсид, имеют своеобразную форму. Так, вирусы везикулярного стоматита, бешенства и некоторых болезней растений имеют форму винтовочной пули (рис. 7,б). Наружный и внутренний капсиды реовирусов построены по кубическому типу симметрии; оба они образуют как бы два футляра, один из которых вложен во второй (рис. 7, в, г). Капсомеры внутреннего капсида достигают наружного капсида, благодаря чему структура вириона напоминает обод колеса. Особенно четко такая форма выражена у представителей рода ротавирусов.

При недостатке генетического материала и при избыточной продукции белков могут образоваться пустые вирусные частицы, лишенные нуклеиновой кислоты (рис. 7, в, г).

Весьма сложное строение имеют вирионы осповакцины (рис. 7, д). Сердцевина их, содержащая вирусную ДНК в составе нуклеопротеида, имеет форму двояковогнутого кольца и окружена двумя линзообразными латеральными тельцами. Вирус имеет несколько оболочек, из которых наиболее сложное строение имеет наружная оболочка.

У ряда сложно устроенных вирусов капсид окружен дополнительными внутренними структурами (вирусным матриксом), образованными обычно внутренними белками. В этом случае внутренний компонент обозначают как «сердцевина» (core), или нуклеоид.

МОРФОГЕНЕЗ ВИРУСОВ

При внутриклеточной репродукции вирусов формируются структуры, отсутствующие в незараженных вирусом клетках. Эти образования — места синтеза и сборки субвирусных структур (компонентов дочерних вирионов) получили разные наименования — клеточные матриксы, «фабрики», виропласты, включения. Эти структуры являются продуктами кооперативных процессов клетки и вируса, где главенствующая роль принадлежит клетке.

Морфологически матриксы выглядят по-разному у разных вирусов. Обычно это места синтеза белков, и поэтому в матриксах обнаруживаются значительные скопления рибосом (полисомы). В их состав входят также разные клеточные структуры — мембраны, микротрубочки, осmioфильные волокна и т. п. (рис. 8). При этом матриксы претерпевают определенный цикл развития. Если вначале в них преобладают полисомы, то позже появляются субвирусные компоненты, которые можно

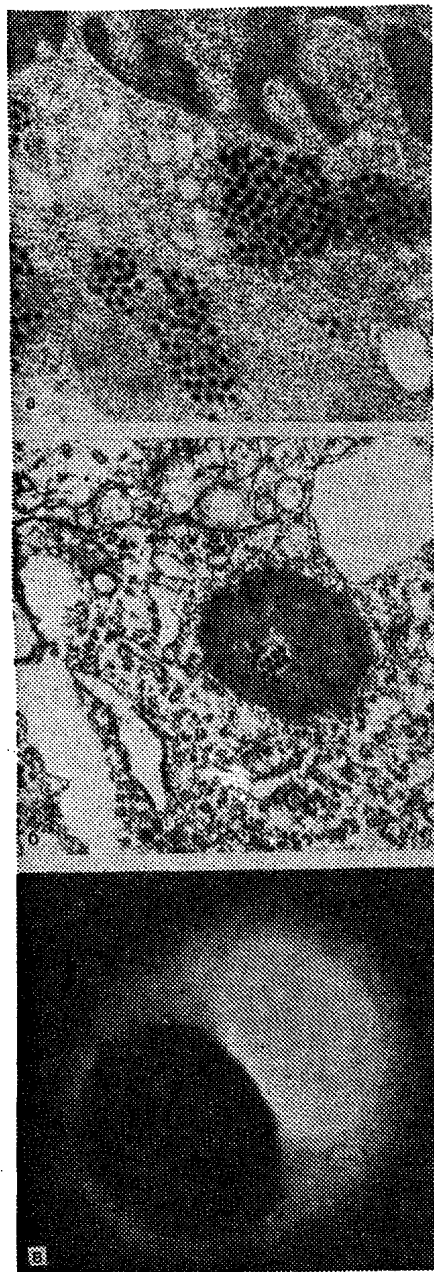


Рис. 8. «Фабрики» репродукции вирусов в цитоплазме зараженных клеток (электронно-микроскопическое изображение).

а — «фабрики» реовируса в культуре клеток почек обезьян; б — «фабрики» орбивируса в глиальной клетке головного мозга мышей-сосунков; в — очаг иммунофлуоресценции в культуре клеток почек человека, зараженной вирусом Сендай.

выявить при использовании серологических методов исследования типа ИФ (рис. 8, в) или ИЭМ, а нередко и при обычной ЭМ. При ряде инфекций матриксы связаны с мембранами эндоплазматической сети, аппаратом Гольджи и другими клеточными структурами, куда транспортируются все вирусные компоненты.

Образования, сходные с цитоплазматическими матриксами, обнаружены также в ядрах, где происходит репродукция большинства ДНК-содержащих вирусов. При окрашивании клеток они имеют вид внутриядерных включений. На поздних стадиях инфекции в матриксах или по соседству с ними накапливается большое число вирионов, часто образующих кристаллоподобные формирования. Внутриядерные кристаллоподобные включения



Рис. 9. Скопление нуклеокапсидов SV5 в цитоплазме (электронно-микроскопическое изображение).

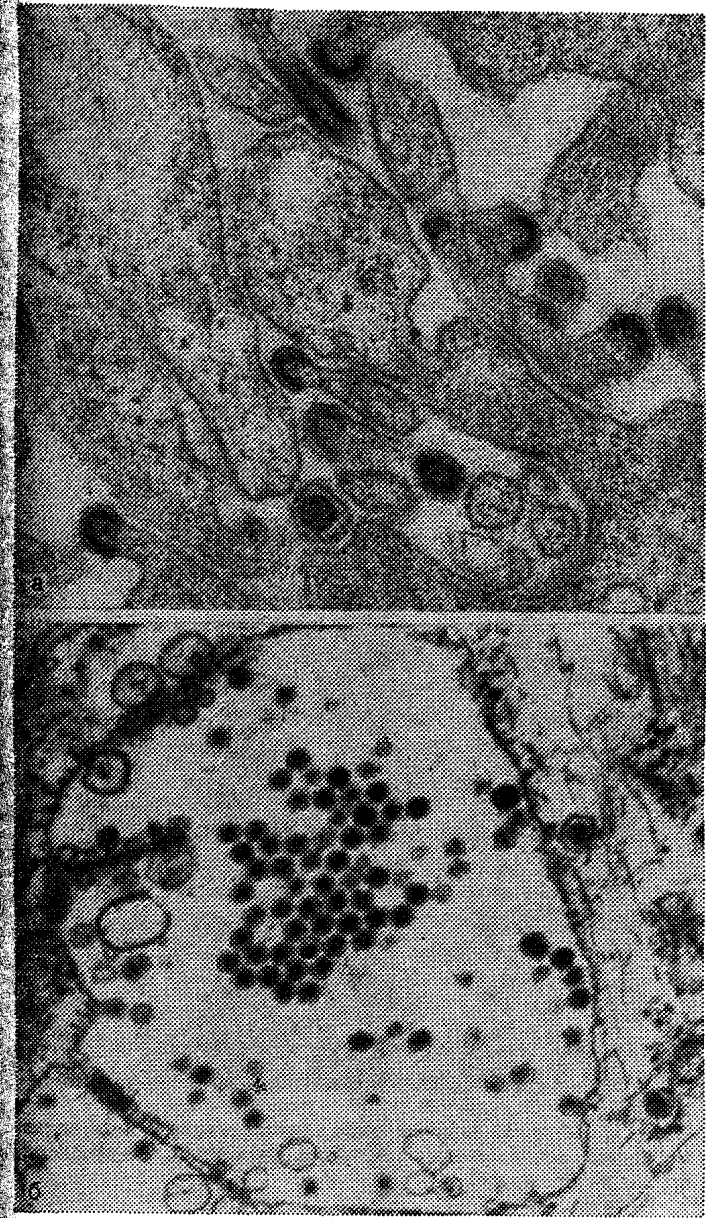
обнаружены, например, у реовирусов, аденовирусов, паппавирусов, парвовирусов. Процесс формирования вирионов у вирусов, имеющих липопротеидные оболочки, значительно более сложен, чем у просто устроенных вирусов, и протекает многоступенчато. Так, например, изометрические нуклеокапсиды вируса герпеса формируются в ядрах и в дальнейшем транспортируются в цитоплазму путем почкования через ядерную мембрану. После этого вирионы транспортируются к аппарату Гольджи, проходя через мембрану эндоплазматической сети и захватывая ее, как это было при прохождении через ядерную мембрану. Поэтому внеклеточный вирус имеет две оболочки, одна из которых формируется из ядерной, вторая — из цитоплазматической мембраны (см. рис. 7, е).

Формирование РНП вирионов парамиксовирусов происходит в цитоплазме, где они накапливаются в виде тяжей (рис. 9) и затем транспортируются к плазматической мембране. В это время плазматическая мембрана клетки уже модифицирована, так как в нее встроены с наружной стороны вирусные гликопротеиды, а с внутренней стороны — матриксный белок. При приближении к таким модифицированным участкам плазматической мембраны рибонуклеопротеидные тяжи свертываются в плотно упакованные клубки и, проходя через плазматическую мембрану, покрываются ею, приобретая таким путем внешнюю оболочку (рис. 10, а). Этот тип формирования вирионов называется почкованием. Почкование может происходить и во внутриклеточные вакуоли (рис. 10, б).

Морфогенез вируса оспы еще более сложен. В цитоплазме образуются сложные матриксы, в которых происходит синтез многочисленных вирусспецифических структур. Здесь же происходит и формирование вирионов, которые вначале представляют пузырьчатые образования (рис. 11), и лишь позже из этих предшественников формируются зрелые вирионы. Выход вирусных частиц из клетки осуществляется либо путем почкования через мембраны во внутриклеточные вакуоли, либо при разрушении клетки.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИРУСОВ

Биофизические свойства вирусов характеризуются многими показателями — седиментацией, плотностью, вязкостью вирусных суспензий, диффузионными свойст-



10. Выход вирусов из клетки путем почкования (электронно-микроскопическое изображение). а — почкование SV5 через плазматическую мембрану; б — почкование флавивируса во внутриклеточную вакуоль.

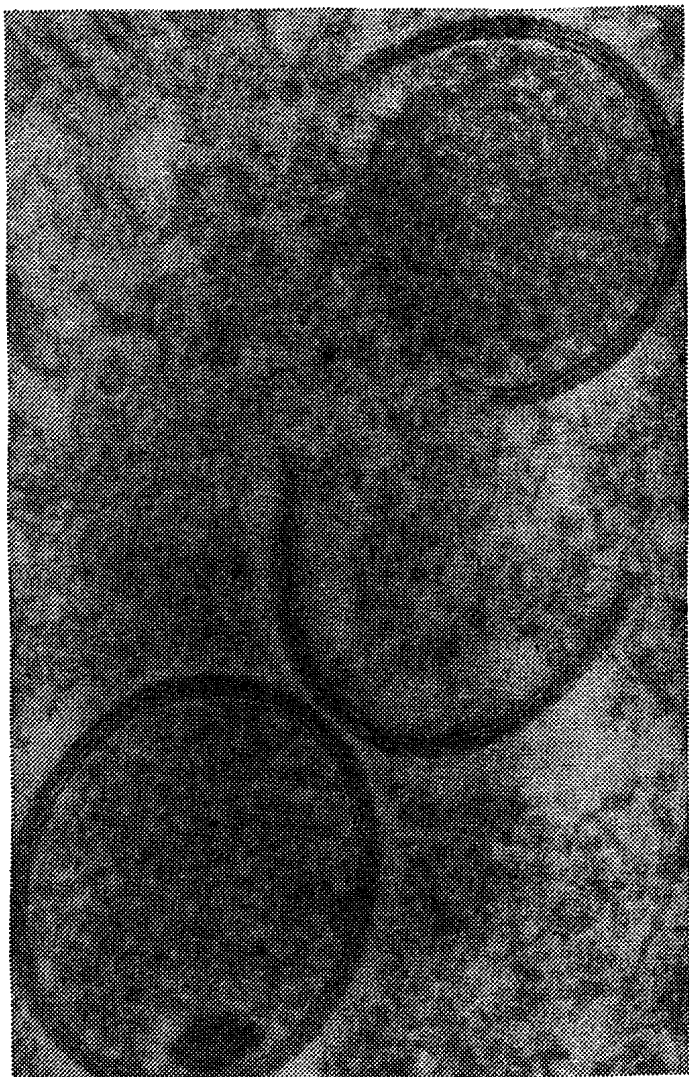


Рис. 11. Незрелые вирионы оспы, формирующиеся в цитоплазме клеток почек зеленых мартышек (электронно-микроскопическое изображение).

вами. Все эти характеристики относятся также к субвирусным компонентам. Наиболее важными биофизическими характеристиками вирусов являются седиментационные и плотностные свойства. Они чаще всего измеряются при исследовании вирусов.

Седиментационные свойства вирусов и субвирусных компонентов измеряют с помощью центрифугирования в аналитических и препаративных ультрацентрифугах. Коэффициент седиментации выражают в единицах Сведберга в переводе на стандартные условия — при температуре 20°C в воде и обозначают как S_{20W} .

Коэффициенты седиментации вирионов зависят от многих факторов: от их размера и массы, плотности, формы. Для определения плотности вирионов и субвирусных структур применяют равновесное центрифугирование в градиентах плотности. Для вирионов и вирусных нуклеопротеидов обычно используют градиенты плотности сахарозы и хлорида цезия.

Плотность вирионов и субвирусных структур зависит прежде всего от их состава. Она увеличивается с увеличением процента содержания нуклеиновых кислот и уменьшается при повышении содержания белков и липидов (табл. 6).

Таблица 6. Коэффициенты седиментации (S) и плавучая плотность (ρ) ряда вирусов

Вирусы	Коэффициент седиментации S_{20W}	Плавучая плотность (ρ) (г/см^3)	
		в хлориде цезия	в сахарозе
Вирусы герпеса	500—600	1,26—1,29	
Аденовирусы	560	1,33—1,34	
Паповавирусы	240—300	1,32	
Парвовирусы	110—122	1,39—1,40	
Реовирусы	550	1,36—1,39	
Тогавирусы	150—300	1,25	1,23—1,24
Парамиксовирусы	800—1000	1,21—1,22	1,19
Ортомиксовирусы	700—800	1,21—1,22	1,19
Рабдовирусы	550—1000	1,19—1,21	1,19
Буньявирусы	350—470	1,20	1,19
Аренавирусы	325—500	1,19—1,20	1,17—1,18
Ретровирусы	300—400		1,16—1,18
Пикорнавирусы	140—165	1,33—1,45	

УСТОЙЧИВОСТЬ ВИРУСОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

Разные группы вирусов обладают неодинаковой устойчивостью во внешней среде. Наименее устойчивыми являются вирусы, имеющие липопротеидные оболочки, наиболее устойчивыми — изометрические вирусы. Так, например, ортомиксовирусы и парамиксовирусы инактиви-

руются на поверхностях в течение нескольких часов, тогда как вирусы полиомиелита, аденовирусы, реовирусы сохраняют инфекционную активность в течение нескольких дней.

Однако из этого общего правила имеются и исключения. Так, вирус оспы устойчив к высыханию и сохраняется в экскретах в течение многих недель и месяцев. Вирус гепатита В устойчив к действию неблагоприятных внешних факторов и сохраняет свою активность в сыворотке даже при кратковременном кипячении.

Чувствительность вирусов к ультрафиолетовому и рентгеновскому облучению зависит преимущественно от размеров их генома. Поэтому, например, вирус осповакцины (молекулярная масса генома около $2 \cdot 10^8$) инактивируется при рентгеновском облучении около $5 \cdot 10^4$ рад, в то время как мелкий вирус папилломы (молекулярная масса генома $3 \cdot 10^6$) для инактивации требует облучения $4 \cdot 10^5$ рад.

Чувствительность вирусов к инактивации формальдегидом и другими химическими веществами, инактивирующими генетический материал, зависит от многих условий, среди которых следует назвать плотность упаковки нуклеиновой кислоты в белковый футляр, размеры генома, наличие или отсутствие внешних оболочек и т. п. Вирусы, имеющие липопротеидные оболочки, чувствительны к эфиру, хлороформу и детергентам, в то время как просто устроенные изометрические и палочковидные вирусы устойчивы к их действию.

Наконец, важной особенностью вирусов является чувствительность к рН. Есть вирусы, устойчивые к кислым значениям рН (2,2—3,0), например вирусы, вызывающие кишечные инфекции и проникающие в организм алиментарным путем. Однако большинство вирусов инактивируется при кислых и щелочных значениях рН.

Глава 5. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

ОСНОВЫ КЛАССИФИКАЦИИ

Современная классификация вирусов является универсальной для вирусов позвоночных, беспозвоночных, растений и простейших. Она основана на фундаментальных свойствах вирионов, из которых ведущими являются признаки, характеризующие нуклеиновую кислоту, мор-

фологию, стратегию генома и антигенные свойства. Фундаментальные свойства поставлены на первое место, поскольку вирусы со сходными антигенными свойствами обладают и сходным типом нуклеиновой кислоты, сходными морфологическими и биофизическими свойствами.

Важным признаком для классификации, который учитывается наряду со структурными признаками, является стратегия вирусного генома, под которой понимают используемый вирусом способ репродукции, обусловленный особенностями его генетического материала. Например, полярность вирусной РНК является основным критерием для группировки вирусов и при отсутствии общих антигенных свойств.

Антигенные и другие биологические свойства являются признаками, лежащими в основе формирования вида и имеющими значение в пределах рода.

В основу современной классификации положены следующие основные критерии.

1. Тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК), ее структура (количество нитей).
2. Наличие липопротеидной оболочки.
3. Стратегия вирусного генома.
4. Размер и морфология вириона, тип симметрии, число капсомеров.
5. Феномены генетических взаимодействий.
6. Круг восприимчивых хозяев.
7. Патогенность, в том числе патологические изменения в клетках и образование внутриклеточных включений.
8. Географическое распространение.
9. Способ передачи.
10. Антигенные свойства.

На основании перечисленных признаков вирусы делятся на семейства, подсемейства, роды и типы. Деление на семейства произведено по критериям, изложенным в пунктах 1 и 2, деление на роды и типы — на основании нижеперечисленных признаков. Схематически строение семейств вирионов, поражающих позвоночных, приведено на рис. 12. Дополнительно выделены еще 2 семейства: *Gepadnaviridae* и *Flaviviridae* (выделенные из семейства *Togaviridae*). Семейства вирусов животных и их таксономические признаки приведены в табл. 7 и 8.

Современная классификация вирусов человека и животных охватывает более 4/5 всех известных вирусов, которые распределены в 19 семейств, из них 7 — ДНК-содержащих и 12 — РНК-содержащих вирусов. Некоторые

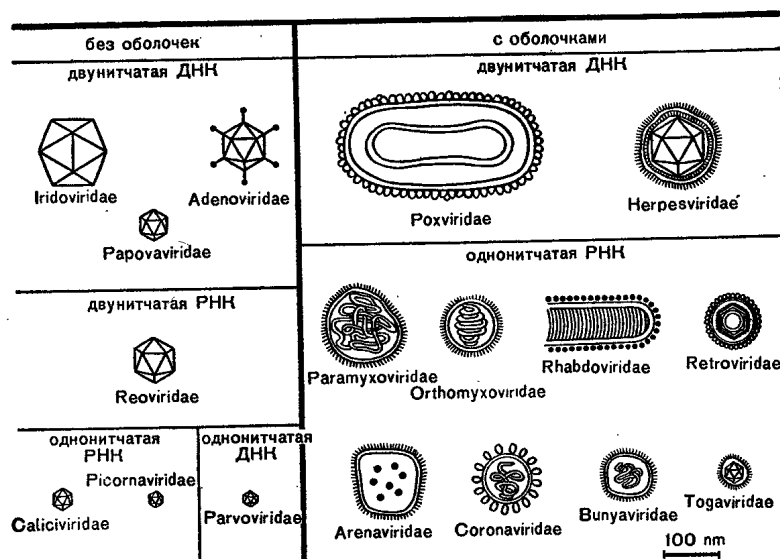


Рис. 12. Семейства вирусов животных.

из этих семейств имеют в своем составе также вирусы беспозвоночных и вирусы растений. К числу семейств вирусов исключительно позвоночных относятся вирусы герпеса, аденовирусы, паповавирусы, гепаднавирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы, аренавирусы, коронавирусы. Некоторые вирусы обладают уникальной способностью преодолевать филогенетические барьеры и размножаться как в позвоночных, так и в беспозвоночных хозяевах (клещи, комары, москиты). К таким семействам относятся буньявирусы, тогавирусы, род Vesiculovirus и Lyssavirus семейства рабдовирусов, род Orbivirus семейства реовирусов, вирус африканской лихорадки свиней семейства иридовирусов. Для этих вирусов членистоногие являются и естественными хозяевами, и переносчиками инфекции между позвоночными. Такие вирусы составляют экологическую группу арбовирусов, т. е. вирусов позвоночных, передающихся членистоногими.

НОМЕНКЛАТУРА ВИРУСОВ

Для упорядочения наименований вирусов выработан ряд правил. Название семейств оканчивается на «viridae», подсемейств — «virinae», рода — «virus». В названиях

Таблица 7. Семейства, подсемейства, роды и типы вирусов животных

Характеристика	Семейства	Подсемейства	Роды	Представители типов
Двунитчатая ДНК, оболочечные	Poxviridae	Chordopoxvirinae	Orthoroxvirus Parapoxvirus Avipoxvirus Capripoxvirus Leporipoxvirus Suipoxvirus	Вирус осповакцины Орф-вирус Вирус птичьей оспы Вирус овины (оспы овец) Вирус миксомы Вирус порчины (оспы свиней) Вирус оспы насекомых
	Herpesviridae	Entomopoxvirinae	A B C	Вирусы герпеса (вирусы простого герпеса, типы 1,2)
	Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	—	Вирус цитомегалии человека
	Herpesviridae	Betaherpesvirinae Gammaherpesvirinae	— —	Вирус герпеса человека (вирус Эпштейна — Барр)
Двунитчатая ДНК, безоболочечные	Herpadnaviridae	—	—	Вирус гепатита В человека Вирус земляной белки, лесного сурика, пекинской утки
	Iridoviridae	—	Iridovirus Ranavirus	Вирусы радужки насекомых Вирусы лягушек
	Adenoviridae	—	Mastadenovirus Aviadenovirus	Вирус африканской лихорадки свиней Аденовирусы человека, 41 тип
	Parvoviridae	—	Papillomavirus	Аденовирусы птиц Вирус папилломы кроликов (папиллома Шоуга)
Однонитчатая ДНК, безоболочечные	Parvoviridae	—	Polyomavirus Parvovirus	Вирус полиомы мышей Вирус Килхэма (вирус латентный крыс Килхэма)
	Parvoviridae	—	Dependovirus	Адено-ассоциированный вирус типа 1

Характеристика	Семейства	Подсемейства	Роды	Представители типов
Двунитчатая РНК, безоболочечные	Reoviridae	—	Densovirus Reovirus Orbivirus Rotavirus Phytoreovirus Fijivirus Cytoplasmic polyhedrosis virus group	Парвовирусы насекомых Реовирусы типов 1—3 Вирус синего языка овец Ротавирусы человека и животных Раневой вирус Вирус болезни Фиджи Вирус цитоплазматического полиэдроза
		—	Alphavirus Rubivirus Pestivirus	Вирусы Синдбис, леса Семлики, Чикунгунья, восточного и западного лошадиного энцефаломиелитов, венесуэльского лошадиного энцефаломиелита
Однунитчатая РНК, оболочечные А. Без стадии ДНК 1. Позитивная полярность генома	Togaviridae	—		Вирусы клещевого и японского энцефалитов, вирусы желтой лихорадки, вирусы денге, Западного Нила, энцефалита Сент-Луис, энцефалита долины Муррея Вирус краснухи Вирус диареи коров (вирус мукозной болезни)
		—	Coronaviridae Paramyxoviridae	Коронавирус человека Вирусы Сендай, парагриппа человека, типы 1—4, паротита
	Flaviviridae	—	Morbillivirus Phenmovirus Vesiculovirus	Вирус кори Респираторно-синцитиальный вирус Вирус везикулярного стоматита
		—		
2. Негативная полярность генома				

Б. Стадия ДНК в репродукции	Orthomyxoviridae	—	Lyssavirus Influenzavirus A, B Influenzavirus C Bunyavirus Arenavirus Группа онковирусов типа В	Вирус бешенства Вирусы гриппа типов А и В Вирус гриппа типа С Вирус Буньямвера Вирус Ласса Вирус рака молочных желез мышей
	Bunyaviridae Arenaviridae Retroviridae		Группа онковирусов типа С Онковирусы млекопитающих Онковирусы птиц	Онковирусы обезьян, кошек, мышей, крыс, морских свинок, человека Вирус птичьего миелобластоза Пенящийся вирус человека Пенящийся вирус обезьян Бычий и кошачий синцитиальный вирусы
Однунитчатая РНК, оболочечные	Picornaviridae	Spumavirinae	—	Вирусы висны, мади овец Вирусы полиомиелита человека типов 1—3, другие энтеровирусы Вирус гепатита А (энтеровирус 72) Вирус энцефаломиокардита, вирус Менго
		Lentivirinae	— Enterovirus Cardiovirus Rhinovirus Aphthovirus Calicivirus	Риновирусы человека Вирус ящура Вирус везикулярной экзантемы свиней, калицивирусы человека
	Caliciviridae	—		

52 Таблица 8. Таксономические признаки вирусов животных

Семейство	Нуклеиновая кислота			Симметрия капсида	Наличие оболочки	Чувствительность к эфиру	Размер вириона, нм
	тип	структура	молекулярная масса				
Поксвирусы	ДНК	Д	$85 \cdot 10^6 - 240 \cdot 10^6$	Сложный тип	+	У	130—240
Герпесвирусы	ДНК	Д	$90 \cdot 10^6 - 130 \cdot 10^6$	Кубическая	+	Ч	200
Гепаднавирусы	ДНК	Д	$1,6 \cdot 10^6$	Сложный тип	+	Ч	45—50
Аденовирусы	ДНК	Д	$20 \cdot 10^6 - 30 \cdot 10^6$	Кубическая	+	У	70—90
Паповавирусы	ДНК	ДК	$3 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$	"	—	У	45—55
Парвовирусы	ДНК	О	$1,5 \cdot 10^6 - 2,2 \cdot 10^6$	"	—	У	18—26
Реовирусы	РНК	ДФ	$12 \cdot 10^6 - 19 \cdot 10^6$	"	—	У	60—80
Тогавирусы	РНК	О	$4 \cdot 10^6$	"	+	Ч	30—90
Коронавирусы	РНК	О	$9 \cdot 10^6$	Спиральная	+	Ч	80—130
Парамиксовирусы	РНК	О	$5 \cdot 10^6 - 8 \cdot 10^6$	"	+	Ч	150—300
Рабдовирусы	РНК	О	$3 \cdot 10^6 - 4 \cdot 10^6$	"	+	Ч	70—175
Ортомиксовирусы	РНК	ОФ	$5 \cdot 10^6$	"	+	Ч	80—120
Буньявирусы	РНК	ОФК	$6 \cdot 10^6 - 15 \cdot 10^6$	"	+	Ч	90—100
Аренавирусы	РНК	ОФ	$3 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$	"	+	Ч	50—300
Ретровирусы	РНК	О	$7 \cdot 10^6 - 10 \cdot 10^6$	"	+	Ч	80—100
Пикорнавирусы	РНК	О	$2 \cdot 10^6 - 2,8 \cdot 10^6$	Сложный тип	+	У	20—30
Калцидовирусы	РНК	О	$2,6 \cdot 10^6 - 2,8 \cdot 10^6$	Кубическая	—	У	20—30

Обозначения: Д — двунигчатая; К — кольцевая; О — односторонняя; Ф — фрагментированная; У — устойчивая; Ч — чувствительная; «+» — есть; «—» — нет.

допускаются привычные латинизированные обозначения, цифры при обозначении типов, сокращения, буквы и их сочетания.

Глава 6. РЕПРОДУКЦИЯ ВИРУСОВ

Процесс репродукции вирусов может быть условно разделен на две фазы. Первая фаза охватывает события, которые ведут к адсорбции и проникновению вируса в клетку, освобождению его внутреннего компонента и модификации его таким образом, что он способен вызвать инфекцию. Соответственно, первая фаза включает в себя три стадии: 1) адсорбция вируса на клетках; 2) проникновение в клетки; 3) раздевание вируса в клетке. Эти стадии направлены на то, чтобы вирус был доставлен в соответствующие клеточные структуры, и его внутренний компонент был освобожден от защитных оболочек. Как только эта цель достигнута, начинается вторая фаза репродукции, в течение которой происходит экспрессия вирусного генома. Эта фаза включает в себя стадии: 1) транскрипции, 2) трансляции информационных РНК, 3) репликации генома, 4) сборки вирусных компонентов. Заключительной стадией репродукции является выход вируса из клетки.

АДСОРБЦИЯ

Взаимодействие вируса с клеткой начинается с процесса адсорбции, т. е. прикрепления вирусных частиц к клеточной поверхности. Процесс адсорбции возможен при наличии соответствующих рецепторов на поверхности клетки и «узнающих» их субстанций на поверхности вируса. Самые начальные процессы адсорбции имеют неспецифический характер, и в основе их может лежать электростатическое взаимодействие положительно и отрицательно заряженных группировок на поверхности вируса и клетки. Однако узнавание клеточных рецепторов вирусными белками, ведущее к прикреплению вирусной частицы к клетке, является высоко специфическим процессом. Белки на поверхности вируса, узнающие специфические группировки на плазматической мембране клетки и обуславливающие прикреплению к ним вирусной частицы, называются прикрепительными белками.

Вирусы используют рецепторы, предназначенные для прохождения в клетку необходимых для ее жизнедеятель-

ности веществ: питательных веществ, гормонов, факторов роста и т. д. Рецепторы могут иметь разную химическую природу и представлять собой белки, углеводный компонент белков и липидов, липиды. Рецепторами для вирусов гриппа и парамиксовирусов является сиаловая кислота в составе гликопротеидов и гликолипидов (ганглиозидов), для рабдовирусов и реовирусов — также углеводный компонент в составе белков и липидов, для пикорна- и аденовирусов — белки, для некоторых вирусов — липиды. Специфические рецепторы играют роль не только в прикреплении вирусной частицы к клеточной поверхности. Они определяют дальнейшую судьбу вирусной частицы, ее внутриклеточный транспорт и доставку в определенные участки цитоплазмы и ядра, где вирус способен инициировать инфекционный процесс. Вирус может прикрепиться и к неспецифическим рецепторам и даже проникнуть в клетку, однако только прикрепление к специфическому рецептору приведет к возникновению инфекции.

Прикрепление вирусной частицы к клеточной поверхности вначале происходит путем образования единичной связи вирусной частицы с рецептором. Однако такое прикрепление непрочное, и вирусная частица может легко оторваться от клеточной поверхности (обратимая адсорбция). Для того чтобы наступила необратимая адсорбция, должны появиться множественные связи между вирусной частицей и многими молекулами рецепторов, т. е. должно произойти стабильное мультивалентное прикрепление. Количество молекул клеточных рецепторов в участках адсорбции может достигать до 3000. Стабильное связывание вирусной частицы с клеточной поверхностью в результате мультивалентного прикрепления происходит благодаря возможности свободного перемещения молекул рецепторов в липидном бислое плазматической мембраны, которое определяется подвижностью, «текучестью» белково-липидного слоя. Увеличение текучести липидов является одним из наиболее ранних событий при взаимодействии вируса с клеткой, следствием которого является формирование рецепторных полей в месте контакта вируса с клеточной поверхностью и стабильное прикрепление вирусной частицы к возникшим группировкам — необратимая адсорбция (рис. 13).

Количество специфических рецепторов на поверхности клетки колеблется между 10^4 и 10^5 на одну клетку. Рецепторы ряда вирусов могут быть представлены лишь

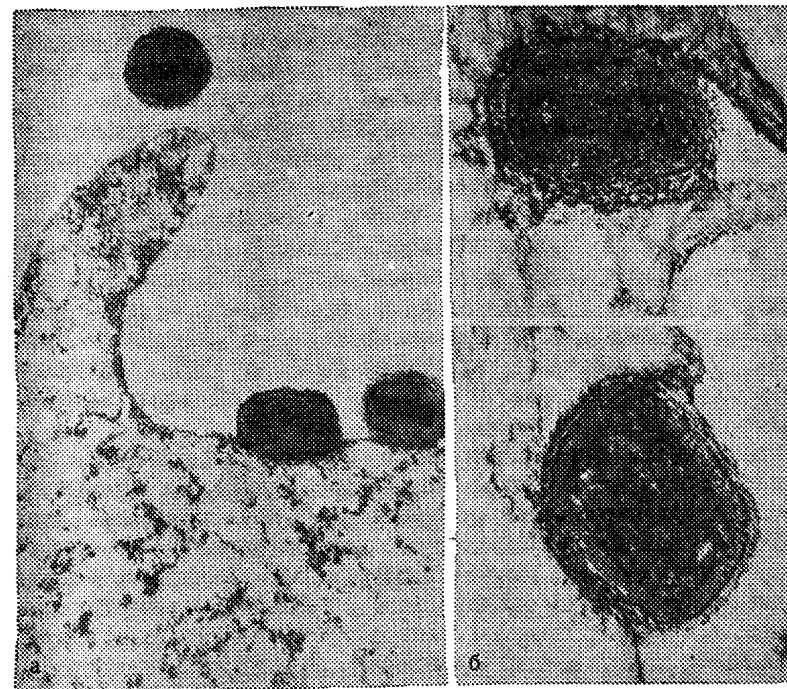


Рис. 13. Адсорбция вируса осповакцины на клетке (электронно-микроскопическое изображение).
а — обратимая; б — необратимая адсорбция.

в ограниченном наборе клеток-хозяев, и этим может определяться чувствительность организма к данному вирусу. Например, пикорнавирусы адсорбируются только на клетках приматов. Рецепторы для других вирусов, напротив, широко представлены на поверхности клеток различных видов, как, например, рецепторы для ортомиксовирусов и парамиксовирусов, представляющие собой сиалилсодержащие соединения. Поэтому эти вирусы имеют относительно широкий диапазон клеток, на которых может происходить адсорбция вирусных частиц. Рецепторами для ряда тогавирусов обладают клетки исключительно широкого круга хозяев: эти вирусы могут адсорбироваться и инфицировать клетки как позвоночных, так и беспозвоночных.

Наличие специфических рецепторов на поверхности клетки в ряде случаев обуславливает феномен зависимого от хозяина ограничения, т. е. способность вируса зара-

жать лишь определенные виды животных. В целом ограничения при взаимодействии рецепторных систем вируса и клетки биологически оправданы и целесообразны, хотя в ряде случаев они являются «перестраховкой». Так, многие линии клеток, устойчивых к вирусам полиомиелита и Коксаки, можно заразить депротеинизированными препаратами РНК, выделенными из этих вирусов. Такое заражение клеток идет в обход естественных входных путей инфекции через взаимодействие с клеточными рецепторами. Известна потенциальная способность вирусов животных реплицироваться в протопластах дрожжей, грибов и бактерий, а бактериофагов — в клетках животных. Таким образом, вирусные ДНК и РНК обладают способностью заражать и более широкий круг хозяев, чем вирусы.

Вирусные прикрепительные белки. Прикрепительные белки могут находиться в составе уникальных органелл, таких как структуры отростка у Т-бактериофагов или фибры у аденовирусов, которые хорошо видны в электронном микроскопе; могут формировать морфологически менее выраженные, но не менее уникальные аранжировки белковых субъединиц на поверхности вирусных мембран, как, например, шипы у оболочечных вирусов, «корону» у коронавирусов.

Просто организованные вирусы животных содержат прикрепительные белки в составе капсида. У сложно организованных вирусов эти белки входят в состав суперкапсида и представлены множественными молекулами. Например, у вируса леса Семлики (альфа-вирус) имеется 240 молекул гликопротеида в одном вирионе, у вируса гриппа — 300—450 гемагглютинирующих субъединиц, у реовируса — 24 молекулы белка σ -1, у аденовируса — 12 фибров.

ПРОНИКНОВЕНИЕ ВИРУСОВ В КЛЕТКУ

Исторически сложилось представление о двух альтернативных механизмах проникновения в клетку вирусов животных — путем виропексиса (эндоцитоза) и путем слияния вирусной и клеточной мембран. Однако оба эти механизма не исключают, а дополняют друг друга.

Термин «виропексис», предложенный в 1948 г. Фазекасом де сан Гро, означает, что вирусная частица попадает в цитоплазму в результате инвагинации участка плазма-

тической мембраны и образования вакуоли, которая содержит вирусную частицу.

Рецепторный эндоцитоз. Виропексис представляет собой частный случай рецепторного или адсорбционного эндоцитоза. Этот процесс является обычным механизмом, благодаря которому в клетку поступают питательные и регуляторные белки, гормоны, липопротеины и другие вещества из внеклеточной жидкости. Рецепторный эндоцитоз происходит в специализированных участках плазматической мембраны, где имеются специальные ямки, покрытые со стороны цитоплазмы особым белком с большой молекулярной массой — клатрином. На дне ямки располагаются специфические рецепторы. Ямки обеспечивают быструю инвагинацию и образование покрытых клатрином внутриклеточных вакуолей. Полупериод проникновения вещества внутрь клетки по этому механизму не превышает 10 мин с момента адсорбции. Количество образующихся в одну минуту вакуолей достигает более 2000. Таким образом, рецепторный эндоцитоз представляет собой хорошо слаженный механизм, который обеспечивает быстрое проникновение в клетку чужеродных веществ.

Покрытые вакуоли сливаются с другими, более крупными цитоплазматическими вакуолями, образуя рецептосомы, содержащие рецепторы, но не содержащие клатрин, а те в свою очередь сливаются с лизосомами. Таким путем проникшие в клетку белки обычно транспортируются в лизосомы, где происходит их распад на аминокислоты; они могут и миновать лизосомы, и накапливаться в других участках клетки в недеградированной форме. Альтернативой рецепторного эндоцитоза является жидкостный эндоцитоз, когда инвагинация происходит не в специализированных участках мембраны.

Большинство оболочечных и безоболочечных вирусов животных проникает в клетку по механизму рецепторного эндоцитоза. Эндоцитоз обеспечивает внутриклеточный транспорт вирусной частицы в составе эндоцитарной вакуоли, поскольку вакуоль может двигаться в любом направлении и сливаться с клеточными мембранами (включая ядерную мембрану), освобождая вирусную частицу в соответствующих внутриклеточных участках. Таким путем, например, ядерные вирусы попадают в ядро, а реовирусы — в лизосомы. Однако проникшие в клетку вирусные частицы находятся в составе вакуоли и отделены от цитоплазмы ее стенками. Им предстоит пройти ряд

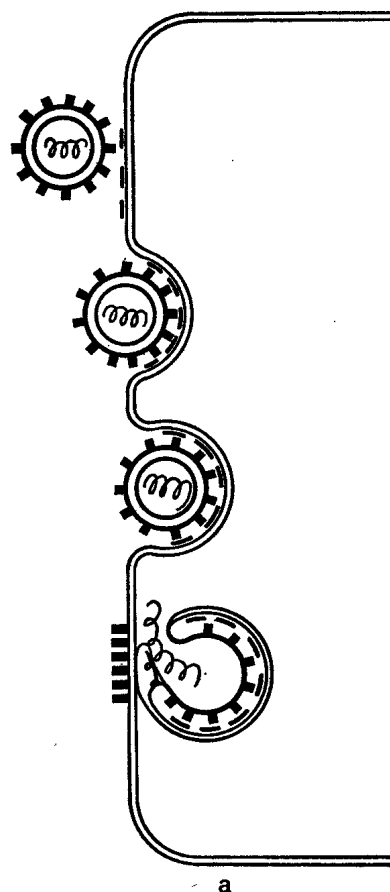
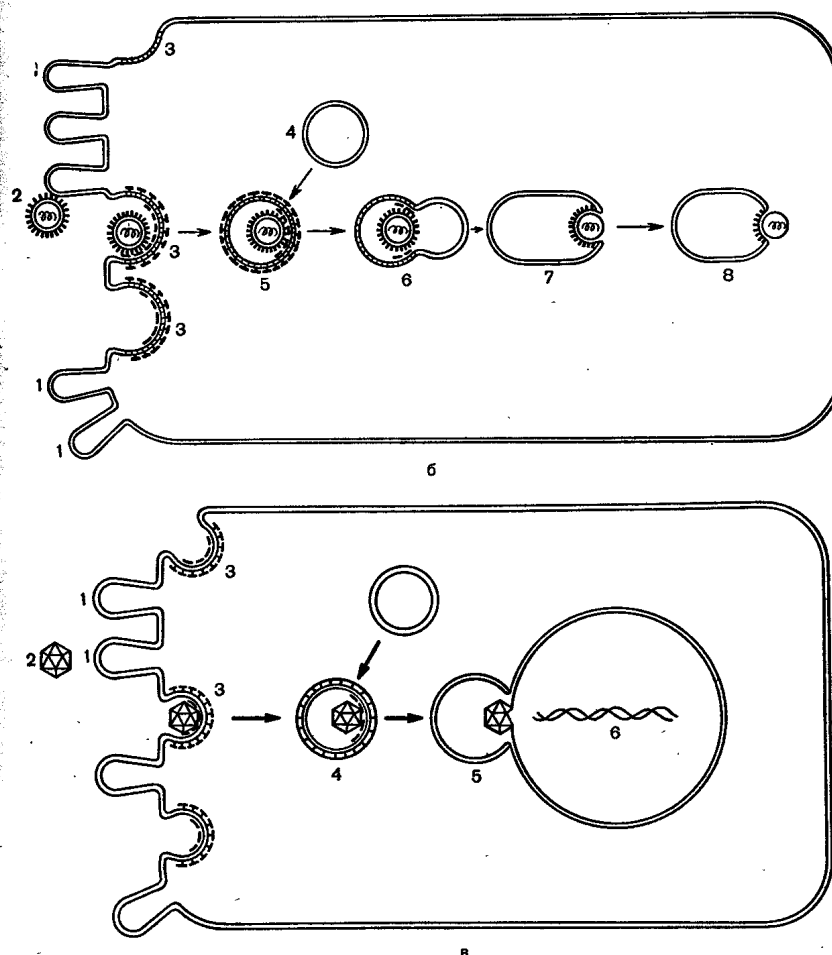


Рис. 14. Проникновение вируса в клетку.

а — проникновение вируса путем слияния оболочки с плазматической мембраной; б — проникновение вируса в цитоплазму путем рецепторного эндоцитоза:

1 — клеточная ворсинка; 2 — вирион; 3 — покрытая ямка, содержащая рецепторы; 4 — цитоплазматическая вакуоль; 5 — покрытая вакуоль, содержащая вирион; 6 — рецептосома, образовавшаяся в результате слияния покрытой вакуоли с цитоплазматической вакуолью; 7 — слияние вирусной оболочки со стенкой рецептосомы; 8 — выход внутреннего компонента вируса в цитоплазму; в — проникновение вируса в ядро посредством рецепторного эндоцитоза: 1 — клеточные ворсинки; 2 — внеклеточный вирион; 3 — адсорбция вируса на рецепторах покрытой ямки; 4 — покрытая вакуоль; 5 — образование рецептосомы и ее слияние с наружной ядерной оболочкой; 6 — высвободившаяся вирусная ДНК.



этапов, прежде чем они смогут вызвать инфекционный процесс.

Слияние вирусной и клеточной мембран. Для того чтобы внутренний компонент вируса мог пройти через клеточную мембрану, вирус использует механизм слияния мембран. У оболочечных вирусов слияние обусловлено точечным взаимодействием вирусного белка слияния с липидами клеточной мембраны, в результате которого вирусная липопротеидная оболочка интегрируется с клеточной мембраной, а внутренний компонент вируса оказывается по другую ее сторону. У безоболочечных вирусов один из поверхностных белков также взаимодействует с липидами клеточных мембран, в результате чего внутренний компонент проходит через мембрану. Боль-

шинство вирусов животных выходит в цитозол из рецептосомы.

Если при эндоцитозе вирусная частица является пассивным пассажиром, то при слиянии она становится активным участником процесса. Белком слияния является один из ее поверхностных белков. К настоящему времени этот белок идентифицирован лишь у парамиксовирусов и ортомиксовирусов. У парамиксовирусов этот белок (F-белок) представляет собой один из двух гликопротеидов, находящихся на поверхности вирусной частицы.

Функцию белка слияния у вируса гриппа выполняет малая гемагглютинирующая субъединица, HA2.

Парамиксовирусы вызывают слияние мембран при нейтральном pH, и внутренний компонент этих вирусов может проникать в клетку непосредственно через плазматическую мембрану. Однако большинство оболочечных и безоболочечных вирусов вызывают слияние мембран только при низком значении pH — от 5,0 до 5,75. Если к клеткам добавить слабые основания (хлорид аммония, хлороквин и др.), которые в эндоцитарных вакуолях повышают pH до 6,0, слияния мембран не происходит, вирусные частицы остаются в вакуолях, и инфекционный процесс не возникает. Строгая зависимость слияния мембран от значений pH обусловлена конформационными изменениями вирусных белков слияния.

В лизосоме постоянно имеется низкое значение pH (4,9). В эндоцитарной вакуоли (рецептосоме) закисление создается за счет АТФ-зависимого «протонового насоса» еще на клеточной поверхности при образовании покрытой вакуоли. Закисление эндоцитарной вакуоли имеет большое значение для проникающих в клетку физиологических лигандов, так как низкое значение pH способствует диссоциации лиганда от рецептора и рециркуляции рецепторов.

Схематическое изображение возможных способов проникновения вирусов в клетку показано на рис. 14.

Тот же механизм, который лежит в основе слияния вирусных и клеточных мембран, обуславливает индуцированный вирусами гемолиз и слияние плазматических мембран прилежащих друг к другу клеток с образованием многоядерных клеток, симпластов и синцитиев. Вирусы вызывают два типа слияния клеток: 1) «слияние снаружи» и 2) «слияние изнутри». «Слияние снаружи» происходит при высокой множественности инфекции и обнаруживается в течение первых часов после заражения. Этот тип слияния, описанный для парамиксовирусов, обусловлен белками заражающего вируса и не требует внутриклеточного синтеза вирусных компонентов. Напротив, «слияние изнутри» происходит при низкой множественности инфекции, обнаруживается на сравнительно поздних стадиях инфекционного процесса и обусловлено вновь синтезируемыми вирусными белками (рис. 15). «Слияние изнутри» описано для многих вирусов: вирусов герпеса, онко-вирусов, возбудителей медленных инфекций и др. Этот тип слияния вызывают те же вирусные гликопротеиды, которые обеспечивают проникновение вируса в клетку.

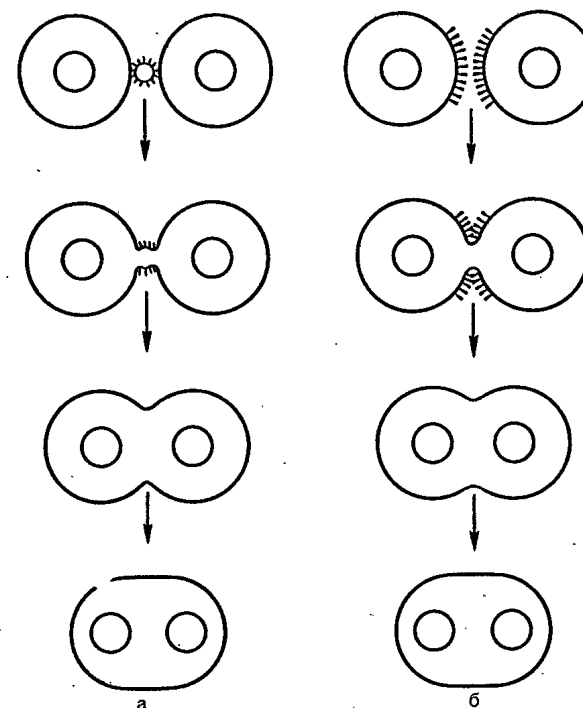


Рис. 15. Слияние клеточных мембран при заражении клеток вирусом.
а — слияние извне; б — слияние изнутри.

РАЗДЕВАНИЕ

Проникшие в клетку вирусные частицы должны разделиться для того, чтобы вызвать инфекционный процесс. Смысл раздевания заключается в удалении вирусных защитных оболочек, которые препятствуют экспрессии вирусного генома. В результате раздевания освобождается внутренний компонент вируса, который способен вызвать инфекционный процесс. Раздевание сопровождается рядом характерных особенностей: в результате распада вирусной частицы исчезает инфекционная активность, в ряде случаев появляется чувствительность к нуклеазам, возникает устойчивость к нейтрализующему действию антител, теряется фоточувствительность при использовании ряда препаратов.

Конечными продуктами раздевания являются сердцевинки, нуклеокапсиды или нуклеиновые кислоты. Для

ряда вирусов было показано, что продуктом раздевания являются не голые нуклеиновые кислоты, а нуклеиновые кислоты, связанные с внутренним вирусным белком. Например, конечным продуктом раздевания пикорнавирусов является РНК, ковалентно связанная с белком VP_g, конечным продуктом раздевания аденовирусов, вируса полиомы и SV40 является ДНК, ковалентно связанная с одним из внутренних вирусных белков.

В ряде случаев способность вирусов вызвать инфекционный процесс определяется возможностью их раздевания в клетке данной системы. Тем самым эта стадия является одной из стадий, лимитирующих инфекцию.

Раздевание ряда вирусов происходит в специализированных участках внутри клетки (лизосомах, структурах аппарата Гольджи, околоядерном пространстве, ядерных порах на ядерной мембране). При слиянии вирусной и клеточной мембран проникновение в клетку сочетается с раздеванием.

Раздевание и внутриклеточный транспорт являются взаимосвязанными процессами: при нарушении правильного внутриклеточного транспорта к местам раздевания вирусная частица попадает в лизосому и разрушается лизосомальными ферментами.

Промежуточные формы при раздевании. Раздевание вирусной частицы осуществляется постепенно в результате серии последовательных реакций. Например, в процессе раздевания пикорнавирусы проходят ряд стадий с образованием промежуточных субвирусных частиц с размерами от 156 S до 12 S. Раздевание вирусов ЕСНО имеет следующие стадии: вирионы (156 S) → А-частицы (130 S) → РНП и пустые капсиды (80 S) → РНК с терминальным белком (12 S). Раздевание аденовирусов происходит в цитоплазме и ядерных порах и имеет по крайней мере 3 стадии: 1) образование субвирусных частиц с большей плотностью, чем вирионы; 2) образование сердцевин, в которых отсутствует 3 вирусных белка; 3) образование ДНК-белкового комплекса, в котором ДНК ковалентно соединена с терминальным белком. Вирус полиомы в процессе раздевания теряет наружные белки и превращается в субвирусную частицу с коэффициентом седиментации 48 S. Затем частицы связываются с ядерными белками (гистонами) и формируется 190 S комплекс (с коэффициентом седиментации 190 S), способный вызвать инфекционный процесс. Вирус гриппа вначале теряет липопр-

теидную оболочку и превращается в субвирусную частицу, из которой после удаления М-белка освобождается нуклеокапсид.

ТРАНСКРИПЦИЯ

Транскрипция — это переписывание ДНК на РНК по законам генетического кода. Это означает, что РНК состоит из нуклеотидных последовательностей, комплементарных ДНК. Нити ДНК в участке транскрипции разделяются и функционируют как матрицы, к которым присоединяются комплементарные нуклеотиды благодаря спариванию комплементарных оснований (аденин связывается с тиминном, урацил — с аденином, гуанин — с цитозином и цитозин — с гуанином) (рис. 16). Транскрипция осуществляется с помощью специального фермента — РНК-полимеразы, который связывает нуклеотиды путем образования 3'-5'-фосфодиэфирных мостиков. Такое связывание происходит лишь в присутствии ДНК-матрицы.

Продуктами транскрипции в клетке являются иРНК. Сама клеточная ДНК, являющаяся носителем генетической информации, не может непосредственно программировать синтез белка. Передачу генетической информации от ДНК к рибосомам осуществляет РНК-посредник. На этом основана центральная догма молекулярной биологии, которая выражается следующей формулой:



где стрелки показывают направление переноса генетической информации.

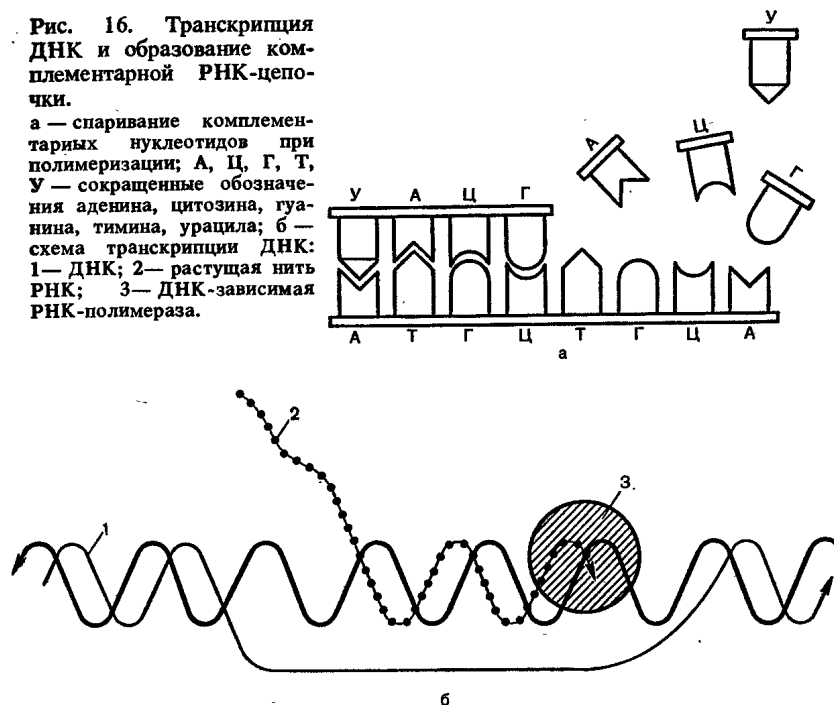
Реализация генетической информации у вирусов. Стратегия вирусного генома в отношении синтеза иРНК у разных вирусов различна. У ДНК-содержащих вирусов иРНК синтезируется на матрице одной из нитей ДНК. Формула переноса генетической информации у них такая же, как и в клетке.



ДНК-содержащие вирусы, репродукция которых происходит в ядре, используют для транскрипции клеточную полимеразу. К этим вирусам относятся папавирусы, аденовирусы, вирусы герпеса. ДНК-содержащие вирусы,

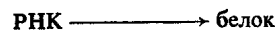
Рис. 16. Транскрипция ДНК и образование комплементарной РНК-цепочки.

а — спаривание комплементарных нуклеотидов при полимеризации; А, Ц, Г, Т, У — сокращенные обозначения аденина, цитозина, гуанина, тимина, урацила; б — схема транскрипции ДНК: 1 — ДНК; 2 — растущая нить РНК; 3 — ДНК-зависимая РНК-полимераза.



репродукция которых происходит в цитоплазме, не могут использовать клеточный фермент, находящийся в ядре. Транскрипция их генома осуществляется вирусспецифическим ферментом — ДНК-полимеразой, которая проникает в клетку в составе вируса. К этим вирусам относятся вирусы оспы и иридовирусы.

РНК-содержащие вирусы, у которых хранителем генетической информации является не ДНК, а РНК, решают эту проблему особым образом. У РНК-содержащих «плюс-нитевых» вирусов, у которых функции иРНК выполняет сам геном, передача генетической информации осуществляется по наиболее простой формуле:



К этой группе вирусов относятся пикорнавирусы, тогавирусы, коронавирусы. У них нет необходимости в акте транскрипции для синтеза вирусспецифических белков. Поэтому транскрипцию как самостоятельный процесс у этих вирусов не выделяют. Иначе обстоит дело у виру-

сов, геном которых не может выполнять функцию иРНК. В клетке синтезируется комплементарная геному РНК, которая и является информационной. Передача генетической информации у этих вирусов осуществляется по формуле:



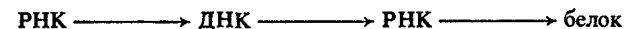
У этих вирусов транскрипция выделена как самостоятельный процесс в инфекционном цикле. К ним относятся две группы вирусов животных.

1. Вирусы, геном которых представлен одонитчатой РНК: ортомиксовирусы, парамиксовирусы, рабдовирусы, буньявирусы. Поскольку геномная РНК этих вирусов является «минус-нитью», указанную группу вирусов называют «минус-нитевыми» вирусами.

2. Вирусы, геном которых представлен двуничей РНК (диплорнавирусы). Среди вирусов животных к ним относятся реовирусы.

В клетке нет фермента, который может полимеризовать нуклеотиды на матрице РНК. Эту функцию выполняет вирусспецифический фермент — РНК-полимераза, или транскриптаза, которая находится в составе вирусов и вместе с ними проникает в клетку.

Среди РНК-содержащих вирусов животных есть семейство ретровирусов, которые имеют уникальный путь передачи генетической информации. РНК этих вирусов переписывается на ДНК, ДНК интегрирует с клеточным геномом и в его составе переписывается на РНК, которая обладает информационными функциями. Путь передачи генетической информации в этом случае осуществляется по более сложной формуле:



В составе этих вирусов есть уникальный вирусспецифический фермент, который переписывает РНК на ДНК. Этот процесс называется обратной транскрипцией, а фермент — обратная транскриптаза, или ревертаза. Тот же фермент синтезирует нить ДНК на матрице ДНК. Двуничейная ДНК после замыкания в кольцо интегрирует с клеточным геномом, и транскрипцию интегрированной ДНК в составе клеточных геномов осуществляет клеточная РНК-полимераза. Поскольку иРНК ретровирусов гомологична геномной РНК (а не комплементарна ей), ретровирусы являются «плюс-нитевыми» вирусами.

Ферменты, транскрибирующие вирусный геном. Транскрипция ряда ДНК-содержащих вирусов — паповавирусов, аденовирусов, вирусов герпеса, парвовирусов, гепаднавирусов осуществляется в ядре клетки, и в этом процессе широко используются механизмы клеточной транскрипции — ферменты транскрипции и дальнейшей модификации транскриптов. Транскрипция этих вирусов осуществляется клеточной РНК-полимеразой II — ферментом, который осуществляет транскрипцию клеточного генома. Однако особая группа транскриптов аденовируса синтезируется с помощью другого клеточного фермента — РНК-полимеразы III. У двух других семейств ДНК-содержащих вирусов животных — вирусов оспы и иридовирусов — транскрипция происходит в цитоплазме. Поскольку в цитоплазме нет клеточных полимераз, транскрипция этих вирусов нуждается в специальном вирусном ферменте — вирусной РНК-полимеразе. Этот фермент является структурным вирусным белком.

У РНК-содержащих вирусов транскрипция осуществляется вирус-специфическими транскриптазами, т. е. ферментами, закодированными в вирусном геноме. Вирусспецифические транскриптазы могут быть как структурными белками, входящими в состав вириона (эндогенная транскриптаза), так и неструктурными белками, которые синтезируются в зараженной клетке, но не включаются в вирион.

Транскрипция в зараженной клетке. Синтез комплементарных РНК на родительских матрицах с помощью родительской транскриптазы носит название первичной транскрипции в отличие от вторичной транскрипции, происходящей на более поздних стадиях инфекционного цикла на вновь синтезированных, дочерних матрицах, с помощью вновь синтезированной транскриптазы. Большая часть иРНК в зараженной клетке является продуктом вторичной транскрипции.

Транскриптивные комплексы. У сложно устроенных РНК-содержащих вирусов животных транскрипция происходит не на матрице голой РНК, а в составе вирусных нуклеокапсидов или сердцевин (транскриптивные комплексы). Связанные с геномом капсидные белки не только не препятствуют транскрипции, но и необходимы для нее, обеспечивая правильную конформацию тяжа РНК, защиту его от клеточных протеаз, связь отдельных фрагментов генома друг с другом, а также регуляцию транскрипции.

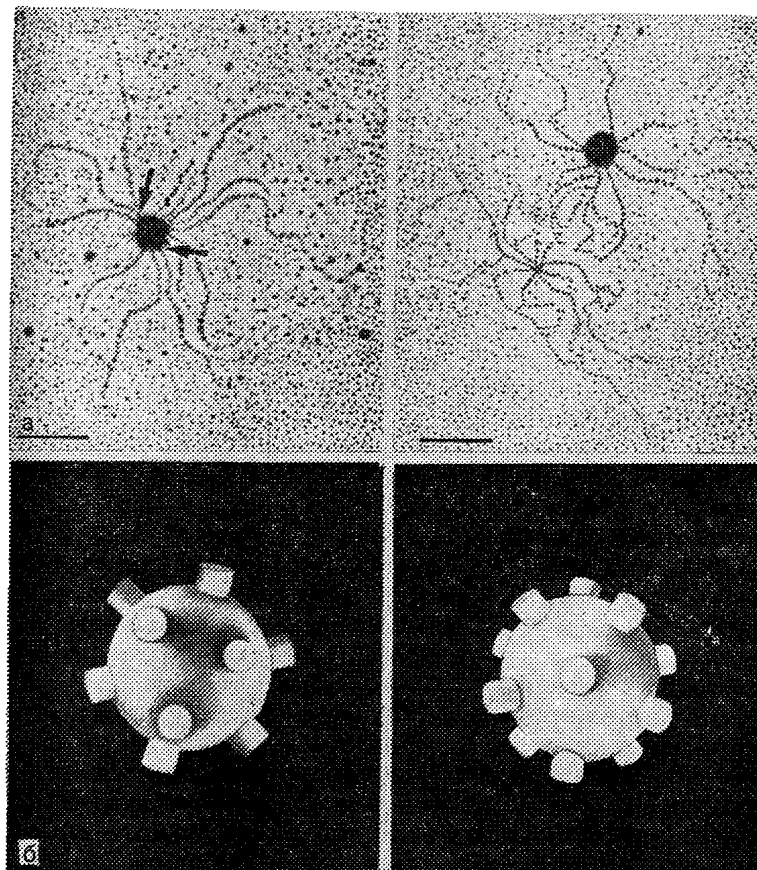


Рис. 17. Вытеснение вновь синтезированной РНК из сердцевин вирионов реовирусов. Вид в электронном микроскопе (а) и схема строения вирионов (б).

Вновь синтезированные иРНК выходят из транскриптивных комплексов и транспортируются к рибосомам.

На модели реовирусов было показано, что обе нити двунитчатых молекул РНК остаются в составе сердцевин, а вновь синтезированные иРНК выталкиваются из сердцевин через отверстия в 12 полых цилиндрах, находящихся в составе сердцевин (рис. 17).

Регуляция транскрипции. Транскрипция вирусного генома строго регулируется на протяжении инфекционного цикла. Регуляция осуществляется как клеточными, так и вирусспецифическими механизмами. У некоторых вирусов, в основном ДНК-содержащих, существует три

периода транскрипций — сверхранняя, ранняя и поздняя. К этим вирусам относятся вирусы оспы, герпеса, папавирусы, аденовирусы. В результате сверхранней и ранней транскрипции избирательно считываются сверхранние и ранние гены с образованием сверхранних или ранних иРНК. При поздней транскрипции считывается другая часть вирусного генома — поздние гены, с образованием поздних иРНК. Количество поздних генов обычно превышает количество ранних генов. Многие сверхранние гены являются генами для неструктурных белков — ферментов и регуляторов транскрипции и репликации вирусного генома. Напротив, поздние гены обычно являются генами для структурных белков. Обычно при поздней транскрипции считывается весь геном, но с преобладанием транскрипции поздних генов.

Фактором регуляции транскрипции у ядерных вирусов является транспорт транскриптов из ядра в цитоплазму, к месту функционирования иРНК — полисомам.

Продуктом сверхранней транскрипции вирусов герпеса являются α -белки. Функция одного или нескольких из них необходима для транскрипции следующей группы генов, кодирующих β -белки. В свою очередь β -белки включают транскрипцию последней группы поздних генов, кодирующих γ -белки. Такой тип регуляции получил название «каскадной».

У РНК-содержащих вирусов синтез транскриптов также строго контролируется в отношении как количества каждого класса транскриптов, так и периода инфекции, когда определенные транскрипты синтезируются с максимальной скоростью. На ранней стадии инфекции преимущественно синтезируются транскрипты двух генов вируса гриппа — NP и NS, на поздней стадии инфекции — транскрипты генов M, NA и HA. Остальные три гена для Р-белков синтезируются примерно с одинаковой скоростью на протяжении всего периода инфекции. У реовирусов на ранней стадии инфекции преимущественно транскрибируется 4 из 10 фрагментов генома и лишь на поздней стадии транскрибируется весь геном. Однако если поместить геном вируса в бесклеточную РНК-синтезирующую систему, будет происходить равномерная транскрипция всех 10 фрагментов генома. Эти факты говорят о жестком контроле транскрипции со стороны клетки-хозяина и возможном наличии специфических клеточных регуляторов.

У парамиксовирусов и рабдовирусов весь геном пред-

ставляет собой одну транскрипционную единицу с единственным промотором (участок связывания транскриптазы и начала транскрипции) у 3'-конца. Вдоль генома существует как бы градиент эффективности транскрипции. Ближайший к 3'-концу ген (ген наиболее обильного белка NP) считывается наиболее часто. Напротив, ген для самого высокомолекулярного белка — транскриптазы, — содержащегося лишь в количестве нескольких молекул на вирион, находится на противоположном конце генома и транскрибируется значительно реже. Такая регуляция экспрессии генов путем порядка их расположения в геноме носит название «полярность». При этом способе регуляции количество молекул полипептидов определяется полярностью гена, т. е. расстоянием его от промотора.

ТРАНСЛЯЦИЯ

Синтез белка в клетке происходит в результате трансляции иРНК. Трансляцией называется процесс перевода генетической информации, содержащейся в иРНК, на специфическую последовательность аминокислот. Иными словами, в процессе трансляции осуществляется перевод 4-буквенного языка азотистых оснований на 20-буквенный язык аминокислот.

Транспортные РНК. Свою аминокислоту тРНК узнают по конфигурации ее боковой цепи, а специфический фермент аминокислот-аминоацил-синтетаза катализирует ассоциацию тРНК с аминокислотой. В клетке существует большое количество разнообразных видов тРНК. Поскольку для каждой аминокислоты должна быть своя тРНК, количество видов тРНК должно быть не меньше 20, однако в клетке их значительно больше. Это связано с тем, что для каждой аминокислоты существует не один, а несколько видов тРНК. Молекула тРНК представляет собой одностороннюю РНК со сложной структурой в виде клевого листа (рис. 18). Один ее конец связывается с аминокислотой (конец а), а противоположный — с нуклеотидами иРНК, которым они комплементарны (конец б). Три нуклеотида на иРНК кодируют одну аминокислоту и называются «триплет» или «кодон», комплементарные кодону три нуклеотида на конце тРНК называются «антикодон».

Рибосомы. Синтез белка в клетке осуществляется на рибосоме. Рибосома состоит из двух субъединиц,

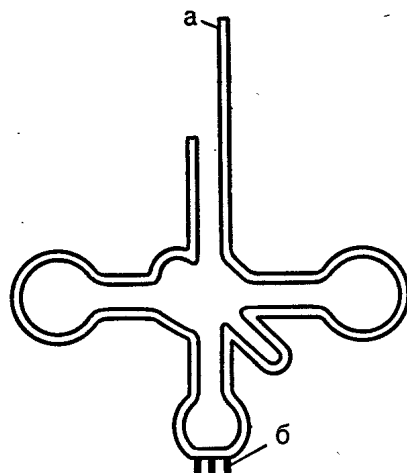


Рис. 18. Строение транспортной РНК.
а — участок связывания с аминокислотой; б — участок связывания с иРНК (антикодон).

большой и малой, малая субъединица примерно в два раза меньше большой. Обе субъединицы содержат по одной молекуле рибосомальной РНК и ряд белков. Рибосомальные РНК синтезируются в ядре на матрице ДНК с помощью РНК-полимеразы I. В малой рибосомальной субъединице есть канал, в котором находится информационная РНК. В большой рибосомальной субъединице есть две полости, захватывающие также малую рибосомальную субъединицу. Одна из них содержит аминокислотный центр (А-центр), другая — пептидный центр (П-центр) (рис. 19).

Фазы трансляции. Процесс трансляции состоит из трех фаз: 1) инициации, 2) элонгации и 3) терминации.

Инициация трансляции. Это наиболее ответственный этап в процессе трансляции, основанный на узнавании рибосомой иРНК и связывании с ее особыми участками. Рибосома узнает иРНК благодаря «шапочке» на 5'-конце и скользит к 3'-концу, пока не достигнет инициаторного кодона, с которого начинается трансляция. В эукариотической клетке инициаторным кодоном является кодон АУГ или ГУГ, кодирующие метионин. С метионина начинается синтез всех полипептидных цепей.

Вначале с иРНК связывается малая рибосомальная субъединица. К комплексу иРНК с малой рибосомальной субъединицей присоединяются другие компоненты, необходимые для начала трансляции. Это несколько молекул белка, которые называются «инициаторные факторы».

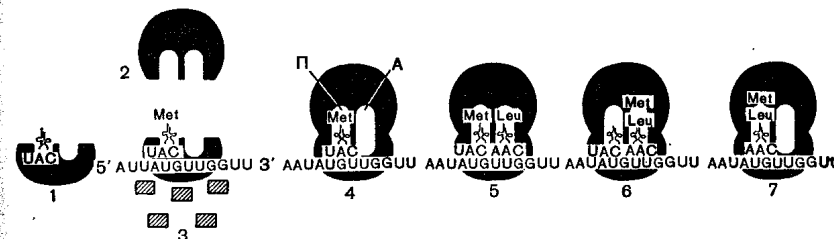


Рис. 19. Формирование и функционирование рибосомы (схема).

1 — малая рибосомальная субъединица с присоединенной инициаторной метионил-тРНК; 2 — большая рибосомальная субъединица; 3 — инициаторный комплекс, содержащий малую рибосомальную субъединицу, метионил-тРНК и иРНК; заштрихованные прямоугольники — белковые факторы инициации (9 факторов в эукариотических клетках); 4 — функционально активная рибосома; А — аминокислотный центр, П — пептидный центр в большой рибосомальной субъединице; 5, 6, 7 — процесс элонгации полипептидной цепи; показан перенос аминокислот-тРНК между двумя центрами на большой рибосомальной субъединице, осуществляемый с помощью пептидил-трансферазы.

Их по крайней мере три в прокариотической клетке и более девяти в эукариотической клетке. Инициаторные факторы определяют узнавание рибосомой специфических иРНК и, таким образом, являются определяющим фактором в дискриминации между различными иРНК, присутствующими в клетке, как правило, в избыточном количестве.

В результате формируется комплекс, необходимый для инициации трансляции, который называется инициаторным комплексом. В инициаторный комплекс входят: 1) иРНК; 2) малая рибосомальная субъединица; 3) аминокислот-тРНК, несущая инициаторную аминокислоту; 4) инициаторные факторы; 5) несколько молекул ГТФ.

В рибосоме осуществляется слияние потока информации с потоком аминокислот. Аминокислот-тРНК входит в А-центр большой рибосомальной субъединицы, и ее антикодон взаимодействует с кодоном иРНК, находящейся в малой рибосомальной субъединице. При продвижении иРНК на один кодон тРНК перебрасывается в пептидный центр, и ее аминокислота присоединяется к инициаторной аминокислоте с образованием первой пептидной связи. Свободная от аминокислоты тРНК выходит из рибосомы и может опять функционировать в транспорте специфических аминокислот. На ее место из А-центра в П-центр перебрасывается новая тРНК и образуется новая пептидная связь. В А-центре появляется вакантный кодон иРНК, к которому немедленно присоединяется

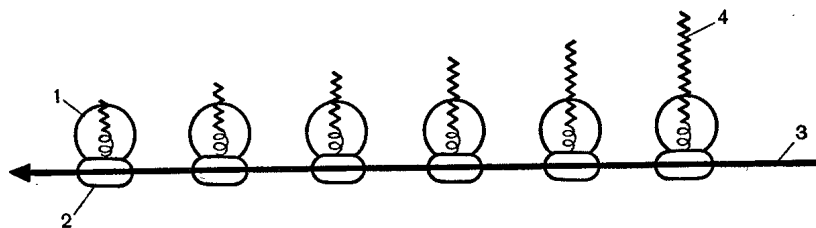


Рис. 20. Синтез белков на полисомах.
1 — большая рибосомальная субъединица; 2 — малая рибосомальная субъединица; 3 — иРНК; 4 — растущая полипептидная нить.

соответствующая тРНК и происходит присоединение новых аминокислот к растущей полипептидной цепи (см. рис. 19).

Элонгация трансляции. Это процесс удлинения, наращивания полипептидной цепи, основанный на присоединении новых аминокислот с помощью пептидной связи. Происходит постоянное протягивание нити иРНК через рибосому и «декодирование» заложенной в ней генетической информации (рис. 20). иРНК функционирует на нескольких рибосомах, каждая из которых синтезирует одну и ту же полипептидную нить, кодируемую данной иРНК. Группа рибосом, работающих на одной молекуле иРНК, называется полирибосомой, или полисомой. Размер полисом значительно варьирует в зависимости от длины молекулы иРНК, а также от расстояния между рибосомами. Так, полисомы, которые синтезируют гемоглобин, состоят из 4—6 рибосом, высокомолекулярные белки синтезируются на полирибосомах, содержащих 20 и более рибосом.

Терминация трансляции. Терминация трансляции происходит в тот момент, когда рибосома доходит до терминирующего кодона в составе иРНК. Трансляция прекращается, и полипептидная цепь освобождается из полирибосомы. После окончания трансляции полирибосомы распадаются на субъединицы, которые могут войти в состав новых полирибосом.

Свойства полирибосом. По топографии в клетке полирибосомы делят на две большие группы — свободные и связанные с мембранами эндоплазматической сети, которые составляют соответственно 75 и 25%. Между двумя группами полирибосом нет принципиальных структурных и функциональных различий, они формируются из одного и того же пула субъединиц и в процессе трансляции могут обмениваться субъединицами. Мембраны, с

которыми связаны полирибосомы, называются грубыми или шероховатыми мембранами в отличие от гладких мембран, не содержащих полирибосомы. Связь полирибосом с мембранами осуществляется с помощью сигнального пептида — специфической последовательности на аминоконце синтезирующихся гликопротеидов. На связанных с мембранами полирибосомах синтезируются внутримембранные белки, которые сразу же после синтеза оказываются в составе мембран.

Трансляция в зараженных вирусом клетках. Стратегия вирусного генома, использующего клеточный аппарат трансляции, должна быть направлена на создание механизма для подавления трансляции собственных клеточных иРНК и для избирательной трансляции вирусных иРНК, которые всегда находятся в значительно меньшем количестве, чем клеточные матрицы. Этот механизм реализуется на уровне специфического узнавания малой рибосомальной субъединицей вирусных иРНК, т. е. на уровне формирования иницирующего комплекса. Поскольку многие вирусы не подавляют синтез клеточных иРНК, в зараженных клетках возникает парадоксальная ситуация: прекращается трансляция огромного фонда функционально активных клеточных иРНК, и на освободившихся рибосомах начинается трансляция одиночных молекул вирусных иРНК. Специфическое узнавание рибосомой вирусных иРНК осуществляется за счет вирусспецифических инициаторных факторов.

Два способа формирования вирусных белков. Поскольку геном вируса животных представлен молекулой, кодирующей более чем один белок, вирусы поставлены перед необходимостью синтеза либо длинной иРНК, кодирующей один гигантский полипептид-предшественник, который затем должен быть нарезан в специфических точках на функционально активные белки, либо коротких моноцистронных иРНК, каждая из которых кодирует один белок. Таким образом, существуют два способа формирования вирусных белков: 1) иРНК транслируется в гигантский полипептид-предшественник, который после синтеза последовательно нарезается на зрелые функционально активные белки; 2) иРНК транслируется с образованием зрелых белков, или белков, которые лишь незначительно модифицируются после синтеза.

Первый способ трансляции характерен для РНК-содержащих «плюс-нитевых» вирусов — пикорнавирусов и тогавирусов. Их иРНК транслируется в гигантскую поли-

пептидную цепь, так называемый полипротеид, который сползает в виде непрерывной ленты с рибосомного «конвейера» и нарезается на индивидуальные белки нужного размера. Нарезание вирусных белков является многоступенчатым процессом, осуществляемым как вирусспецифическими, так и клеточными протеазами. В клетках, зараженных пикорнавирусами, на конце полипротеина-предшественника находится белок с протеазной активностью. Вирусная протеаза осуществляет нарезание предшественника на 3 фрагмента, один из которых является предшественником для структурных белков, второй — для неструктурных белков, функции третьего фрагмента неизвестны. В дальнейшем нарезании участвуют вирусспецифические и клеточные протеазы.

Интересный вариант первого способа трансляции обнаруживается у альфа-вирусов (семейство тогавирусов). Геномная РНК с коэффициентом седиментации 42 S транслируется с образованием полипептида-предшественника для неструктурных белков. Однако доминирующей в зараженных клетках иРНК является РНК с коэффициентом седиментации 26 S, составляющая одну треть геномной РНК. Эта иРНК транслируется с образованием предшественника для структурных белков.

Второй способ формирования белков характерен для ДНК-содержащих вирусов и большинства РНК-содержащих вирусов. При этом способе синтезируются короткие моноцистронные иРНК в результате избирательной транскрипции одного участка генома (гена). Однако все вирусы широко используют механизм посттрансляционного нарезания белка.

Вирусспецифические полисомы. Поскольку длина вирусных иРНК варьирует в широких пределах, размер вирусспецифических полисом также широко варьирует: от 3—4 до нескольких десятков рибосом на одной нити иРНК. При инфекциях, вызванных пикорнавирусами, формируются крупные полисомы, представляющие собой агрегаты, состоящие из 20—60 рибосом. При инфекциях, вызванных другими вирусами животных, использующими второй способ трансляции, формируются полисомы небольшого размера. Между размерами иРНК и величиной полисом существует определенная корреляция, однако в ряде случаев полисомы имеют больший или меньший размер по сравнению с ожидаемым. Эта особенность вирусных полисом объясняется необычным пространственным расположением рибосом на вирусных матрицах,

связанных с меньшей плотностью упаковки рибосом на молекуле иРНК.

Вирусспецифические полисомы могут быть как свободными, так и связанными с мембранами. В зараженных вирусом полиомиелита клетках полипротеид синтезируется на связанных с мембранами полисомах; при инфекциях, вызванных сложно устроенными вирусами, формируются как свободные, так и связанные с мембранами полисомы, которые вовлечены в синтез разных классов вирусных полипептидов. Внутренние белки обычно синтезируются на свободных полисомах, гликопротеиды всегда синтезируются на полисомах, связанных с мембранами.

Модификация вирусных белков. В эукариотической клетке многие белки, в том числе вирусные, подвергаются посттрансляционным модификациям, и зрелые функционально активные белки часто не идентичны их вновь синтезированным предшественникам. Широко распространены такие посттрансляционные ковалентные модификации, как гликозилирование, ацилирование, метилирование, сульфирование (образование дисульфидных связей), протеолитическое нарезание и, наконец, фосфорилирование. В результате вместо 20 генетически закодированных аминокислот из различных клеток разных органов эукариотов выделено около 140 дериватов аминокислот.

Среди широкого спектра модифицированных реакций лишь небольшое количество процессов является обратимыми: 1) фосфорилирование-дефосфорилирование; 2) ацилирование-деацилирование; 3) метилирование-деметилирование; 4) образование дисульфидных связей. Среди подобных обратимых модификаций белков следует искать процессы, обуславливающие механизм регуляции активности белков в эукариотической клетке.

Гликозилирование. В составе сложно устроенных РНК- и ДНК-содержащих вирусов имеются белки, содержащие ковалентно присоединенные боковые цепочки углеводов — гликопротеиды. Гликопротеиды расположены в составе вирусных оболочек и находятся на поверхности вирусных частиц. Своей гидрофобной частью они погружены в двойной слой липидов, а некоторые гликопротеиды проникают через него и взаимодействуют с внутренним компонентом вируса (рис. 21). Гидрофильная часть молекулы обращена наружу.

Синтез и внутриклеточный транспорт гликопротеидов характеризуется рядом особенностей, присущих клеточным внутримембранным белкам. Их синтез осуществ-

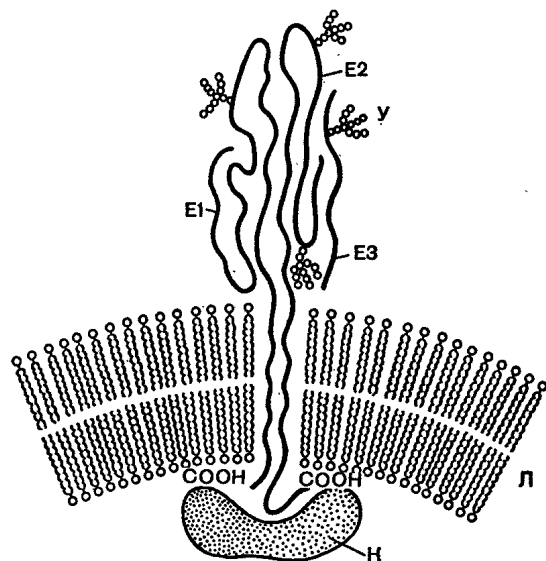


Рис. 21. Строение липопротеидной оболочки вируса Синдбис. E1, E2, E3 — молекулы вирусных гликопротеидов; K — капсидный белок; Y — углеводные цепочки; Л — липидный бислой.

ляется на полисомах, ассоциированных с мембранами, и белки сразу же после синтеза попадают в шероховатые мембраны, откуда транспортируются в мембраны эндоплазматической сети и в комплекс Гольджи, где происходит модификация и комплектование углеводной цепочки, а затем — в плазматическую мембрану в ряде случаев путем слияния с ней везикул комплекса Гольджи. Такой целенаправленный транспорт осуществляется благодаря имеющейся на аминоконце белка специфической последовательности из 20—30 аминокислот (сигнальному пептиду). Сигнальный пептид отрезается от белковой молекулы после того, как гликопротеид достигает плазматической мембраны.

Гликозилирование полипептидов является сложным многоступенчатым процессом, первые этапы которого начинаются уже в процессе синтеза полипептидов, и первый сахар присоединяется к полипептидной цепи, еще не сошедшей с рибосомы. Последующие этапы гликозилирования происходят путем последовательного присоединения сахаров в виде блоков к углеводной цепочке в процессе транспорта полипептида к плазматической мембране. Окончательное формирование углеводной

цепочки может завершаться на плазматической мембране перед сборкой вирусной частицы. Процесс гликозилирования не влияет на транспорт полипептида к плазматической мембране, но имеет существенное значение для экспрессии биологической активности белка. При подавлении гликозилирования соответствующими ингибиторами (аналоги сахаров типа 2-дезоксиглюкозы, антибиотик туникамицин) нарушается синтез полипептидов, блокируется сборка вирионов миксовирусов, рабдовирусов, альфавирусов или образуются неинфекционные вирионы герпеса и онковирусов.

Сульфирование. Некоторые белки сложно устроенных РНК- и ДНК-содержащих вирусов сульфированы после трансляции. Чаще всего сульфированию подвергаются гликопротеиды, при этом сульфатная группа связывается с сахарным компонентом гликопротеида.

Ацилирование. Ряд гликопротеидов сложно устроенных РНК-содержащих вирусов (НА2 вируса гриппа, белок G вируса везикулярного стоматита, белок HN вируса Ньюкаслской болезни и др.) содержат ковалентно связанные 1—2 молекулы жирных кислот.

Нарезание. Многие вирусные белки и в первую очередь гликопротеиды приобретают функциональную активность лишь после того, как произойдет их нарезание в специфических точках протеолитическими ферментами. Нарезание происходит либо с образованием двух функциональных белковых субъединиц (например, большая и малая субъединицы гемагглютиниона вируса гриппа, два гликопротеида, E₂ и E₃, вируса леса Семлики) либо с образованием одного функционально активного белка и неактивного фрагмента, например белки F и HN парамиксовирусов. Нарезание обычно осуществляется клеточными ферментами. У многих сложно устроенных вирусов животных, имеющих гликопротеид, нарезание необходимо для формирования активных прикрепительных белков и белков слияния и, следовательно, для приобретения вирусом способности инфицировать клетку. Лишь после нарезания этих белков вирусная частица приобретает инфекционную активность. Таким образом, можно говорить о протеолитической активации ряда вирусов, осуществляемой с помощью клеточных ферментов.

Фосфорилирование. Фосфорпротеиды содержатся практически в составе всех вирусов животных, РНК- и ДНК-содержащих, просто и сложно устроенных. В составе большинства вирусов обнаружены протеинкиназы, однако

фосфорилирование может осуществляться как вирусными, так и клеточными ферментами. Обычно фосфорилируются белки, связанные с вирусным геномом и осуществляющие регулируемую роль в его экспрессии. Одним из примеров является фосфорилирование белка онкогенных вирусов, обуславливающего клеточную трансформацию. Этот белок является продуктом гена *Sgc* и одновременно протеинкиназой и фосфопротеидом, т. е. способен к самофосфорилированию.

С процессом фосфорилирования связан механизм антивирусного действия интерферона. В зараженных вирусом клетках интерферон индуцирует синтез протеинкиназы, которая фосфорилирует субъединицу иницирующего фактора трансляции ЭИФ-2, в результате чего блокируется трансляция вирусных информационных РНК. Фосфорилирование белков играет регулируемую роль в транскрипции и трансляции вирусных иРНК, специфическом узнавании вирусных иРНК рибосомой, белок-нуклеиновом и белок-белковом узнавании на стадии сборки вирусных частиц.

РЕПЛИКАЦИЯ

Репликацией называется синтез молекул нуклеиновой кислоты, гомологичных геному. В клетке происходит репликация ДНК, в результате которой образуются дочерние двунитчатые ДНК. Репликация происходит на расплетенных участках ДНК и идет одновременно на обеих нитях от 5'-конца к 3'-концу (рис. 22). Поскольку две нити ДНК имеют противоположную полярность 5'→3' и 3'→5', а участок репликации («вилка») движется в одном направлении, одна цепь строится в обратном направлении отдельными фрагментами, которые называются фрагментами Оказаки (по имени ученого, впервые предложившего такую модель). После синтеза фрагменты Оказаки «сшиваются» лигазой в единую нить.

Репликация ДНК осуществляется ДНК-полимеразами. Для начала репликации необходим предварительный синтез короткого участка РНК на матрице ДНК, который называется затравкой. С затравки начинается синтез нити ДНК, после чего РНК быстро удаляется с растущего участка.

Репликация вирусных ДНК. Репликация генома ДНК-содержащих вирусов в основном катализируется клеточ-

ными фрагментами и механизм ее сходен с механизмом репликации клеточной ДНК.

Каждая вновь синтезированная молекула ДНК состоит из одной родительской и одной вновь синтезированной нити. Такой механизм репликации называется полуконсервативным.

У вирусов, содержащих кольцевые двунитчатые ДНК (паповавирусы), разрезается одна из нитей ДНК, что ведет к раскручиванию и снятию супервитков на определенном участке молекулы (рис. 23).

При репликации однонитчатых ДНК (семейство парвовирусов) происходит образование двунитчатых форм, которые представляют собой промежуточные репликативные формы.

Репликация вирусных РНК. В клетке нет ферментов, способных осуществить репликацию РНК. Поэтому ферменты, участвующие в репликации, всегда вирусспецифические. Репликацию осуществляет тот же фермент, что и транскрипцию; репликаза является либо модифицированной транскриптазой, либо при репликации соответствующим образом модифицируется матрица.

Репликация однонитчатых РНК осуществляется в два этапа: вначале синтезируются комплементарные геному нити, которые в свою очередь становятся матрицами для синтеза копий генома. У «минус-нитевых» вирусов первый этап репликации — образование комплементарных нитей сходен с процессом транскрипции. Однако между ними есть существенное отличие: если при транскрипции считываются определенные участки генома, то при репликации считывается весь геном. Например, иРНК парамиксовирусов и рабдовирусов являются короткими молекулами, комплементарными разным участкам генома, а

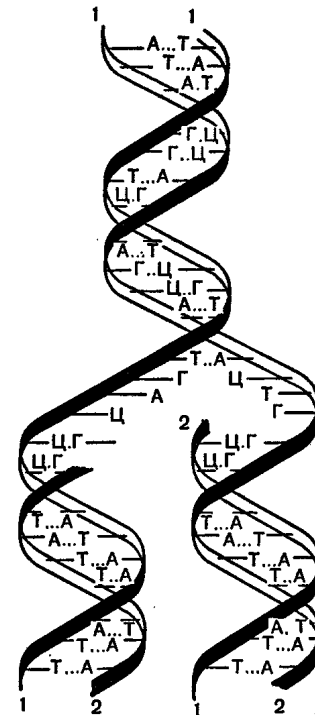


Рис. 22. Репликация ДНК (схема).

Полинуклеотидные цепи двойной спирали ДНК расплетаются и образуются две новые двойные спирали. Каждая из них состоит из родительской (1) и вновь синтезированной (2) цепи.

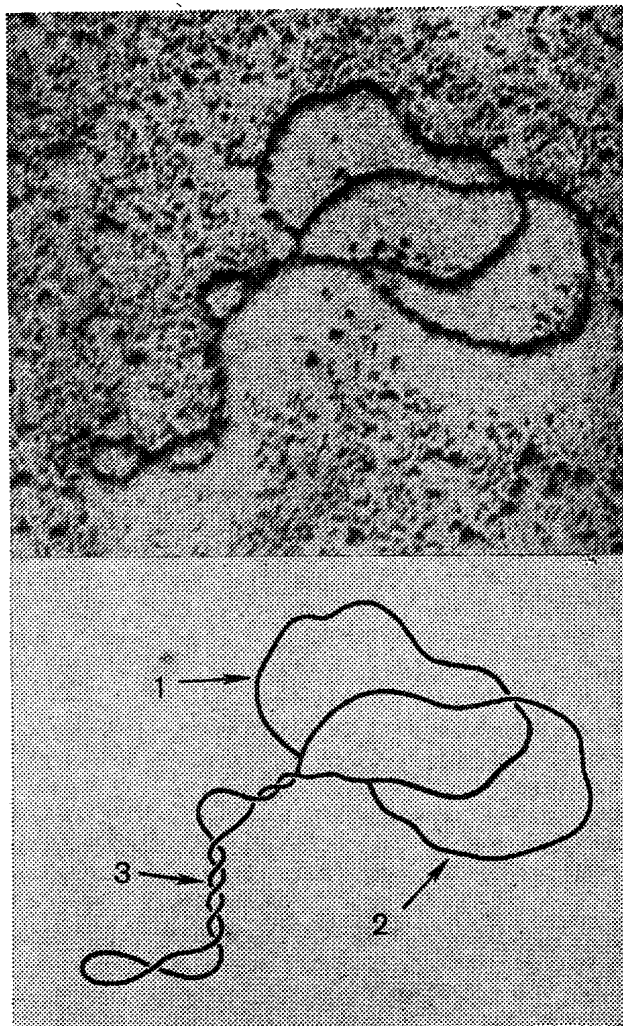


Рис. 23. Молекула ДНК вируса SV40 в процессе репликации. Вверху — электронная микрофотография, внизу — схема. Видна нижняя суперспирализованная часть молекулы (3), расплетенная часть на большом участке и вновь образуемые репликационные петли (1 и 2).

и РНК вируса гриппа на 20—30 нуклеотидов короче каждого фрагмента генома. В то же время матрицы для репликации являются полной комплементарной последовательностью генома и называются антигеномом.

В зараженных клетках существует механизм переключения транскрипции на репликацию. У «минус-нитевых»

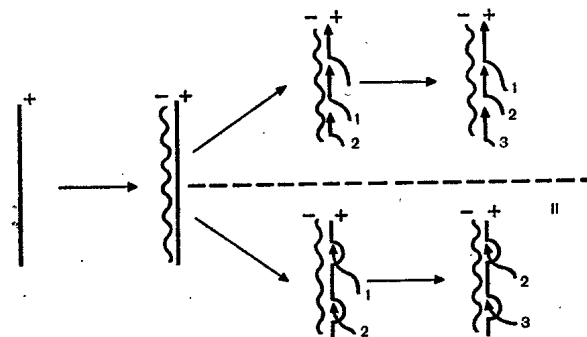


Рис. 24. Два способа репликации «плюс-нитевой» РНК (схема). I — вытеснение ранее синтезированной нити растущей «плюс-нитью»; II — консервирование двухспиральной матрицы; 1, 2, 3 — вновь синтезированные нити РНК.

вирусов этот механизм обусловлен маскировкой точек терминации транскрипции на матрице генома, в результате чего происходит сквозное считывание генома. Точки терминации маскируются одним из вирусных белков.

При репликации растущая «плюс-нить» вытесняет ранее синтезированную «плюс-нить» либо двухспиральная матрица консервируется (рис. 24). Более распространен первый механизм репликации.

Репликативные комплексы. Поскольку образующиеся нити ДНК и РНК некоторое время остаются связанными с матрицей, в зараженной клетке формируются репликативные комплексы, в которых осуществляется весь процесс репликации (а в ряде случаев также и транскрипции) генома. Репликативный комплекс содержит геном, репликазу и связанные с матрицей вновь синтезированные цепи нуклеиновых кислот. Вновь синтезированные геномные молекулы немедленно ассоциируются с вирусными белками, поэтому в репликативных комплексах обнаруживаются антигены. В процессе репликации возникает частично двунитчатая структура с однонитчатыми «хвостами», так называемый репликативный предшественник (РП).

Репликативные комплексы ассоциированы с клеточными структурами либо с предсуществующими, либо вирусиндуцируемыми. Например, репликативные комплексы пикорнавирусов ассоциированы с мембранами эндоплазматической сети, вирусов оспы — с цитоплазматическим матриксом, репликативные комплексы аденовирусов и вирусов герпеса в ядрах находятся в ассоциации со вновь

сформированными волокнистыми структурами и связаны с ядерными мембранами. В зараженных клетках может происходить усиленная пролиферация клеточных структур, с которыми связаны репликативные комплексы, или их формирование из предсуществующего материала. Например, в клетках, зараженных пикорнавирусами, происходит пролиферация гладких мембран. В клетках, зараженных реовирусами, наблюдается скопление микротрубочек; в клетках, зараженных вирусами оспы, происходит формирование цитоплазматического матрикса.

В репликативных комплексах одновременно с синтезом геномных молекул осуществляется транскрипция и происходит сборка нуклеокапсидов и сердцевин, а при некоторых инфекциях — и вирусных частиц. О сложной структуре репликативных комплексов говорит, например, такой состав репликативного комплекса аденовирусов: реплицирующиеся ДНК, одностранные ДНК, одностранные РНК, ферменты репликации и транскрипции, структурные и неструктурные вирусные белки и ряд клеточных белков.

Регуляция репликации. Вновь образованная молекула геномной РНК может быть использована различным образом. Она может ассоциироваться с капсидными белками и войти в состав вириона, служить матрицей для синтеза новых геномных молекул, либо — для образования иРНК, наконец, у «плюс-нитевых» вирусов она может выполнять функции иРНК и связываться с рибосомами. В клетке существуют механизмы, регулирующие использование геномных молекул. Регуляция идет по принципу саморегуляции и реализуется путем взаимодействия вирусных РНК и белков благодаря возможности белокнуклеинового и белок-белкового узнавания. Например, роль терминального белка пикорнавирусов заключается в запрещении трансляции иРНК и отборе молекул для формирования вирионов. Белок, связывающийся с 5'-концом геномной РНК, в свою очередь узнается капсидными белками и служит сигналом для сборки вирусной частицы с участием данной молекулы РНК. По тому же принципу отбираются геномные молекулы РНК у «минус-нитевых» вирусов: к 3'-концу геномных РНК присоединяется молекула капсидного вирусного белка, к которой подстраиваются другие белковые субъединицы в результате белок-белкового узнавания, и такая молекула РНК войдет в состав вириона или послужит матрицей для репликации. Для

переключения ее на транскрипцию должен возникнуть запрет белокнуклеинового взаимодействия. В репликации ДНК аденовирусов участвует молекула белка, которая связывается с концом вирусной ДНК и необходима для начала репликации. Таким образом, для начала репликации необходим синтез вирусных белков: в присутствии ингибиторов белкового синтеза отсутствует переключение транскрипции на репликацию.

СБОРКА ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ

Синтез компонентов вирусных частиц в клетке разобщен и может протекать в разных структурах ядра и цитоплазмы. Вирусы, репликация которых проходит в ядрах, условно называют ядерными. В основном это ДНК-содержащие вирусы: аденовирусы, папавирусы, парвовирусы, вирусы герпеса. Вирусы, реплицирующиеся в цитоплазме, называют цитоплазматическими. К ним относятся из ДНК-содержащих вирус оспы и большинство РНК-содержащих вирусов, за исключением ортомиксовирусов и ретровирусов. Однако это разделение весьма относительно, потому что в репродукции тех и других вирусов есть стадии, протекающие соответственно в цитоплазме и ядре.

Внутри ядра и цитоплазмы синтез вируссpezifических молекул также может быть разобщен. Так, например, синтез одних белков осуществляется на свободных полисомах, а других — на полисомах, связанных с мембранами. Вирусные нуклеиновые кислоты синтезируются в ассоциации с клеточными структурами вдали от полисом, которые синтезируют вирусные белки. При таком дисъюнктивном способе репродукции образование вирусной частицы возможно лишь в том случае, если вирусные нуклеиновые кислоты и белки обладают способностью при достаточной концентрации узнавать друг друга в многообразии клеточных белков и нуклеиновых кислот и самопроизвольно соединяться друг с другом, т. е. способны к самосборке.

В основе самосборки лежит специфическое белокнуклеиновое и белок-белковое узнавание, которое может происходить в результате гидрофобных, солевых и водородных связей, а также стерического соответствия. Белокнуклеиновое узнавание ограничено небольшим участком молекулы нуклеиновой кислоты и определяется уникальными последовательностями нуклеотидов в неко-

дирующей части вирусного генома. С этого узнавания участка генома вирусными капсидными белками начинается процесс сборки вирусной частицы. Присоединение остальных белковых молекул осуществляется за счет специфических белок-белковых взаимодействий или неспецифических белок-нуклеиновых взаимодействий.

В связи с разнообразием структуры вирусов животных разнообразны и способы формирования вирионов, однако можно сформулировать следующие общие принципы сборки.

1. У просто устроенных вирусов формируются провирионы, которые затем в результате модификаций белков превращаются в вирионы. У сложно устроенных вирусов сборка осуществляется многоступенчато. Сначала формируются нуклеокапсиды или сердцевин, с которыми взаимодействуют белки наружных оболочек.

2. Сборка сложно устроенных вирусов (за исключением сборки вирусов оспы и реовирусов) осуществляется на клеточных мембранах. Сборка ядерных вирусов происходит с участием ядерных мембран, сборка цитоплазматических вирусов — с участием мембран эндоплазматической сети или плазматической мембраны, куда независимо друг от друга прибывают все компоненты вирусной частицы.

3. У ряда сложно устроенных вирусов существуют специальные гидрофобные белки, выполняющие функции посредников между сформированными нуклеокапсидами и вирусными оболочками. Такими белками являются матриксные белки у ряда «минус-нитевых» вирусов (ортомиксовирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов).

4. Сборка нуклеокапсидов, сердцевин, провирионов и вирионов происходит не во внутриклеточной жидкости, а в специальных структурах, предсуществующих в клетке или индуцированных вирусом («фабриках»).

5. Сложно устроенные вирусы для построения своих частиц используют ряд элементов клетки-хозяина, например липиды, некоторые ферменты, у ДНК-геномного SV40 — гистоны, у оболочечных РНК-геномных вирусов — актин, а в составе ареновирусов обнаружены даже рибосомы. Клеточные молекулы несут определенные функции в вирусной частице, однако включение их в вирион может явиться и следствием случайной контаминации, как, например, включение ряда ферментов клеточных оболочек или клеточных нуклеиновых кислот.

Сборка РНК-содержащих вирусов. Сборка просто

устроенных РНК-содержащих вирусов заключается в ассоциации вирусного генома с вирусными капсидными белками с образованием нуклеокапсидов.

У сложно устроенных РНК-содержащих вирусов процессы сборки нуклеокапсидов, сердцевин и зрелых вирионов обычно разобщены. Нуклеокапсиды мигрируют к месту сборки вирусных частиц — плазматической мембране (или мембранам эндоплазматической сети) и упорядоченно выстраиваются под участками мембран, с наружной стороны которых уже встроены вирусные суперкапсидные белки. Сборка заключается в том, что участки, содержащие гликопротеиды с примыкающими к ним нуклеокапсидами, постепенно выпячиваются через модифицированную клеточную мембрану. В результате выпячивания образуется «почка», содержащая нуклеокапсид и оболочку с суперкапсидными белками (см. рис. 10, а). «Почка» отделяется от клеточной мембраны с образованием свободной вирусной частицы. Такой способ формирования вирусных частиц называется почкованием. Почкование может происходить через плазматическую мембрану клетки в наружную среду, как у ортомиксовирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов и альфа-вирусов, либо через мембраны эндоплазматической сети в вакуоли (см. рис. 10, б), как у ареновирусов и буньявирусов. В основе выпячивания почки через мембрану лежат обычные клеточные процессы, направленные на отторжение непригодного для клетки материала и обновление мембран. Участок будущей почки содержит фиксированный нуклеокапсид, ассоциированный с суперкапсидными белками, но движение мембранных липидов продолжается в силу их текучести, липиды обволакивают будущую почку и вместе с ними из «почки» вытесняются клеточные мембранные белки. В результате этого движения происходит выбухание «почки» над клеточной мембраной. Механизм образования «почки» объясняет, почему в составе почкующихся вирусов не содержится клеточных мембранных белков.

Все вирусные компоненты — нуклеокапсиды и суперкапсидные белки прибывают к месту сборки независимо друг от друга. Первыми к месту сборки прибывают суперкапсидные белки. Обычно этими белками являются гликопротеиды, которые синтезируются в полисомах, связанных с мембранами, и через шероховатые, а затем гладкие мембраны в результате слияния с ними везикул комплекса Гольджи транспортируются на наружную

поверхность плазматических мембран или остаются в составе везикул.

Включение гликопротеидов в определенные зоны клеточных мембран приводит к модификациям мембран. Нуклеокапсид узнает эти участки и подходит к ним с внутренней стороны липидного бислоя. Узнавание осуществляется с помощью одного из двух механизмов, 1) нуклеокапсид взаимодействует с участком гликопротеида, пронизывающим клеточную мембрану и вышедшим на ее внутреннюю поверхность (см. рис. 21). Такой механизм имеет место у альфа-вирусов; гидрофобный фрагмент гликопротеида Е1 проникает через липидный слой на его внутреннюю поверхность, и с этим фрагментом связываются нуклеокапсиды, которые позже войдут в состав «почки»; 2) в сборку вовлекается еще один вирусный белок, являющийся медиатором сборки, который называется мембранным, или матриксным белком. М-белок синтезируется на свободных полисомах, но сразу после синтеза встраивается в клеточные мембраны с внутренней цитоплазматической стороны липидного бислоя. Этот белок в высокой степени гидрофобен и поэтому способен к белок-белковым и белоклипидным взаимодействиям.

Включение М-белка в клеточные мембраны является сигналом для сборки вирусной частицы: вслед за включением немедленно следует связывание нуклеокапсидов с мембранами и почкование вирусной частицы. Тем самым М-белок обладает функцией лимитирующего сборки фактора.

Сборка ДНК-содержащих вирусов. В сборке ДНК-содержащих вирусов есть некоторые отличия от сборки РНК-содержащих вирусов. Как и у РНК-содержащих вирусов, сборка ДНК-содержащих вирусов является многоступенчатым процессом с образованием промежуточных форм, отличающихся от зрелых вирионов по составу полипептидов. Первый этап сборки заключается в ассоциации ДНК с внутренними белками и формировании сердцевин или нуклеокапсидов. При этом ДНК соединяется с предварительно сформированными «пустыми» капсидами.

В результате связывания ДНК с капсидами появляется новый класс промежуточных форм, которые называются неполными формами. Помимо неполных форм с разным содержанием ДНК, существует другая промежуточная форма в морфогенезе — незрелые вирионы, отличающиеся от зрелых тем, что содержат ненарезанные предшественники полипептидов. Таким образом, морфогенез

вирусов тесно связан с модификацией (процессингом) белков.

Сборка ядерных вирусов начинается в ядре, обычно — с ассоциации с ядерной мембраной. Формирующиеся в ядре промежуточные формы вируса герпеса почкуются в перинуклеарное пространство через внутреннюю ядерную мембрану, и вирус приобретает таким путем оболочку, которая является дериватом ядерной мембраны. Дальнейшая достройка и созревание вирионов происходит в мембранах эндоплазматической сети и в аппарате Гольджи, откуда вирус в составе цитоплазматических везикул транспортируется на клеточную поверхность.

У непочкующихся липидсодержащих вирусов — вирусов оспы сборка вирионов происходит в уже описанных цитоплазматических вирусных «фабриках». Липидная оболочка вирусов в «фабриках» формируется из клеточных липидов путем автономной самосборки, поэтому липидный состав оболочек значительно отличается от состава липидов в клеточных мембранах.

ВЫХОД ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ИЗ КЛЕТКИ

Существуют два способа выхода вирусного потомства из клетки: 1) путем «взрыва»; 2) путем почкования.

Выход из клетки путем взрыва связан с деструкцией клетки, нарушением ее целостности, в результате чего находящиеся внутри клетки зрелые вирусные частицы оказываются в окружающей среде. Такой способ выхода из клетки присущ вирусам, не содержащим липопротеидной оболочки (пикорна-, рео-, парво-, папова-, аденовирусы). Однако некоторые из этих вирусов могут транспортироваться на клеточную поверхность до гибели клетки.

Выход из клеток путем почкования присущ вирусам, содержащим липопротеидную мембрану, которая является дериватом клеточных мембран. При этом способе клетка может длительное время сохранять жизнеспособность и продуцировать вирусное потомство, пока не произойдет полное истощение ее ресурсов.

Глава 7. ГЕНЕТИКА ВИРУСОВ

Величайшие достижения середины XX века — открытие дискретных единиц наследственности (генов), разработка хромосомной теории наследственности, развитие

биохимической генетики микроорганизмов и установление принципа «один ген — один белок», открытие регуляции активности генов прокариотов Ф. Жакобом и Ж. Моно, открытие двойной спирали ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком и др. создали основу для превращения генетики классической в генетику молекулярную, где законы наследственности и изменчивости изучаются на молекулярном и субмолекулярном уровнях.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА КЛЕТКИ

В составе генома имеются структурные гены, кодирующие определенные биополимеры (белки или РНК), и регуляторные гены, которые контролируют функцию структурных генов. Регуляция происходит с помощью белковых продуктов регуляторных генов — репрессоров, подавляющих активность структурных генов. Регуляторными участками генов, контролирующими транскрипцию, являются усилитель транскрипции (enhancer) и промотор — область, предшествующая структурным генам и определяющая место специфического связывания РНК-полимеразы.

Характерной особенностью генов эукариотической клетки является их мозаичная структура, т. е. прерывистость гена. В составе гена, кодирующего один белок, кодирующие участки прерываются вставочными последовательностями, которые не несут никакой кодирующей информации и не транслируются. Кодирующие участки гена называются экзонами, а вставки — интронами (рис. 25).

При транскрипции считывается весь ген, включая экзоны и интроны. Впоследствии происходит созревание (процессинг) иРНК: из образовавшегося длинного первичного транскрипта удаляются участки, соответствующие интронам, а участки, соответствующие экзонам, «сшиваются». В результате подобной модификации из первичного транскрипта образуется зрелая иРНК. Этот процесс вырезания интронов и сшивания экзонов называется сплайсингом (от английского слова splice — соединять, сращивать концы каната).

Сплайсинг был впервые описан на модели ДНК-содержащих вирусов животных — SV40 и аденовирусов.

В геноме эукариотов наряду с уникальными содержатся и повторяющиеся гены (гены рибосомных и тРНК и гистонов). Как и у прокариотов, в большом количестве обнаружены короткие и более длинные повторяющиеся

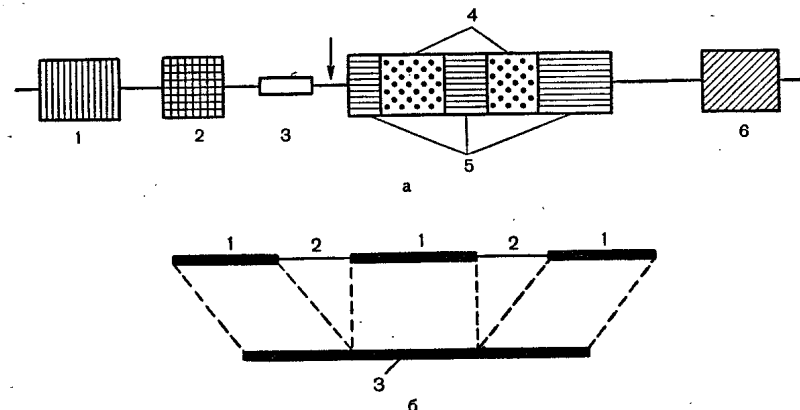


Рис. 25. Строение эукариотического гена и его транскрипция.

а — строение эукариотического гена SV40: 1 — усилитель транскрипции; 2 — промотор; 3 — инициация репликации ДНК вируса (origin); 4 — интроны; 5 — экзоны (кодирующие области гена); 6 — терминирующая последовательность AATAAA; стрелка обозначает участок начала транскрипции, б — схема сплайсинга при созревании иРНК: 1 — экзоны, 2 — интроны, 3 — зрелая иРНК.

нуклеотидные последовательности, которые обладают способностью перемещаться по геному, они названы «прыгающими генами», транспозонами, или мобильными диспергированными генами. В состав этих генов входят сигнальные последовательности, перемещение которых может резко ускорять транскрипцию соседних генов. Открытие мобильных диспергированных генов изменило наши представления о геноме как аппарате со стабильной и постоянной структурой и свидетельствует о его гибкости и пластичности, не исключающих создания новых генов и генных семейств.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА ВИРУСА

Вирусы являются одним из любимых объектов молекулярной генетики благодаря простому строению и малой молекулярной массе их геномов, которая в 10^6 раз меньше массы генома эукариотической клетки. Организация генетического аппарата у ряда вирусов, например у SV40, настолько сходна с таковой генов эукариотической клетки, что получила название минихромосомы. Минихромосома широко используется для изучения организации и репликации ДНК.

Число генов у вирусов значительно варьирует: от 3—4 генов у просто устроенных вирусов (парвовирусы) до

150 генов и больше у сложно устроенных (вирус оспы). Геном вирусов животных является гаплоидным, за исключением ретровирусов, которые имеют диплоидный геном, представленный двумя идентичными молекулами РНК. У вирусов с фрагментарным геномом (вирусы гриппа, реовирусы) каждый фрагмент обычно представляет собой один ген.

Так же, как и геном эукариотической клетки, ДНК-геном ряда вирусов животных имеет мозаичную структуру, при которой смысловые последовательности чередуются с неинформативными последовательностями. Механизм сплайсинга при формировании иРНК широко распространен и среди вирусов, имеющих ядерную локализацию транскрипции (адено-, папова-, герпесвирусы), поскольку ферменты, осуществляющие сплайсинг, находятся в ядре. Однако сплайсинг был обнаружен и у РНК-содержащих вирусов. Например, у вирусов гриппа происходит сплайсинг транскриптов 7-го и 8-го генов; в результате сплайсинга и сдвига рамки трансляции продуктами каждого из этих генов являются по два уникальных белка.

В составе генов ДНК-содержащих вирусов есть регуляторные участки, в том числе промотор, контролирующая функцию структурных генов. Сильными промоторами являются концы многих вирусных ДНК, представляющие собой длинные концевые повторы, сильный промотор имеют гены тимидинкиназы вирусов оспы и герпеса. Эти промоторы используются в генной инженерии для усиления транскрипции изучаемого гена.

СПОСОБЫ УВЕЛИЧЕНИЯ ИНФОРМАЦИОННОЙ ЕМКОСТИ ВИРУСНОГО ГЕНОМА

В отличие от полицистронных иРНК прокариотов, иРНК эукариотов являются мооцистронными, т. е. реализуется принцип «один ген — одна молекула иРНК — один белок». Однако у некоторых клеточных иРНК и часто у вирусных иРНК этот принцип нарушается, и иРНК может направлять синтез двух белков.

У многих вирусов молекулярная масса синтезирующихся белков превышает теоретически рассчитанную. Этот феномен объясняется наличием у вирусов механизмов, позволяющих получить развернутую генетическую информацию при максимальной экономии генетического материала; подсбные механизмы выработаны в процессе эволюции вирусов как генетических паразитов.

Способами увеличения генетической информации являются: 1) двукратное считывание одной и той же иРНК, но с другого иницирующего кодона; 2) сдвиг рамки трансляции; 3) сплайсинг; 4) транскрипция с перекрывающихся областей ДНК и др.

В составе иРНК обычно встречается несколько иницирующих кодонов. В соответствии с принятой в настоящее время гипотезой «сканирующей модели» [Козак М., 1980] малая рибосомальная субъединица связывается с иРНК около 5'-конца и скользит вниз до встречи с иницирующим кодоном. Однако инициация в большинстве случаев происходит не с первого иницирующего кодона, а с последующих АУГ-кодонов. «Правильный» функционирующий АУГ-кодон узнается рибосомой благодаря окружающим его последовательностям («фланкирующим нуклеотидам»). В том случае, если первый иницирующий кодон находится в менее благоприятном окружении, чем последующие АУГ-кодоны, большинство малых рибосомальных субъединиц пройдут этот кодон и начнут инициацию трансляции с последующих АУГ-кодонов, однако некоторые субъединицы начнут инициацию с первого АУГ-кодона. В этом случае одна иРНК может направить синтез двух белков разной длины. Такие иРНК имеются у многих вирусов: SV40, герпеса, аденовирусов, буньявирусов, реовирусов и др.

Трансляция может происходить без сдвига рамки и со сдвигом рамки. Генетический код является триплетным, это означает, что три нуклеотида, составляющих триплет, или кодон, кодируют одну аминокислоту. В том случае, если триплеты сохранены и генетический код не изменился, то при трансляции с двух разных иницирующих кодонов будут синтезироваться полипептиды, представляющие собой укороченную копию первого полипептида (трансляция без сдвига рамки).

В том случае, если произошел сдвиг на один или два нуклеотида, образуются новые триплеты (кодона) и появляется новый генетический код. В этом случае одна молекула иРНК может транслироваться с образованием двух уникальных белков, т. е. таких белков, у которых нет идентичных аминокислотных последовательностей.

Сплайсинг со сдвигом рамки широко используется у ряда вирусов (вирусы гриппа, парамиксовирусы, буньявирусы, аденовирусы, паповавирусы, парвовирусы и др.). Например, все три иРНК аденоассоциированного вируса образуются при транскрипции одного гена и имеют об-

щий 3'-конец; самая короткая иРНК образуется путем сплайсинга и транслируется с образованием трех структурных белков, остальные две иРНК транслируются с образованием неструктурных белков. В результате сплайсинга и сдвига рамки иРНК 7-го и 8-го генов вируса гриппа транслируются с образованием двух белков: полипептидов M_1 и M_2 (продукты 7-го гена) и NS_1 и NS_2 (продукты 8-го гена). Белки NS_1 и NS_2 имеют лишь первые 10 идентичных аминокислот, а затем — уникальные аминокислотные последовательности. Один и тот же ген парамиксовирусов (вирус Сендай) кодирует два уникальных белка: структурный белок Р и неструктурный белок С.

Одним из способов экономии генетического материала является нарезание полипептида-предшественника на участки разной длины, в результате чего образуются разные полипептиды с перекрывающимися аминокислотными последовательностями. Подобный механизм нарезания имеет место у аденоассоциированных вирусов и у SV40.

Таким образом, число реальных генов превосходит молекулярную массу генома. Основанный на длине генома расчет числа генов неизменно приведет к ошибочным результатам. Более точные представления о числе генов можно получить путем биохимического и генетического анализов.

В результате перекрывания генов и сдвига рамки трансляции «размываются» границы генов, и понятие «ген» в известном смысле утрачивает первоначальное значение как дискретный фрагмент генома и приобретает скорее функциональное значение.

ОСНОВНЫЕ ПРОЦЕССЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ

Модификации. Модификациями называются не наследуемые (фенотипические) изменения у вирусов, обусловленные клеткой-хозяином. Эти изменения лежат в основе адаптации вируса к новому хозяину и преодоления зависимо-го от хозяина ограничения. Модификации нуклеиновых кислот вирусов осуществляют клеточные ферменты, ответственные за ограничение (рестрикцию) репродукции вируса.

Мутации. В основе изменчивости вирусов лежат мутации, т. е. изменения состава и последовательностей

нуклеотидов вирусного генома. Мутации происходят у всех вирусов, независимо от того, является ли их генетическим аппаратом ДНК или РНК. В результате мутаций отдельные вирионы могут приобретать новые свойства. Дальнейшая судьба таких вирусов зависит от естественного отбора, сохраняющего популяцию, наиболее приспособленную к условиям существования.

Мутации могут иметь разные последствия. В одних случаях они ведут к изменению фенотипических проявлений в нормальных условиях. Например, увеличивается или уменьшается размер бляшек под агаровым покрытием; увеличивается или ослабляется нейровирулентность для определенного вида животных; вирус становится более чувствительным к действию химиотерапевтического агента и т. п.

В других случаях мутация является летальной, так как вследствие ее нарушается синтез или функция жизненно важного вирусспецифического белка, например вирусной полимеразы.

В некоторых случаях мутации являются условно летальными, так как вирусспецифический белок сохраняет свои функции в определенных, оптимальных для него, условиях и теряет эту способность в неразрешающих (непермиссивных) условиях. Типичным примером таких мутаций являются температурно-чувствительные (temperature sensitive) — ts-мутации, при которых вирус теряет способность размножения при повышенных температурах (39—42° С), сохраняя эту способность при обычных температурах выращивания (36—37° С).

По своему механизму мутации могут быть тоже разными. В одних случаях происходит делеция, т. е. выпадение одного или нескольких нуклеотидов, в других случаях происходит встраивание одного или нескольких нуклеотидов, а в некоторых случаях — замена одного нуклеотида другим.

Мутации могут быть прямыми и обратными. Прямые мутации меняют фенотип, а обратные мутации — реверсии — его восстанавливают. Возможны истинные реверсии, когда обратная мутация происходит в месте первичного повреждения, и псевдореверсии, если мутация происходит в другом участке дефектного гена (интрагенная супрессия) или в другом гене (экстрагенная супрессия). Реверсия не является редким событием, так как ревертанты обычно более приспособлены к данной клеточной системе. Поэтому при получении мутантов с заданными свойствами, на-

пример вакцинных штаммов, приходится считаться с возможной их реверсией к дикому типу.

Мутации носят случайный характер и объясняются статистическими законами.

В качестве физических мутагенов наиболее часто применяется ультрафиолетовое облучение, так как его энергия сопоставима с энергией химических связей. Реже применяются более жесткие виды облучения — рентгеновское и γ -облучение, а также обработка вирусных суспензий нейтронами, протонами, электронами и ядрами гелия, так как они вызывают сильные разрушения вирусных геномов и их инактивацию.

В качестве химических мутагенов применяют аналоги оснований (бромурацил, бромдезоксимуридин, 2-аминопурин, нитрозогуанидин и пр.), алкилирующие и флуоресцирующие соединения (профлавин), интеркалирующие агенты (актиномицин, этидий бромид), азотистую кислоту, гидроксилламин и многие другие.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ВИРУСАМИ

Как в естественных, так и в экспериментальных условиях одна клетка может быть заражена не одним, а несколькими вирусами. В процессе такой смешанной инфекции могут иметь место различные формы взаимодействия как между вирусными геномами, так и между продуктами генов. При взаимодействии геномов могут наблюдаться такие формы генетических взаимодействий, как множественная реактивация, рекомбинация, пересортировка генов, кросс-реактивация, гетерозиготность. При взаимодействии на уровне продуктов генов могут иметь место негенетические взаимодействия: комплементация, интерференция, фенотипическое смешивание и др.

Множественная реактивация. Вирусная инфекция может возникнуть при заражении клетки несколькими вирионами с поврежденными геномами вследствие того, что функцию поврежденного гена может выполнять вирус, у которого этот ген не поврежден. Этот феномен был вначале обнаружен на бактериофагах и получил название множественной реактивации. В основе множественной реактивации лежит кооперативный процесс, при котором вирионы с поражением разных генов дополняют друг друга путем генетической рекомбинации, в результате чего репродуцируется исходный неповрежденный вирус.

Эффективность множественности реактивации зависит от многих причин: степени повреждения генома вирионов, числа проникших в клетку вирионов, концентраций их в определенных участках клетки, аутоинтерференции поврежденных вирионов. Для множественной реактивации важное значение имеет расстояние между вирионами с поврежденными геномами внутри клетки. Обработка вирионов двухвалентными ионами металлов, ведущая к их агрегации, усиливает множественную реактивацию.

Рекомбинация. Генетической рекомбинацией называют обмен генетическим материалом, происходящий между родительскими вирусами. Возможен обмен полными генами (межгенная рекомбинация), так и участками одного и того же гена (внутригенная рекомбинация). Образующийся вирус-рекомбинант обладает свойствами, унаследованными от разных родителей.

Обычно рекомбинируемые штаммы обладают характерными признаками, которые обозначаются как маркеры. Например, были получены рекомбинанты между вирусами полиомиелита, обладающие повышенной устойчивостью и повышенной чувствительностью к гуанидину, разной нейровирулентностью, разной устойчивостью к повышенной температуре, разной чувствительностью к ингибиторам сывороток лошадей и коров и т. п. Для получения рекомбинантов используют штаммы, содержащие два или большее число маркеров.

Тест рекомбинации применяют для генетических исследований вирусов. С его помощью возможно построение генетических карт вирусов, в которых определяется, в каких участках генома произошли мутации, а также в условных единицах измеряется расстояние между разными мутациями.

Пересортировка генов. Вариантом рекомбинации является феномен, получивший название пересортировки генов. Она наблюдается при генетических взаимодействиях между вирусами, имеющими сегментированный геном. Образующиеся при этом гибридные формы вирусов называют реассортантами. Реассортанты вирусов гриппа получают при совместном культивировании вирусов с разными генами гемагглютинаина и нейраминидазы. В этом случае из общего потомства путем нейтрализации соответствующих антигенов можно выделить интересные исследователя варианты.

Существуют определенные группировки (конstellации

или созвездия) генов, которые в данной системе клеток более стойки и делают вирус более жизнеспособным.

Сходные процессы пересортировки генов имеют место у вирусов гриппа типов А, В и С и у других вирусов с фрагментарным геном — у буньявирусов, аренавирусов (однонитчатые РНК) и реовирусов (ротавирусов) (двунитчатая РНК). Однако эти процессы не столь интенсивны и доступны изучению, как у вирусов гриппа.

Перекрестная реактивация. Перекрестная реактивация, кросс-реактивация или реактивация при скрещивании, происходит в том случае, когда у одного из штаммов вируса часть генома повреждена, а другой геном интактен. При смешанной инфекции двумя такими вирусами возможна рекомбинация неповрежденных участков генома инактивированного вируса с геномом интактного вируса, и в результате этого процесса появляются штаммы вируса со свойствами обоих родителей. Описываемый феномен также обозначается как «спасение маркера», поскольку реактивируется (рекомбинирует) лишь часть генома инактивированного вируса, несущая какой-нибудь признак (маркер).

Гетерозиготность. При совместном культивировании двух штаммов вируса может происходить формирование вирионов, содержащих в своем составе два разных генома или по крайней мере один полный геном и часть второго генома. Это явление названо гетерозиготностью.

Комплементация. Комплементация (дополнение) является таким видом негенетического взаимодействия при смешанной инфекции двумя вирусами, которое стимулирует репродукцию обоих партнеров или одного из них, но не изменяет генотипы вирусов. Принцип комплементации заключается в том, что вирус снабжает партнера недостающими компонентами, обычно белками, структурными или неструктурными.

Комплементация может быть односторонней и двусторонней. Двусторонняя комплементация заключается в репродукции обоих партнеров, каждый из которых не способен к самостоятельной репродукции. При односторонней комплементации один из партнеров обеспечивает другого необходимыми для его репродукции продуктами. Вирус, стимулирующий репродукцию другого вируса, называется «вирус-помощник», а вирус, репродуцирующийся только в присутствии помощника, называется «вирус-сателлит».

Комплементация широко распространена среди вирусов

и встречается как между родственными, так и неродственными вирусами. Феномен тесно связан с проблемой дефектности вирусов.

Поскольку в вирусной популяции помимо стандартных обычно присутствуют дефектные неинфекционные вирусные особи, в частности дефектные частицы, утратившие часть генетического материала, комплементация имеет место в инфекционном цикле многих вирусов и заключается в том, что члены популяции снабжают друг друга продуктами генов, которые дефектны у партнеров (негенетическая реактивация). Отличие комплементации от генетической рекомбинации заключается в отсутствии обмена генетическим материалом.

Комплементация встречается и у неродственных вирусов, принадлежащих к разным семействам. Одним из семейств, вирусы которого наиболее часто участвуют в комплементации, является семейство аденовирусов. В одних системах аденовирусы могут действовать как дефектные вирусы, в других — как помощники. Например, в культуре клеток почек макака резуса аденовирусы могут репродуцироваться только в присутствии SV40, который является в данном случае вирусом-помощником. В других системах сами аденовирусы действуют как вирусы-помощники, а вирусом-сателлитом является аденоассоциированный вирус, относящийся к семейству парвовирусов. Репродукция этого вируса полностью зависит от комплементирующего действия аденовирусов. Вирус гепатита В является помощником для дельта-агента, который покрывается его наружным белком — HBs-антигеном. Сочетание обоих вирусов обнаружено при наиболее тяжелых формах гепатита.

Возможна не только межцистронная, но и внутрицистронная комплементация в том случае, когда один ген кодирует несколько белков.

Фенотипическое смешивание. При совместном культивировании двух вирусов может наблюдаться феномен фенотипического смешивания, когда геном одного вируса бывает заключен в капсид, состоящий частично или полностью из белков другого вируса.

Фенотипическое смешивание наблюдается при смешанной инфекции многими вирусами, причем эти вирусы могут быть как близкими друг другу (например, вирусы гриппа А и В или разные серологические подтипы вируса гриппа А), так и весьма далекими (онковирусы и рабдовирусы).

РЕСТРИКТАЗЫ И ФИЗИЧЕСКИЕ КАРТЫ ВИРУСОВ

Подлинную революцию в физическом картировании геномов вирусов произвело применение рестриктаз и секвенирование вирусных геномов. Рестриктазы имеют исключительное значение в молекулярной генетике вообще и генетической инженерии в частности. Их открытие (1968—1970 гг.) впервые дало возможность специфически расщеплять ДНК на строго определенные фрагменты, доступные для препаративного выделения и анализа.

Рестриктазы или эндонуклеазы — это просто организованные белки, являющиеся ферментами, широко распространенными среди прокариотов и участвующими в генетических процессах. В отличие от экзонуклеаз, отщепляющих концевые нуклеотиды или свободные остатки фосфорной кислоты, эндонуклеазы расщепляют молекулу ДНК изнутри, обычно — в местах, где преобладают пиримидиновые основания. Рестриктазы характеризуются высоковыраженной специфичностью, распознавая строго определенные последовательности нуклеотидов в двунитчатой ДНК.

Число новых рестриктаз стремительно нарастает и со временем, по-видимому, будут обнаружены рестриктазы, узнающие любую последовательность нуклеотидов.

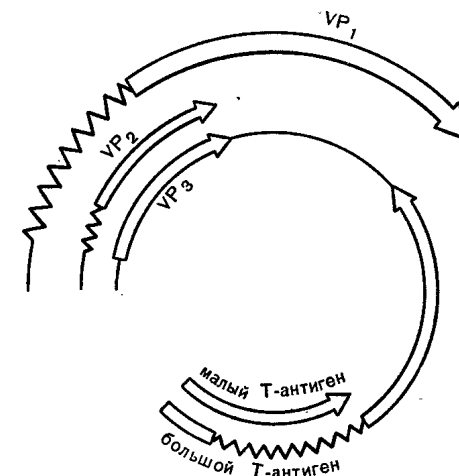
Использование разных рестриктаз позволяет получать фрагменты разной величины, которые затем разделяются и анализируются путем электрофореза в агарозных или полиакриламидных гелях. Сочетание рестрикционного анализа с другими методами позволяет составить физические карты геномов вирусов. Физические карты вирусных геномов обозначают взаимное расположение генов, их границы, локализацию начала репликации, промоторов, лидеров, экзонов и интронов, сигнальных последовательностей и других генетических элементов.

На рис. 26 приведена физическая карта генома SV40. Границы генов, кодирующих синтез ранних и поздних белков, и направление транскрипции самих генов показаны стрелками. Из этой схемы видно, что генетический код для синтеза белков этого вируса записан не на одной, а на обеих нитях ДНК и что транскрипция разных генов идет в разных направлениях.

В настоящее время полностью расшифрованы нуклеотидные последовательности отдельных генов и целых геномов методом секвенирования (от англ. sequence — последовательность). Если речь идет о РНК-содержащих

Рис. 26. Структура генома SV40.

Стрелки указывают направление синтеза и размеры соответствующих генов; зигзагообразные участки — интроны, VP-вирусный белок.



вирусах, то предварительным условием для дальнейшего их анализа является переписка РНК на ДНК с помощью РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы), после чего генетический материал может быть подвергнут рестрикционному анализу.

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

До сих пор речь шла о генетических процессах при взаимодействии биологически (и эволюционно) близких вирусов.

Однако возможны генетические взаимодействия и неродственных вирусов. Эти взаимодействия являются предметом изучения генной, или генетической инженерии.

В 1972 г. появилась первая публикация по генной инженерии П. Берга о получении путем химических манипуляций рекомбинантной молекулы ДНК, которая возвестила о рождении нового направления в генетике и новой области биотехнологии — генной инженерии.

В отличие от классической и молекулярной генетики, генная инженерия имеет своим объектом не клетки, не вирусы, а гены или их группы, оперируя с ними не как с биологическими объектами, а как с молекулами или фракциями молекул. Целью генной инженерии является пересадка генов в гетерогенные системы, их экспрессия для получения кодируемых генами белков — гормонов, ферментов, антигенов и других биологически активных веществ. Главной задачей является выбор таких систем, в

которых продукция биологически активных белков была бы технологически оправданной. Поэтому при выборе клеточных систем, в которые вводятся гены и где обеспечивается их экспрессия, главным объектом являются простейшие прокариотные (бактерии) или эукариотные (дрожжи) системы. Впрочем, в дальнейшем была показана целесообразность использования в некоторых случаях высших эукариотных систем (клетки птиц или млекопитающих).

Основным инструментом генноинженерных работ являются некоторые ферменты и в первую очередь рестриктазы. С их помощью удается получить необходимые фрагменты геномов или отдельные гены. В большинстве случаев рестриктазы образуют «липкие концы» в местах разреза молекул ДНК, что дает возможность соединять концы разных генов или генетических элементов. В тех же случаях, когда «липкие концы» не образуются, их создают искусственно, используя ферменты — концевые нуклеотидил-трансферазы. Для ковалентных сшивок нитей ДНК применяются ферменты ДНК-лигазы.

Для переноса в клетку вновь образованной генетической структуры в принципе могут быть использованы следующие методы: гибридизация соматических клеток, пересадка ядер и хромосом, трансформация клеток с помощью ДНК путем введения чужеродной ДНК в зародышевые и соматические клетки животных и прямая микроинъекция ДНК в ядро клетки. Чужеродный генетический материал можно вводить в клетку с помощью вектора. Вектор — это молекула ДНК, способная к автономной репликации и используемая для переноса чужеродной генетической информации в клетку. Векторами могут быть бактериальные плазмиды либо искусственные образования (би- и тривалентные плазмиды, космиды — производные фагов и плазмид). Удобными векторами для эукариотических клеток являются некоторые ДНК- и РНК-содержащие вирусы животных благодаря их способности к репродукции и существованию накоплению продуктов транскрипции и трансляции. К ним относятся вирусы полиомы, папилломы, SV40, герпеса, аденовирусы, а среди РНК-содержащих — ретровирусы. Одной из наиболее перспективных векторных систем является крупный ДНК-содержащий вирус — вирус осповакцины.

Кроме того, в ряде случаев применяются дополнительные генетические элементы. Если при образовании генетической структуры в интересующем нас гене произошел

«сдвиг рамки», то к месту сдвига рамки или впереди от него необходимо вставить олигонуклеотид, который выправит рамку считывания; такие генетические элементы называются линкерами. Иногда при вырезании гена утрачивается иницирующий кодон АУГ и тогда его приходится ковалентно соединять с началом гена. Во многих случаях необходимо к началу гена присоединить сильно действующий промотор. Иногда приходится отделять промотор, слишком близко расположенный к началу гена, небольшим олигонуклеотидом, который называется спейсером. Иногда для успешного функционирования гена необходимо повторить его несколько раз, поставив один за другим; такой прием называется тандемной амплификацией.

До сих пор речь шла о генах, которые сравнительно легко выделить. Если же речь идет о генах высших эукариотов, например о генах инсулина или интерферонов человека, то прямое их выделение среди миллиона генов, имеющихся в геноме эукариотической клетки, — непосильная задача. Кроме того, гены эукариотов не могут быть непосредственно использованы из-за их мозаичной структуры, заключающейся в чередовании экзонов и интронов. Поэтому для получения таких генов сначала индуцируют синтез соответствующей иРНК (при созревании РНК вырезаны участки, соответствующие интронам), используя специализированные клетки. Так, иРНК инсулина продуцируют опухолевые клетки инсулиномы. Для получения иРНК интерферона индуцируют ее синтез в лейкоцитах с помощью разных индукторов интерферона. Выделяют иРНК из полирибосом.

Образцы полученной иРНК подвергают обратной транскрипции с помощью фермента РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы), получаемой из вирионов птичьего миелобластоза. Этот фермент катализирует синтез сначала нити ДНК, комплементарной иРНК, а затем второй нити ДНК, комплементарной первой (иногда ее синтез производят с помощью бактериальной ДНК-зависимой ДНК-полимеразы). Полученный таким путем ген (в нашем случае — ген инсулина или ген интерферона) подвергают дальнейшим операциям, вводя его в вектор и получая молекулу рекомбинантной ДНК.

Операция обратной транскрипции обязательна также при работе с РНК-содержащими вирусами.

После получения рекомбинантной ДНК на основе вирусного или плазмидного вектора проводят трансфекцию бактериальных клеток на селективной среде, отбирая коло-

нии, в которых проявил себя селективный маркер, например ген устойчивости к ампициллину, разрушенный во время генетических манипуляций. После отбора положительных колоний проверяют наличие вставленного гена методом молекулярной гибридизации и рестрикционного анализа.

Генная инженерия и вирусные вакцины. Генная инженерия создает новые возможности для получения вирусных вакцин, и эти возможности заключаются в создании вакцин, состоящих из протективных (вызывающих образование защитных антител) белков. Такие вакцины могут быть получены в прокариотических (бактериальных) системах и в системах низших эукариотов (например, в дрожжах). Однако большинство протективных антигенов вирусов человека являются продуктами сложных внутриклеточных модификаций, которые обычно не могут осуществить клетки прокариотов и низших эукариотов (антигены вирусов полиомиелита, гепатита А, гриппа и др.), и в этом случае для получения вакцин необходимо использовать клетки высших эукариотов, что делает генноинженерные вакцины против ряда инфекций нерентабельными. Однако для вирусов, которые плохо культивируются в лабораторных условиях (например, вирус гепатита А и ряд кишечных вирусов — возбудителей гастроэнтеритов) этот путь остается единственно приемлемым.

Среди новых направлений по созданию генноинженерных вакцин весьма перспективным является использование крупных вирусов животных для введения в их геном генов протективных белков вирусов. Наиболее удачной моделью для этих манипуляций является вирус осповакцины. Этот вирус имеет громадный геном (187 кб), в который без ущерба для репродукции вируса можно встроить до 25 кб чужеродного генетического материала, т. е. несколько генов, кодирующих протективные белки вирусов. Наиболее удобной областью для их введения является область ранних генов вируса осповакцины, в частности ген тимидинкиназы, имеющий сильный промотор. Такая локализация встраивания чужеродного гена, во-первых, обеспечивает его эффективную транскрипцию, во-вторых, не блокирует размножение рекомбинантного варианта вируса осповакцины, и, в-третьих, создает маркер по повреждению гена тимидинкиназы, необходимый для отбора клонов со встроенным чужеродным геном. Особенно детально была исследована возможность получения таким путем вакцины для профилактики гепатита В. Получены ре-

комбинантные штаммы вируса осповакцины со встроенным в область ранних генов гена HB_s -антигена. При внутрикожной прививке такой вакцины происходит размножение вируса осповакцины и развитие вакцинального процесса, характерного для осповакцины. Одновременно происходят синтез HB_s -антигена вируса гепатита В, секреция его из очага вакцинации и индукция специфического иммунитета к гепатиту В. При этом реактогенность рекомбинантного штамма вируса осповакцины не только не повышается, но даже снижается по сравнению с исходным вакцинным штаммом.

Учитывая безопасность вируса осповакцины, его изученность, налаженное производство осповакцины, рекомбинантные вирусы могут быть использованы для одновременной иммунизации против нескольких вирусных инфекций.

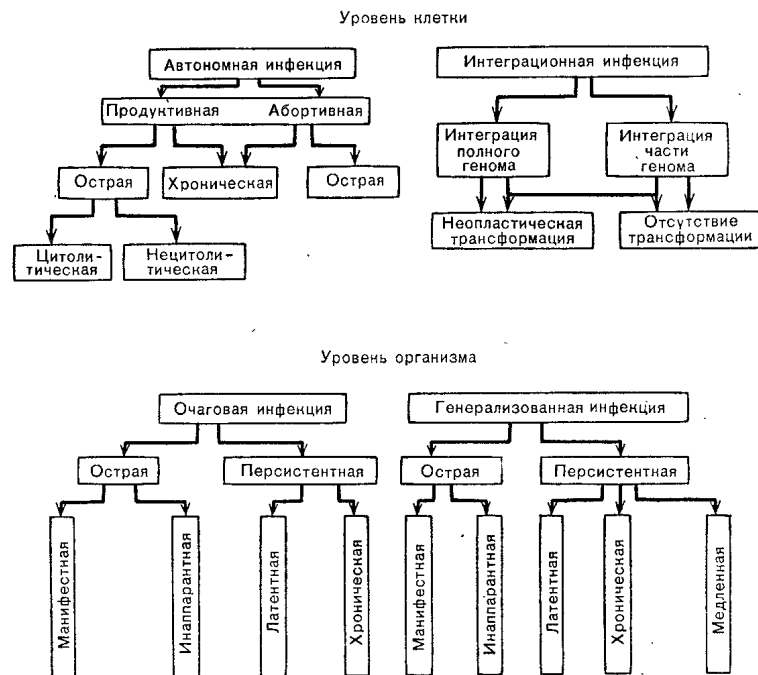
Несмотря на большие успехи генной инженерии, трудности, стоящие перед ней, далеко еще не преодолены. Если принять за 100% путь от начала исследований до промышленного, коммерчески выгодного продукта, будь то вакцина, интерферон или гормон, то можно следующим образом оценить каждый из трех основных этапов этой задачи: получение рекомбинантных молекул на основе прокариотного или эукариотного вектора — 10%, получение экспрессии интересующего исследователей гена — 30%, выход на экономически выгодную технологию — 60%.

И тем не менее, несмотря на все эти трудности, генная инженерия стала ядром современной биотехнологии и с каждым годом вклад ее в производство будет возрастать.

Глава 8. ПАТОГЕНЕЗ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Под инфекцией понимают комплекс процессов, происходящих при взаимодействии инфекционного агента с организмом хозяина. Однако в связи с тем, что вирусы являются внутриклеточными паразитами, а точнее, генетическими паразитами, в основе их взаимодействия с организмом всегда лежит инфекционный процесс на уровне клетки, который реализуется путем взаимодействия вирусного и клеточного геномов. Поэтому возможно классифицировать инфекции как на клеточном уровне, так и на уровне организма (схема 2).

Схема 2. Классификация вирусных инфекций.



КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Автономные и интеграционные инфекции. Если вирусный геном реплицируется независимо от клеточного генома, такая инфекция называется автономной. Понятие автономии относительно, оно ограничивается лишь отсутствием физической связи между вирусным и клеточным геномами, хотя взаимодействие их постоянно происходит в течение инфекции. Автономная форма вирусной инфекции характерна для большинства вирусов животных.

Если вирусный геном включается в состав клеточного генома, или, как принято называть этот процесс, интегрирует с клеточным геномом и реплицируется вместе с ним, такая инфекция называется интеграционной. Интеграционная инфекция возникает в результате физического объединения генома вируса и клетки. При этой форме инфекции вирусный геном реплицируется и функционирует как составная часть клеточного генома. Интегрировать могут как полный геном, так и часть генома. При гепатите В

возможна интеграция полного генома, при аденовирусных и герпесвирусных инфекциях обычно интегрирует часть генома, при инфекции онковирусами может интегрироваться как полный геном, так и часть его. Вирусные последовательности в составе клеточного генома называются провирусом, или провирусной ДНК.

При интеграционных инфекциях нет ни сборки вирусной частицы, ни выхода вируса из клетки. Клетка может сохранить нормальные функции и при ее делении вирусные последовательности могут переходить в геном дочерних клеток. Такая ситуация наблюдается в случае инфекции, вызванной онкогенными вирусами. Интеграция может привести к неопластической трансформации клетки. Трансформированная клетка приобретает способность к неограниченному делению в результате нарушения регуляторных механизмов, контролирующих деление. Интеграционный тип инфекции возможен для нескольких семейств ДНК-содержащих вирусов: аденовирусов, паповавирусов, вирусов герпеса, а также для вируса гепатита В и обязателен для одного семейства РНК-содержащих вирусов — ретровирусов. В соответствии с данными В. М. Жданова, интеграционная форма инфекции может возникнуть при заражении и другими РНК-содержащими вирусами, такими, как вирус клещевого энцефалита (семейство тогавирусов), вирусы кори и SV5 (семейство парамиксовирусов) и др. Обязательным условием в этом случае является присутствие в клетках фермента — обратной транскриптазы, необходимого для процесса интеграции. Возникающая интеграционная инфекция может явиться причиной ряда хронических и аутоиммунных заболеваний.

Механизм интеграции вирусного генома с клеточным геномом. Из многих моделей, объясняющих процесс интеграции, наиболее признанной является модель Кемпбелла. В соответствии с этой моделью для интеграции с клеточным геномом необходима кольцевая форма двуничей вирусной ДНК. Эта молекула ДНК прикрепляется к клеточной ДНК, в месте прикрепления обе молекулы разрезаются и образовавшиеся концы сшиваются таким образом, что вирусная ДНК становится частью клеточного генома (рис. 27). Существенную роль в интеграции играют длинные концевые повторы двуничей ДНК, которые определяют специфичность интеграции в результате узнавания ими определенных участков клеточного генома. ДНК паповавирусов является циркуляр-

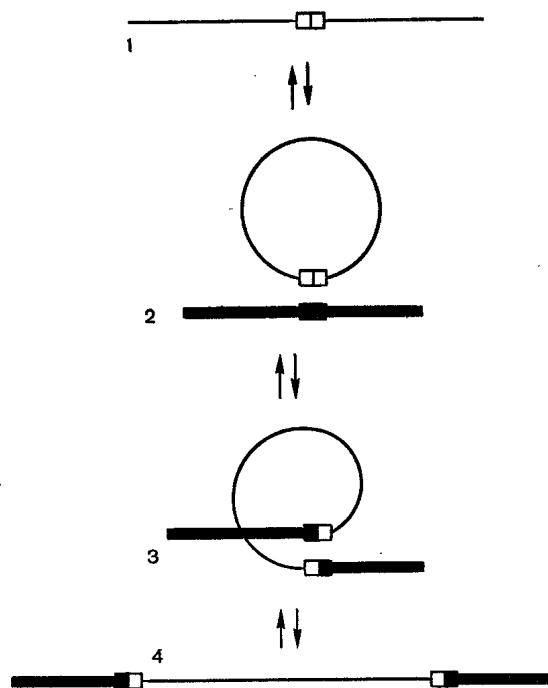


Рис. 27. Интеграция вирусного генома с клеточным (схема).
1 — вирусная ДНК; 2 — геном клетки; 3 — процесс интеграции; 4 — клеточный геном с ДНК-провирсом.

ной и двуничей и полностью отвечает требованиям модели Кемпбелла.

Продуктивная и abortивная инфекции. Инфекция может быть продуктивной и abortивной. Продуктивная инфекция завершается образованием инфекционного потомства. Abortивной называется инфекция, которая не завершается образованием инфекционных вирусных частиц, или они образуются в гораздо меньшем количестве, чем при продуктивной инфекции. Abortивная инфекция может возникнуть при следующих трех обстоятельствах: 1) заражение чувствительных клеток дефектным вирусом; 2) заражение чувствительных клеток в неразрешающих условиях; 3) заражение нечувствительных клеток стандартным вирусом.

Заражение чувствительных клеток дефектным вирусом. Дефектным называется такой вирус, который не способен проявить все генетические

функции, необходимые для образования инфекционного потомства.

Существуют дефектные вирусы и дефектные вирусные частицы. Дефектными называются такие вирусы, которые репродуцируются лишь в присутствии вируса-помощника, например аденоассоциированный вирус (семейство парвовирусов), дающий потомство только в присутствии аденовируса-помощника. Дефектные вирусные частицы накапливаются в популяции многих вирусов, особенно при пассировании их с высокой множественностью инфекции. Дефектные частицы интерферируют при репродукции вируса с инфекционными вирусными частицами и потому называются дефектными интерферирующими частицами (ДИ-частицами). Этот тип вирусных частиц наиболее хорошо изучен на модели вирусов везикулярного стоматита и гриппа. Получение дефектных частиц вируса гриппа при заражении куриных эмбрионов с высокой множественностью инфекции получило название феномена фон Магнуса по имени исследователя, впервые его описавшего. Дефектные вирусные частицы вызывают abortивную инфекцию в связи с тем, что они лишены части генетического материала. Например, дефектные частицы вируса гриппа содержат неполные последовательности Р-генов, кодирующих три высокомолекулярных вирусных белка.

Заражение чувствительных клеток в неразрешающих условиях. Abortивная инфекция может возникать при изменении условий, в которых происходит инфекционный процесс. Эти условия возникают в организме и могут моделироваться в эксперименте; в организме — повышение температуры, изменение рН в очаге воспаления и концентрации ионов, наличие антиметаболитов, ингибиторов и т. д.; в эксперименте — изменение температуры инкубации, состава питательной среды, внесение антиметаболитов и ингибиторов и т. д. В результате клетка либо погибнет без продукции инфекционного вируса, либо инфекция прерывается на определенном этапе. При устранении неразрешающих условий abortивная инфекция превращается в продуктивную. Смена abortивной инфекции на продуктивную может осуществиться и с помощью вируса-помощника.

Заражение нечувствительных клеток стандартным вирусом приводит к наиболее распространенной форме abortивной инфекции.

Непермиссивность клетки к определенному вирусному

агенту может проявиться на любом этапе инфекции. Чувствительность клетки к ряду вирусов определяется наличием на клеточной поверхности специфических рецепторов, обуславливающих адсорбцию и проникновение вируса в клетку. Такой генетически обусловленный механизм клеточной резистентности наиболее четко установлен для пикорнавирусов, а также онковирусов птиц. Для большинства вирусов можно подобрать две клеточные системы, в одной из которых будет развиваться продуктивная, а в другой — абортивная инфекция. Механизм генетически обусловленной резистентности клеток к вирусам широко варьирует, но в основе его лежит либо отсутствие клеточных факторов, необходимых для репродукции вируса, либо наличие факторов, нарушающих процесс репродукции.

У сложно устроенных вирусов клеточная непермиссивность часто проявляется на стадии сборки вирусных частиц; нарушение сборки в некоторых непермиссивных системах для вирусов гриппа и парамиксовирусов обусловлено уменьшением количества молекул матричного белка вируса.

Острая и хроническая инфекция. Как продуктивная, так и абортивная инфекция может протекать в виде острой или хронической инфекции.

Острой называется такая форма инфекции, при которой после образования вирусного потомства клетка либо погибает, либо выздоравливает и не содержит вирусных компонентов. Хроническая инфекция — это такая форма инфекции, при которой клетка продолжает продуцировать вирусные частицы или вирусные компоненты в течение длительного времени и передает эту способность дочерним клеткам.

Чаще хроническую форму приобретает абортивная инфекция, так как вирусный генетический материал обычно не входит в состав вирусного потомства, а накапливается в клетках и передается в дочерние клетки. Одним из факторов, вызывающих хроническую инфекцию, являются ДИ-частицы. Такие частицы, попадая в клетки вместе с инфекционными вирусными частицами, конкурируют с ними за факторы репродукции и препятствуют образованию инфекционного потомства. В результате гибель клеток предотвращается. При появлении в системе новых чувствительных клеток в них вновь возникает продуктивная инфекция с образованием ДИ-частиц, и такой цикл инфекции возобновляется снова и снова.

Цитолитическая и нецитолитическая инфекции. Острая инфекция на клеточном уровне может быть цитолитической и нецитолитической в зависимости от судьбы зараженной клетки. Инфекция, завершающаяся гибелью (лизисом) клетки называется цитолитической. Инфекция, которая непосредственно не приводит к лизису клетки, и клетка еще может функционировать в течение некоторого периода времени, продуцируя вирусные частицы, называется нецитолитической.

Смешанная инфекция. В естественных условиях распространен феномен смешанной инфекции, при котором клетка заражается двумя или несколькими разными вирусами. Два и больше инфекционных процесса, происходящих одновременно в одной клетке, могут оказывать различное влияние друг на друга. Возможны несколько вариантов взаимодействия вирусов в процессе смешанной инфекции.

1. Один из вирусов подавляет репродукцию второго вируса, или подавляется репродукция обоих вирусов. Этот феномен называется интерференцией вирусов.

2. Вирус усиливает репродукцию второго вируса в результате комплементации или экзальтации. Комплементация может происходить между двумя родственными или неродственными вирусами, например между аденовирусом и аденоассоциированным вирусом человека или SV40, при этом вирус-помощник предоставляет другому вирусу неструктурный белок. Экзальтация может быть связана с подавлением процесса образования интерферона первым вирусом.

3. Оба вируса не оказывают существенного влияния на процесс репродукции каждого из них, однако может происходить нарушение морфогенеза обоих вирусов.

Смешанная инфекция широко используется вирусологами для изучения генетических функций вирусов и дефектности геномов.

ЦИТОПАТОЛОГИЯ ЗАРАЖЕННОЙ ВИРУСОМ КЛЕТКИ

Патологические изменения зараженных вирусами клеток обусловлены специфическими и неспецифическими процессами. К неспецифическим процессам относятся процессы, обусловленные изменением проницаемости плазматической мембраны, маргинация хроматина, хромосомные aberrации, пикноз ядер, вакуолизация цитоплазмы. Последнее свойство может приобретать настолько своеобразный и выраженный характер, что превращается в специ-

фический признак некоторых вирусных инфекций. Так, один из вирусов, вызывающий такой процесс, — SV40 — получил название «вакуолизирующий вирус». Специфическими изменениями являются, например, вирусные включения, образование симпластов. Специфические и неспецифические процессы могут привести к деструкции клетки.

Цитопатический эффект и его причины. Деструкцию клетки, возникающую при цитолитической инфекции, называют цитопатическим эффектом, а вирус, вызывающий этот эффект, называют цитопатогенным. Большинство вирусов животных являются цитопатогенными, и это свойство лежит в основе патогенеза ряда вирусных инфекций. Цитопатический эффект широко используется в лабораторной диагностике вирусных инфекций для индикации вируса в культуре клеток и выявления антител в сыворотках переболевших.

Цитопатический эффект является следствием нескольких причин: 1) нарушение нормальной жизнедеятельности клетки в результате механического повреждающего действия вирусных компонентов на клеточные структуры; 2) повреждение лизосом, в результате чего освобождаются высокоактивные лизосомальные ферменты, вызывающие аутолиз клетки; 3) интенсивное истощение белковых и энергетических ресурсов клетки за счет переключения клеточных ферментов и белок-синтезирующего аппарата на синтез вирусспецифических макромолекул; 4) специфическое повреждающее действие вирусов на клеточные молекулы. Эти причины повреждения клетки различным образом проявляются и сочетаются при разных вирусных инфекциях.

Среди РНК-содержащих цитопатогенных вирусов пикорнавирусы оказывают наиболее быстрое и глубокое действие на синтез клеточных белков. Причиной выключения белкового синтеза является блокирование узнавания рибосомой «шапочки» клеточных иРНК. Поскольку РНК вируса полиомиелита транслируется по механизму, независимому от «шапочки», происходит селективное подавление трансляции клеточных иРНК.

Вирусные включения. Вирусные включения, выявляющиеся при окрашивании зараженных клеток, являются специфическими морфологическими признаками вирусной инфекции, часто имеющими диагностическое значение. Внутриклеточные вирусные включения были обнаружены гистологами еще в прошлом столетии. Д. И. Ивановский обнаружил в клетках растения, зараженного вирусом

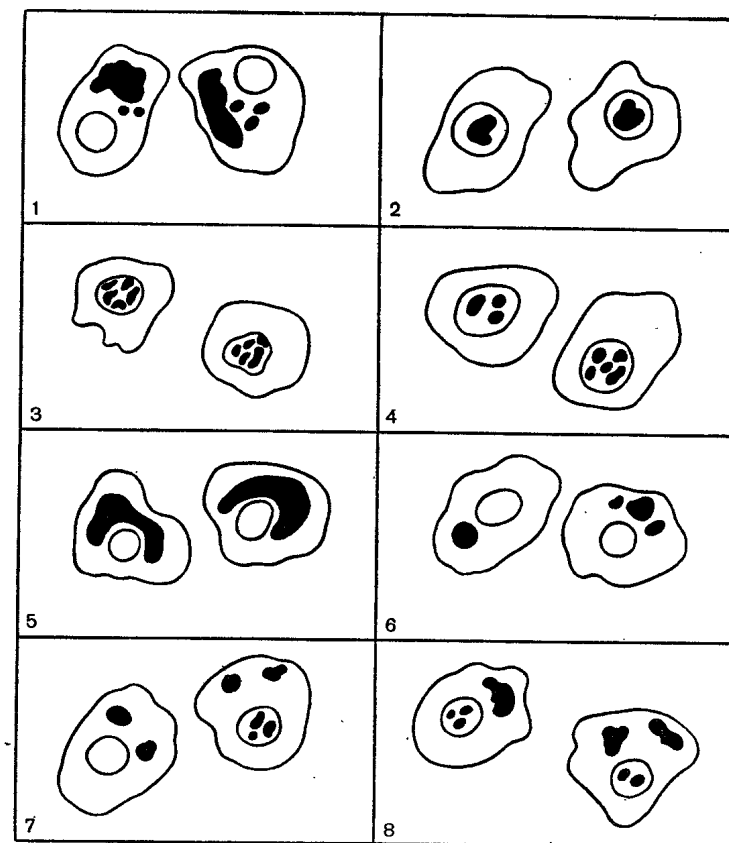


Рис. 28. Типы вирусных включений (схема).

1 — клетки, зараженные вирусом оспы (тельца Гварниери); 2 — клетки, зараженные вирусом герпеса (тельца Каудри); 3 — клетки, зараженные аденовирусом; 4 — клетки, зараженные паповавирусом SV40; 5 — клетки, зараженные реовирусом; 6 — клетки, зараженные вирусом бешенства (тельца Негри); 7 — клетки, зараженные вирусом гриппа; 8 — клетки, зараженные вирусом кори; цитоплазматические и внутриядерные включения обозначены черным цветом.

табачной мозаики, кристаллоподобное включение, которое впоследствии получило название «кристаллы Ивановского». Позже было доказано, что «кристаллы Ивановского» представляют собой скопление вирусов табачной мозаики.

Вирусные включения выявляются в ядре или цитоплазме зараженной клетки. В зависимости от прокрашивания разными красителями включения бывают базофильными и ацидофильными (эозинофильными). Включения при разных вирусных инфекциях различаются по величине, форме, численности. Они могут быть одиночными и множест-

венными, крупными и мелкими, округлыми или неправильной формы (рис. 28). Характерные ядерные включения формируются в клетках, зараженных вирусами герпеса, полиомы, аденовирусами, флавивирусами, вирусом ящура. Характерные цитоплазматические включения формируются в клетках, зараженных вирусами оспы, гриппа, бешенства.

Природа включений разнообразна. Большей частью включения представляют собой «вирусные фабрики», т. е. очаги, в которых идет транскрипция и репликация вирусных геномов и сборка вирусных частиц. В клетках, зараженных реовирусом, образуются причудливые серповидные околядерные включения; при электронно-микроскопическом исследовании они оказались связанными с нитями митотического веретена, в ассоциации с которыми идет репродукция этого вируса. Включения могут представлять собой скопление вирусных частиц, как, например, внутриядерные включения в клетках, зараженных аденовирусами и вирусом полиомы, либо скопление молекул вирусных белков, например ядерные и цитоплазматические включения в клетках, зараженных вирусом гриппа, представляющие собой скопление молекул неструктурного вирусного белка. Некоторые включения содержат только клеточный материал, например ядерные ацидофильные включения в клетках, зараженных вирусами герпеса на поздней стадии инфекции.

Симпласты. Некоторые вирусы вызывают характерный цитопатический эффект, проявляющийся в слиянии клеток и образовании многоядерных клеток, называемых симпластами или синтицием. Образование симпластов обусловлено действием на клеточные мембраны прилежащих друг к другу клеток вирусных белков слияния и определяется тем же механизмом, который обеспечивает слияние вирусной и клеточной мембраны и проникновение вирусов в клетку. Слияние может происходить как за счет белков родительского вируса при заражении клеток большими концентрациями вируса (слияние снаружи), так и за счет внутриклеточного накопления вновь синтезированных вирусных белков слияния (слияние изнутри). Образование симпластов вызывают многие вирусы: парамиксовирусы, некоторые ретровирусы, вирусы герпеса. В определенных условиях (при низких значениях pH) слияние вызывают вирусы гриппа, буньявирусы и др.

Особенности вирусной инфекции в клеточной популяции. Основной особенностью вирусной инфекции в кле-

точной популяции является гетерогенность системы в связи с гетерогенностью вирусных частиц и клеток, входящих в состав популяции. В любом вирусном препарате наряду с инфекционными вирионами находятся ДИ-частицы. Клетки в каждой клеточной популяции широко варьируют по чувствительности к вирусу, и инфекция может протекать не так, как на клеточном уровне. Например, при заражении вирусом, вызывающим в клетках продуктивную инфекцию, чувствительные клетки популяции могут погибнуть, и в популяции за счет некоторого количества нечувствительных клеток может установиться хроническая инфекция.

КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА УРОВНЕ ОРГАНИЗМА

В основу классификации положены четыре фактора: 1) генерализация вируса; 2) продолжительность инфекции; 3) проявление клинических симптомов; 4) выделение вируса в окружающую среду. Основанная на этих признаках классификация инфекций, как и любая другая, в известной мере условна, поскольку одна форма может перейти в другую, например, очаговая инфекция — в генерализованную, острая инфекция — в хроническую, латентная — в хроническую и т. д.

Очаговая и генерализованная инфекции. Вирусные инфекции можно разделить на две большие группы: 1) очаговые, когда действие вируса проявляется у входных ворот инфекции в связи с его локальной репродукцией, и 2) генерализованные, при которых после ограниченного периода репродукции вируса в первичных очагах происходит генерализация инфекции, и вирус достигает чувствительных тканей, формируя вторичные очаги инфекции. Очаговые инфекции имеют более короткий инкубационный период, чем генерализованные, защитными факторами организма при этих инфекциях являются скорее секреторные антитела класса IgA, чем антитела гуморальные, а эффективными вакцинами — те, которые стимулируют образование секреторных антител. При генерализованных инфекциях большее значение в защите организма имеют гуморальные антитела. Примером очаговых инфекций являются респираторные и кишечные вирусные инфекции, примером генерализованных — оспа, корь, полиомиелит. Сравнительная характеристика очаговых и генерализованных инфекций

представлена в табл. 9. Примером генерализованной инфекции является корь, а очаговой — заболевания, вызываемые респираторно-синцитиальным вирусом, и другие острые респираторные вирусные инфекции.

Таблица 9. Сравнительная характеристика очаговых и генерализованных вирусных инфекций

Свойства инфекции	Очаговые инфекции	Генерализованные инфекции
Место патологического процесса	Входные ворота	Системы тканей и органов
Инкубационный период	Относительно короткий	Относительно длинный
Наличие вирусемии	Редко	Обычно
Продолжительность иммунитета	Кратковременный или неизученный	Обычно длительный
Иммунные механизмы	Секреторные антитела (IgA), локальный клеточный иммунитет	Гуморальные антитела (IgG, IgM), системный клеточный иммунитет

Острая и персистентная инфекции. Острая инфекция длится относительно непродолжительный период времени и протекает с выделением вирусов в окружающую среду. Окончание инфекции сопровождается элиминацией вирусов благодаря иммунным механизмам. Инфекция может протекать как в клинической, так и в инapparантной форме. Острая инфекция может завершиться выздоровлением или гибелью организма. Она соответствует продуктивной инфекции на уровне клетки. При продолжительном взаимодействии вируса с организмом возникает персистентная форма инфекции (от лат. *persistentia* — упорство, постоянство).

Один и тот же вирус может вызвать как острую, так и персистентную инфекцию в зависимости от состояния организма и в первую очередь его иммунной системы. Например, вирус кори может вызвать как острую инфекцию, так и медленную (длительно текущую) — подострый склерозирующий панэнцефалит. Вирусы герпеса, гепатита В и аденовирусы могут вызвать острую и персистентную инфекции и т. д.

Персистентные инфекции могут быть латентными, хроническими или медленными в зависимости от выделения вируса в среду и проявления симптомов заболевания.

Латентная инфекция — это скрытая инфекция, не сопровождающаяся выделением вирусов в окружающую среду. При латентных инфекциях вирус не всегда удается обнаружить либо в связи с его дефектным состоянием, либо в связи с персистенцией субвирусных компонентов, либо в связи с интеграцией клеточным геномом. При воздействии ряда активирующих инфекцию факторов может произойти активация вируса, и латентная инфекция может перейти в острую или хроническую. Латентные инфекции могут вызывать аденовирусы, вирусы герпеса, онкогенные вирусы, вирус СПИД и др.

Хронической инфекцией называется длительно текущий патологический процесс, характеризующийся периодами ремиссий, перемежающимися с периодами обострения, когда вирус выделяется в окружающую среду. Примерами хронической инфекции являются герпетическая, аденовирусная инфекции, хроническая форма вирусных гепатитов и т. д.

Медленные инфекции — это своеобразное взаимодействие определенных вирусов с организмом, характеризующееся длительным инкубационным периодом, тянущимся многие месяцы и даже годы, и последующим медленным, но неуклонным развитием симптомов заболевания, ведущим к тяжелому нарушению функций органов и летальному исходу. К медленным инфекциям относятся медленно прогрессирующие заболевания, в частности, заболевания ЦНС со спонгиозными энцефалопатиями у человека — куру, болезнь Крейтцфельда — Якоба (пресенильная деменция), а у животных — трансмиссивная энцефалопатия норки и скрепи у овец.

К медленным инфекциям относят также подострый склерозирующий панэнцефалит, который вызывается вирусом кори, рассеянный склероз, амиотрофический боковой склероз и некоторые другие заболевания человека и животных.

При некоторых медленных инфекциях существенную роль играют генетические механизмы (скрепи, куру, амиотрофический боковой склероз), при других — иммуннопатологические механизмы (подострый склерозирующий панэнцефалит, алеутская болезнь норки, лимфоцитарный хориоменингит).

Персистентные инфекции являются серьезной проблемой современной вирусологии и медицины. Большинство вирусов человека и животных способны персистировать в организме и вызывать латентные и хронические инфек-

ции, и удельный вес персистентных инфекций намного превышает таковой острых инфекций. При персистентных инфекциях постоянно или периодически происходит выделение вирусов в окружающую среду, и персистентные инфекции являются основным фактором «проэпидемичивания» населения. Персистенция вирусов обуславливает их сохранение как биологического вида и является причиной изменчивости свойств вирусов и их эволюции.

Большую роль персистенция вирусов играет в перинатальной патологии. Вертикальная передача персистирующего вируса от инфицированной матери плоду и активная репродукция вируса в его тканях особенно опасны в первые месяцы беременности, так как приводят к аномалиям развития плода или его гибели. К числу таких вирусов относятся вирусы краснухи, простого герпеса, ветряной оспы, цитомегалии, Коксаки В и ряд других.

Борьба с персистентными инфекциями затруднена из-за отсутствия адекватных подходов к их лечению и профилактике.

ПАТОГЕНЕЗ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Под патогенезом следует понимать совокупность процессов, вызывающих заболевание и определяющих его развитие и исход. Патогенез вирусного заболевания определяется следующими факторами: 1) тропизмом вируса; 2) скоростью репродукции вируса и количеством инфекционных частиц в потомстве; 3) реакцией клетки на инфекцию; 4) реакцией организма на вызванные инфекцией изменения клеток и тканей.

Тропизм вируса к определенным клеткам и органам характерен для большинства вирусных инфекций. В зависимости от поражения тех или иных органов и тканей различают нейроинфекции, инфекции дыхательных путей, кишечные и др.

В основе тропизма вирусов лежит чувствительность к вирусу определенных клеток, а, следовательно, тканей и органов. Это свойство вирусов заражать лишь определенные клетки называется зависимым от хозяина ограничением. Патогенность вируса является генетическим признаком, обусловленным соотношением (конstellацией) вирусных генов. Фенотипическим проявлением патогенности является вирулентность. Этот признак значительно варьирует в разных системах. Вирулентность не идентична зависимому от хозяина ограничению, однако

при некоторых инфекциях причины, обуславливающие вирулентность вируса, могут определить и возникновение инфекции. Например, вирулентность вируса гриппа в разных клеточных системах обусловлена степенью нарезания гемагглютинина-предшественника на две субъединицы — большую и малую, которые осуществляют клеточные протеазы. Нарезание зависит как от величины, структуры и конформации участка белка, так и от наличия и концентрации специфических клеточных протеаз. При отсутствии нарезания инфекция не возникает, а разная степень его определяет вирулентность вируса в данной клеточной системе.

Вирулентность вируса определяется многими факторами организма: конституция, возраст, питание, наличие стресса, естественный и приобретенный иммунитет, интерферон могут определить течение инфекции и ее исход.

Понятие «токсичность» при вирусных инфекциях лишено смысла, так как ни эндотоксинов, ни экзотоксинов применительно к вирусам не существует.

Пути проникновения вируса в организм

Вирус проникает в организм разными путями, которые определяются локализацией чувствительных клеток в организме и механизмом передачи вирусов от одного хозяина к другому.

Одни вирусы используют строго определенный путь проникновения в организм. Например, ортомиксовирусы, ряд парамиксовирусов, коронавирусов, аденовирусов, риновирусы способны репродуцироваться только в клетках слизистых оболочек дыхательных путей человека и животных, и, следовательно, единственным путем проникновения в организм является воздушно-капельный. Другие вирусы способны к репродукции в разных клеточных системах. Например, вирусы герпеса и оспы способны вызвать заболевание при внутрикожном, внутривенном, интраназальном, внутримозговом введении.

В естественных условиях возможны следующие пути проникновения вируса в организм.

Воздушно-капельный. Вирус проникает в дыхательные пути в составе капель, попавших в воздух из дыхательных путей больного. Чем меньше капли, тем легче и глубже они туда проникают. Вирусные частицы могут попадать также с частицами пыли. Крупные частицы пыли оседают на слизистой оболочке носа, а мелкие

(не более 2 мкм) могут проникнуть глубоко в дыхательные пути и достичь альвеол.

Воздушно-капельным путем в организм попадают две группы вирусов: 1) респираторные вирусы, которые репродуцируются в эпителии слизистых оболочек дыхательных путей, вызывают местную (реже генерализованную) инфекцию и затем выводятся из организма; 2) вирусы, для которых дыхательные пути являются только входными воротами инфекции. Не вызывая местных поражений тканей, эти вирусы обуславливают генерализованную инфекцию, часто со вторичным поражением дыхательных путей. К таким вирусам относятся вирусы натуральной и ветряной оспы, кори, свинки.

Пищевой. Этим путем в пищеварительный тракт попадают энтеровирусы, реовирусы, многие альфа-вирусы, аденовирусы, некоторые парвовирусы и др.

Трансмиссивный. Вирус проникает в организм при укусе кровососущего насекомого (возбудители трансмиссивных инфекций — арбовирусы и некоторые вирусы семейства рабдовирусов).

Через кожу. Некоторые вирусы проникают в организм через поврежденную или даже неповрежденную кожу, например, вирусы бешенства (при укусе животных), коревой оспы, папилломы.

Половой. Таким путем в организм проникают вирусы герпеса, бородавок человека (семейство паповавирусов).

Парентеральный. Этим путем в организм попадает вирус гепатита В. Заражение вирусом может произойти при всякого рода парентеральных манипуляциях — хирургических вмешательствах, переливании крови, стоматологических операциях, при маникюре и педикюре и т. д.

Вертикальный. Этот путь передачи встречается, в частности, при интеграционных инфекциях, когда в дочерние клетки попадает клеточный геном с интегрированными последовательностями вирусного генома, и при инфекциях с внутриутробным заражением плода, что характерно для вируса краснухи при заболевании женщин, особенно в первые 3 мес беременности. Поражения плода могут вызывать вирусы цитомегалии, простого герпеса, Коксаки и др.

Распространение вирусов в организме

Лимфатическая система. Лимфатические сосуды являются одним из основных путей, по которым вирус распространяется от места первоначальной локализации

(кожа, слизистая оболочка дыхательных путей и пищеварительный аппарат). Примером распространения вирусов по лимфатической системе является поражение лимфатических узлов после подкожной противооспенной вакцинации, при кори и краснухе, инфицирование миндалин и аденоидной ткани при аденовирусной инфекции. Инфицированные лимфатические узлы могут быть вторичным очагом инфекции.

Кровеносная система. Гематогенный путь является основным путем распространения вируса в организме, и вирусемия является обычным симптомом при большинстве вирусных инфекций. В кровь вирусы могут поступать из лимфатической системы, переноситься с помощью лейкоцитов, проникать в кровеносные капилляры из первично инфицированных тканей. Вирусемия поддерживается путем постоянного поступления вирусов в кровь или же при нарушении механизмов элиминации вирусов из крови. Длительность нахождения вируса в токе крови может определяться размером вирусной частицы: более крупные вирусные частицы быстрее устраняются из тока крови, чем мелкие, поэтому вирусемия обычно имеет место при энтеровирусных инфекциях. Однако даже такие относительно мелкие вирусы, как тогавирусы, менее чем за один час на 90% выводятся из крови. Поэтому ряд вирусов использует специальные механизмы для длительной вирусемии. Некоторые вирусы (например, вирусы оспы) обладают способностью репродуцироваться в клетках сосудистого эндотелия, откуда непосредственно попадают в кровь; многие вирусы фагоцитируются макрофагами, которые разносят их по организму и защищают от иммунных факторов. Доставка вируса макрофагами в лимфоузлы может лишь благоприятствовать инфекции, если вирус размножается в клетках лимфоцитов, поступая оттуда в кровь. Помимо макрофагов, вирус может связываться с другими клетками крови. Так, вирусы гриппа и парагриппозные вирусы адсорбируются на эритроцитах, вирусы кори, паротита, герпеса, полиомиелита, клещевого энцефалита и др. адсорбируются на лейкоцитах, а некоторые вирусы способны репродуцироваться в лейкоцитах.

Нервные стволы. Нейрогенный путь распространения вирусов вдоль периферических нервов присущ вирусам бешенства, простого герпеса, полиомиелита. Вирус бешенства распространяется от входных ворот инфекции — места укуса — по нервам центростремительно к ЦНС,

а оттуда — в слюнные железы, из которых вирус выделяется в слюну. Распространение вирусов герпеса в организме при опоясывающем герпесе происходит не только гематогенным, но и нейrogenным путем, при этом вирус может персистировать в дорсальных ганглиях и при определенных условиях может активироваться и распространяться по чувствительному нерву в обратном направлении. Рецепторы для вирусов герпеса обнаружены в синапсах нервных клеток. Вирус может распространяться по аксонам центробежно и центростремительно со скоростью 200—400 мм в сутки.

Скорость распространения вирусов в организме и достижения чувствительных тканей определяет длительность инкубационного периода. Короткий инкубационный период имеют очаговые инфекции (грипп и другие респираторные инфекции, вирусные гастроэнтериты и др.), длительный — инфекции, возбудители которых попадают в чувствительные ткани после генерализации процесса (вирусные гепатиты).

СБОРНЫЕ ГРУППЫ ВИРУСОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ МАССОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Вирусы, вызывающие респираторные инфекции. Виновниками острых респираторных заболеваний, помимо вирусов гриппа типов А, В и С, являются более 200 вирусов (включая их разные серотипы) и более 50 различных микроорганизмов — стафилококки, стрептококки, микоплазмы, хламидии и др. Заболевания дыхательных путей, так называемые острые респираторные заболевания (ОРЗ), вызывают парагриппозные, респираторно-синцициальные вирусы (семейство парамиксовирусов), риновирусы, вирусы Коксаки и ЕСНО (семейство пикорнавирусов), коронавирусы, аденовирусы. Наибольший удельный вес среди этих вирусов занимают риновирусы, которые не вызывают никаких других заболеваний, и коронавирусы; наиболее тяжелые заболевания с вовлечением нижних дыхательных путей вызывают респираторно-синцициальный вирус и вирус парагриппа типа 3.

Симптомы, наиболее типичные для респираторных заболеваний, вызываемых респираторными вирусами, показаны на рис. 29.

Вирусы, вызывающие гастроэнтериты. Большинство вирусов не вызывают первичной инфекции желудочно-кишечного тракта, поскольку они гибнут при контакте с кислой средой желудка и желчью двенадцатиперстной

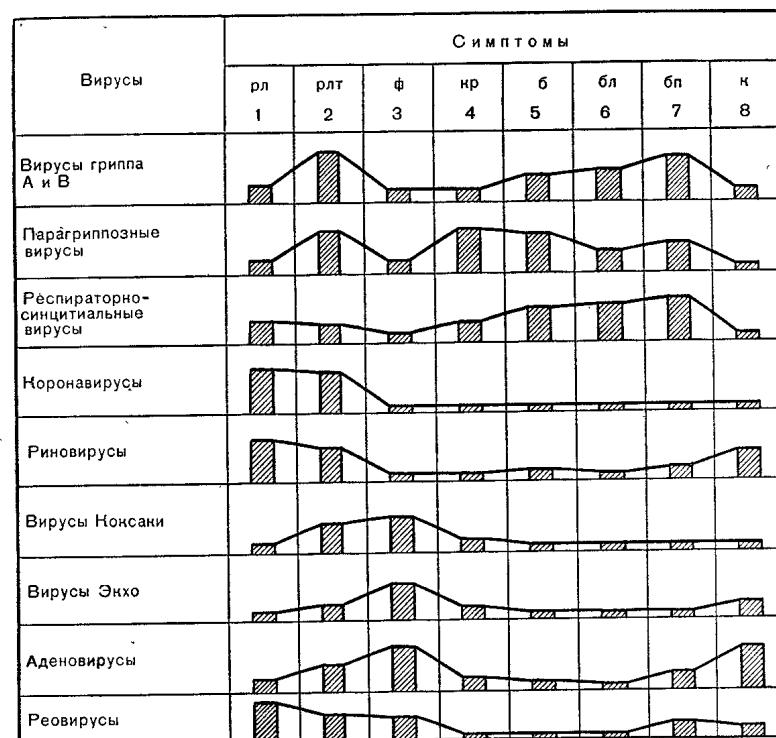


Рис. 29. Диаграмма клинических симптомов при респираторных инфекциях, вызванных различными вирусами.

1— ринит, ларингит (без температуры); 2— ринит, ларингит (с температурой); 3— фарингит; 4— круп; 5— бронхит; 6— бронхолит; 7— бронхопневмония; 8— конъюнктивит.

кишки. Однако есть вирусы, которые не разрушаются при этих условиях и вызывают первичные поражения слизистой оболочки пищеварительного тракта.

К вирусам, вызывающим гастроэнтериты у человека, относятся ротавирусы (семейство реовирусов), вирус Норфолка, кишечные аденовирусы, калицивирусы, астро-вирусы, коронавирусы и неидентифицированные мелкие сферические вирусные частицы (табл. 10).

Энтеровирусы, включая вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕСНО, обычно не являются возбудителями гастроэнтеритов. После первоначальной репродукции в пищеварительном тракте они вызывают генерализованную инфекцию с поражением ЦНС.

Острые вирусные гастроэнтериты являются широко распространенной инфекцией, которая встречается как в эпидемической, так и эндемической форме. Эти ин-

Таблица 10. Кишечные вирусы (возбудители вирусных гастроэнтеритов)

Вирусы	Семейство	Размер вирусной частицы, нм	Преимущественно поражаемые возрастные группы
Ротавирусы	Reoviridae	70—75	Дети 6—24 мес
Вирус Норфолка	Caliciviridae	27	Дети и взрослые
Калицивирусы	Caliciviridae	20—30	Дети 6—24 мес
Кишечные аденовирусы (серотипа 40 и 41)	Adenoviridae	70—90	Дети до 3 лет
Кишечные коронавирусы	Coronaviridae	80—130	Дети и взрослые
Астровирусы	Не классифицированы	29—30	Дети до 3—4 лет
Мелкие сферические вирусы	Не классифицированы	25—35	Дети и взрослые

фекции поражают разные возрастные группы и занимают второе место по частоте заболеваемости после респираторных вирусных инфекций. Болезнь имеет острое начало и сопровождается поносом, тошнотой, рвотой, падением температуры, болями в желудке, головной болью, недомоганием, миалгией.

Основной трудностью в изучении этих вирусов является отсутствие адекватных методов их накопления и пассирования в лабораторных условиях. Для культивирования ротавируса человека требуются специальные условия, хотя ротавирусы животных сравнительно легко культивируются в культурах клеток. Вирус Норфолка, калицивирусы, астровирусы, коронавирусы, серотипы 40 и 41 аденовирусов не культивируются в обычных условиях. Даже кишечные аденовирусы отличаются отсутствием способности репродуцироваться в обычных культурах клеток. Поэтому основным методом изучения этих вирусов является ЭМ экстрактов фекалий больных гастроэнтеритами, а основным способом изучения их патогенеза — заражение добровольцев (в США и других странах). Возникла новая область вирусологии, изучающая эти вирусы, — фекальная вирусология, основанная на методах ЭМ и ИЭМ. В последнее время разработаны ИФА и РИА, позволяющие выявлять антигены кишечных вирусов в фекалиях. Наибольшее значение имеют ротавирусы, вирус Норфолка и аденовирусы.

Вирусы, вызывающие гепатиты. Первичное поражение

печени вызывают следующие вирусы: вирус гепатита А, относящийся к семейству пикорнавирусов (энтеровирус типа 72), вирус гепатита В, относящийся к семейству гепаднавирусов, и сборная группа неклассифицированных вирусов, вызывающих гепатиты ни А ни В. По клиническому течению заболевания, вызванные разными вирусами, не всегда легко отличить друг от друга. Из числа больных гепатитами в нашей стране около 30% приходится на долю больных гепатитом В, около 70% — гепатитом А и около 10% — гепатитом ни А ни В. Наиболее тяжелые формы гепатита, сопровождающиеся высокой летальностью, переходом в хроническую форму, длительным носительством антигена, первичным раком печени, вызывает вирус гепатита В. Сравнительные свойства вирусов и вызываемого ими инфекционного процесса показаны в табл. 11.

Таблица 11. Сравнительные характеристики вирусных гепатитов

Признак	Гепатит А	Гепатит В	Гепатит ни А ни В
Вирус (семейство)	Пикорнавирус	Гепаднавирус	Не идентифицированы, по-видимому, разной природы
Тип нуклеиновой кислоты	Однонитчатая РНК	Двунитчатая ДНК с однонитчатым участком	Не известен
Размер вириона	27—32 нм	42—45 нм	—
Липопротеидная оболочка	Отсутствует	Имеется	—
Путь заражения	Фекально-оральный	Парентеральный	В некоторых случаях — как при гепатите А, в других — как при гепатите В
Возрастные группы	Преимущественно дети от 4 до 15 лет	Дети и взрослые	То же
Сезонность	Чаше август — сентябрь	В течение всего года	» »
Инкубационный период	В среднем 25—30 дней	В среднем 60—90 дней	» »
Иммунопатология	Нет	Есть	» »
Переход в хроническую форму	Не бывает	6—15%	В некоторых случаях как при гепатите В
Носительство	Не бывает	Длительное	То же
Летальность	Менее 0,1%	До 5%	Либо как при гепатите А, либо как при гепатите В

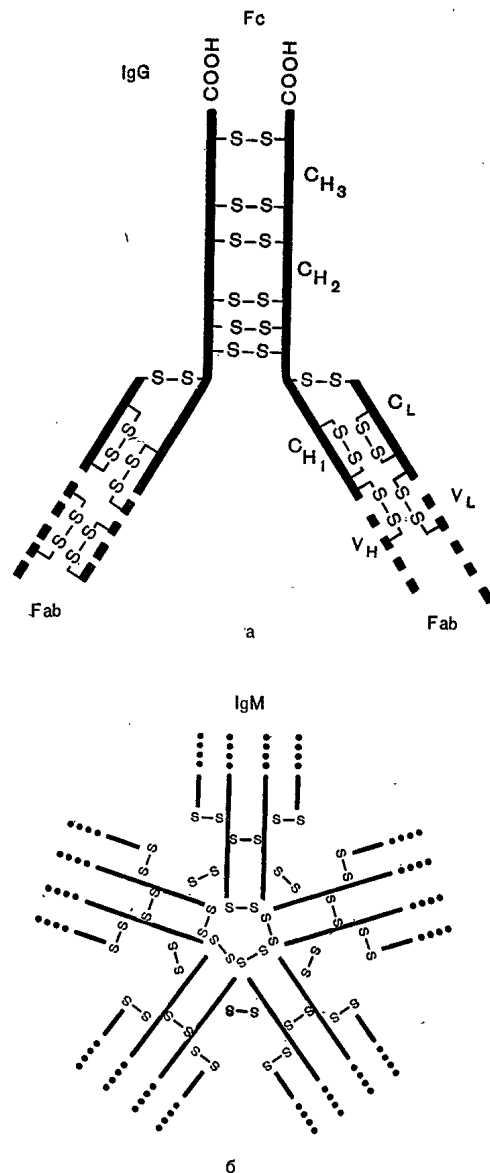
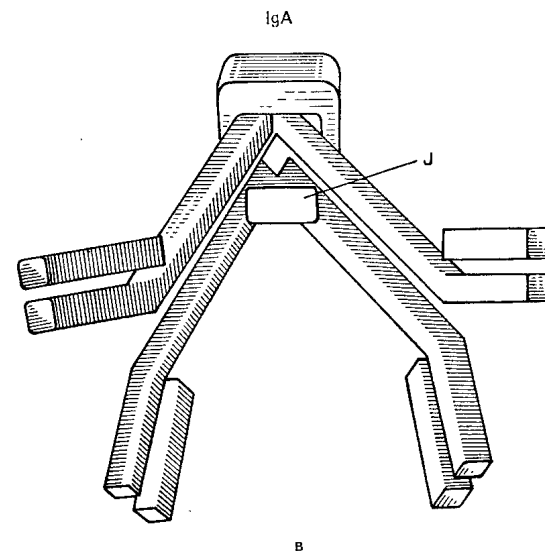


Рис. 30. Структура антител (а, б, в).



выраженной специфичностью, в то время как иммуноглобулины класса IgA играют роль в формировании местного иммунитета слизистых оболочек (секреторные иммуноглобулины). Иммуноглобулины класса IgE фиксируются на клетках и имеют большое значение в развитии аллергических реакций (гиперчувствительности). Иммуноглобулины IgD обуславливают развитие аутоиммунных процессов и, возможно, препятствуют возникновению толерантности.

Т- и В-лимфоциты. В иммунной системе существуют две независимые, но функционирующие совместно клеточные популяции: Т-лимфоциты (тимусзависимые) и В-лимфоциты (не зависящие от тимуса). В-лимфоциты обеспечивают выработку антител и ответственны, таким образом, за большинство явлений гуморального иммунитета. Клеточный иммунитет обеспечивают Т-лимфоциты, одновременно осуществляющие функцию регуляции как В-, так и Т-системы. Эта функция Т-лимфоцитов опосредуется существованием ряда морфологических и функциональных субпопуляций, основными из которых являются Т-помощники (хелперы), Т-супрессоры, Т-киллеры и Т-индукторы. Отдельную ветвь представляют макрофаги. Иммуногенез обеспечивают восемь типов клеток — четыре типа Т-лимфоцитов, три типа В-лимфоцитов и макрофаги. Среди лимфоцитов периферической крови человека

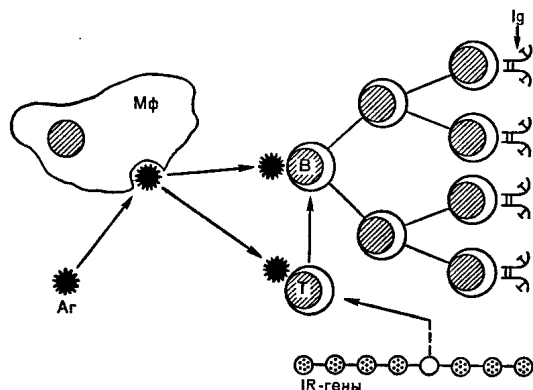


Рис. 31. Кооперативное взаимодействие трех типов клеток при инициации синтеза антител.

Аг — антиген (вирус); МФ — макрофаг; В — В-лимфоцит; Т — Т-лимфоцит; IR-гены — гены иммунного ответа; Ig — иммуноглобулины.

55—60% составляют Т-лимфоциты и 25—30% — В-лимфоциты; 10—20% лимфоцитов (нулевые клетки), по-видимому, являются предшественниками Т- или В-лимфоцитов.

Антителогенез. Предшественники В-клеток в костном мозге превращаются в В-лимфоциты, которые поступают в периферические лимфоидные органы и являются предшественниками трех типов плазматических клеток, продуцирующих антитела классов IgM, IgG и IgA. Подача Т-лимфоцитом включающего сигнала контролируется IR-генами (генами иммунного ответа) (рис. 31). Молекула антигена распознается также и Т-супрессорами, ограничивающими пролиферацию В-клеток на различных стадиях иммунного процесса. Т-супрессоры являются также клетками, обеспечивающими «запрет» на образование аутоантител к собственным антигенам организма, т. е. иммунологическую толерантность. Огромное разнообразие антител обеспечивается существованием в организме млекопитающих не менее 1 млн. лимфоидных клеток, способных дать пролиферацию независимому иммунокомпетентному клону, и обусловлено комбинацией варибельных фрагментов легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов.

Моноклональные антитела. Моноклональные антитела получают путем гибридизации лимфоцитов селезенки мышей, иммунизированных определенным антигеном, с клетками злокачественной опухоли иммунной системы мышей — миеломы. Этот метод, предложенный в

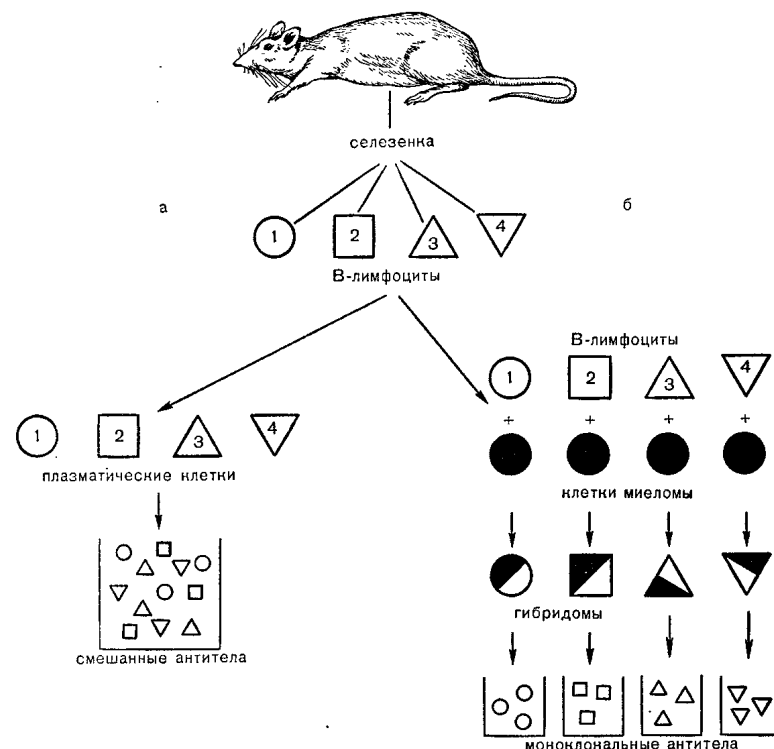


Рис. 32. Получение смешанных (а) и моноклональных антител (б) (схема).

1975 г. Милстейном и соавт. основан на способности таких гибридных клеток (гибридомы) к быстрому размножению с образованием клона специфических антител. Гибридные клетки можно поддерживать в перевиваемой культуре, а клонируя отдельные гибридные клетки, можно получить клоны, продуцирующие большое количество идентичных антител к одной антигенной детерминанте. Размноженный в культуре клон вводят мышам интраперитонеально и затем пассивируют развившиеся опухоли. Асцитическая жидкость таких опухолей содержит моноклональные антитела в высоких титрах (рис. 32). Моноклональные антитела позволяют изучать отдельные детерминанты, а применение нескольких клонов позволяет дать исчерпывающую характеристику изучаемой группе вирусов.

Иммуногенез Т-лимфоцитов. Исходным событием иммуногенеза Т-лимфоцитов также является взаимодейст-

вие антигена с макрофагом. Антиген взаимодействует со структурами главного антигена гистосовместимости (HLA) макрофага и в таком виде распознается Т-лимфоцитами; В-лимфоцит также распознает антиген и получает дополнительный сигнал включения от стимулированного Т-лимфоцита. Взаимная активация лимфоцитов происходит благодаря специфическим и неспецифическим гуморальным факторам — лимфокинам и интерлейкинам. В результате происходит пролиферация и дифференцировка Т-клеток с образованием клонов эффекторных Т-лимфоцитов, которые распознают измененную клетку и уничтожают ее. Таким образом, основой иммунного процесса служит кооперативное функционирование клеточной «тробицы»: Т- и В-лимфоцитов и макрофага.

Иммунологическая память. Иммунологической памятью называют способность организма давать ускоренные иммунологические реакции на повторное введение антигена. Иммунологическая память в ряде случаев сохраняется многие годы и свойственна как гуморальному, так и клеточному иммунитету. Клетками памяти является часть дочерних В- и Т-лимфоцитов, стимулированных данным антигеном, однако более длительную иммунологическую память имеют Т-лимфоциты.

Факторы неспецифической резистентности. Помимо иммунной системы, в организме существуют факторы неспецифической резистентности. К ним относятся кожные и слизистые покровы, являющиеся механическим препятствием для проникновения возбудителей инфекционных болезней и антигенов; лизоцимы, выделяемые слизистыми оболочками и циркулирующие в крови; пропердиновая система; мукопротеины клеток слизистых оболочек. К факторам неспецифической резистентности относится также система комплемента, состоящая из 12 белков нормальной сыворотки, которая непосредственно взаимодействует с иммунной системой.

ВИРУСНЫЕ АНТИГЕНЫ

Вирусные антигены могут быть вирионными (входящими в состав вирионов) и вирусиндуцированными (находящимися в зараженной клетке). Вирионными антигенами могут быть либо простые белки, состоящие из одной полипептидной цепи, либо надмолекулярные образования, состоящие из нескольких полипептидных белков.

Вирусные антигены находятся и на поверхности

зараженных клеток. Эти антигены обусловлены, во-первых, вновь образованными вирусными частицами, еще сохранившими связь с клеточной поверхностью, и в первую очередь вирусными частицами, выходящими из клетки путем почкования; во-вторых, встроенными в плазматическую мембрану клеток вновь образованными вирусными гликопротеидами при репродукции оболочечных вирусов. В процессе репродукции вируса в клетке происходит синтез вирусспецифических неструктурных белков, которые также обладают антигенными свойствами.

Антигенные детерминанты вирусных антигенов. Антитела, вырабатываемые в ходе вирусной инфекции или при введении вирусных антигенов, взаимодействуют не со всей молекулой антигена, а с ее антигенными детерминантами, которые могут иметь разную природу.

На примере гемагглютиниона вируса гриппа можно видеть четыре типа антигенных детерминант, которые встречаются у вирусных антигенов. Первые две детерминанты обусловлены первичной последовательностью аминокислотных остатков и конформацией вторичной структуры этого участка белка — петлей в случае детерминанты А и α -спиралью в случае детерминанты В. Третья детерминанта (С) образуется в результате взаимодействия сближающихся разных участков мономера гемагглютиниона. Наконец, четвертая детерминанта (D) возникает в результате образования тримера гемагглютиниона, определяющего его четвертичную структуру.

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Нейтрализация инфекционной активности вируса антителами осуществляется двумя путями: 1) в результате необратимых конформационных изменений структуры белков вирусной частицы у сложно устроенных вирусов, в основном структуры молекул гликопротеидов; такой механизм нейтрализации требует участия комплемента; 2) в результате пространственной блокады молекулами антител вирусных прикрепительных белков и предотвращения связывания вириона с клеточными рецепторами. Поскольку на поверхности вирусной частицы прикрепительные белки представлены во множественных копиях, нейтрализация по этому типу требует связывания с вирусной частицей более одной молекулы антител. Связанные с недостаточным числом молекул антител вирусы могут прикрепиться к клетке и вызвать инфекционный процесс.

Гуморальный иммунитет играет важную роль в противовирусном иммунитете, и уровень антител в крови обычно является надежным показателем резистентности к таким вирусным инфекциям, как корь, клещевой энцефалит, полиомиелит и др. Повышение титра антител в парных сыворотках, т. е. взятых в раннем периоде болезни и в период выздоровления, используется для серологической диагностики вирусного заболевания, а исследования парных сывороток, взятых в начале и конце эпидемии у здоровых людей, позволяют оценить частоту бессимптомных форм изучаемой вирусной инфекции.

Гуморальный иммунитет определяют по наличию в крови антител преимущественно класса IgG. Однако при многих инфекциях, в частности при гриппе, ОРЗ, полиомиелите, и других энтеровирусных, ротавирусных инфекциях, важное значение имеет создание местного иммунитета слизистых оболочек дыхательных путей и пищеварительного тракта, связанное с образованием и секрецией антител класса IgA. Содержание их, не всегда коррелирующее с содержанием антител класса IgG, более объективно характеризует степень иммунитета к изучаемой вирусной инфекции.

Поскольку антитела класса IgG появляются не ранее чем через одну неделю после заболевания и длительно циркулируют в крови, они имеют ограниченное значение для диагностики и не свидетельствуют о свежеперенесенной инфекции. Основная роль антител класса IgG сводится к защите организма от повторного заражения. Для установления свежеперенесенной инфекции определяют антитела класса IgM, которые появляются раньше, чем IgG, и раньше исчезают.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Основным механизмом противовирусного иммунитета являются иммунные клеточные реакции, осуществляемые Т-эффекторами, а основную роль в этих клеточных реакциях играют Т-киллеры, которые распознают зараженную клетку в организме и вызывают ее цитолиз. В результате организм освобождается от клеток, продуцирующих инфекционное вирусное потомство.

Индукцированные вирусным антигеном Т-лимфоциты приобретают свойства распознавать вирусный антиген, находящийся на поверхности зараженных клеток. Вирусные детерминанты, распознаваемые Т-лимфоцитами, сходны

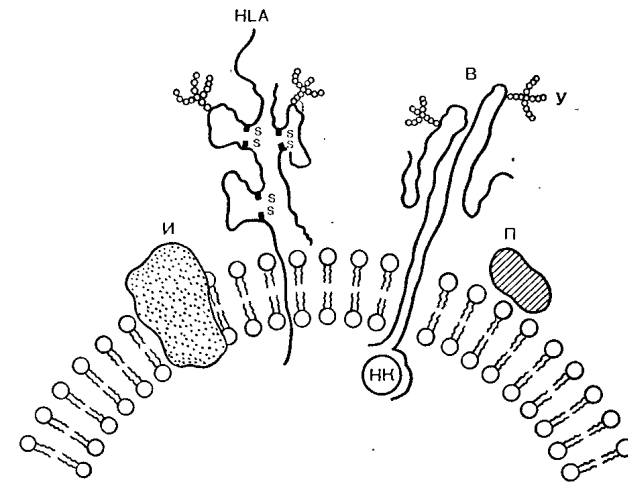


Рис. 33. Строение плазматической мембраны зараженной вирусом клетки (схема).

В — вирусный гликопротеид, пронизывающий мембрану и контактирующий с вирусным нуклеокапсидом на цитоплазматической стороне мембраны; HLA — клеточный антиген гистосовместимости; П — периферический белок; И — интегральный белок плазматической мембраны; НК — вирусный нуклеокапсид.

или идентичны детерминантам, выявляемым В-лимфоцитами на поверхности зараженных клеток. Однако в отличие от В-лимфоцитов, Т-лимфоциты распознают только те зараженные клетки, на поверхности которых вирусный антиген сцеплен с клеточными антигенами главного комплекса гистосовместимости — HLA у человека (рис. 33).

Т-лимфоциты обладают высокой специфичностью и могут, например, различать клетки, которые заражены вирусами гриппа типа А или гриппа типа В. Однако специфичность Т-лимфоцитов в отношении вирусов относительна и варьирует у разных таксономических групп.

Существенным фактором в противовирусном иммунитете являются макрофаги. Они принимают участие в иммунной стимуляции, распознавании антигена, регуляции пролиферации и дифференцировки лимфоцитов. Кроме того, они являются активными помощниками в разрушении и удалении из организма неродственных антигенов. Цитотоксическая активность макрофагов имеет неспецифический характер и проявляется на ранних стадиях инфекционного процесса.

В противовирусном иммунитете имеют значение и другие факторы клеточного иммунитета, такие как активность естественных киллеров и зависимость от антител

цитотоксичность, обусловленная неиммунными лимфоидными клетками.

Клеточный иммунитет, как указывалось, играет более важную роль при вирусных инфекциях, нежели гуморальный иммунитет. Лишь часть вирусов (в частности, пикорнавирусы) быстро разрушают пораженные ими клетки, большинство же вирусов не вызывают немедленной их гибели, а онкогенные вирусы, наоборот, вызывают пролиферацию пораженных клеток. Поэтому зараженные клетки становятся мишенью для цитолитического действия Т-эффекторов, естественных киллеров и макрофагов. Цитолитическое действие имеет место при всех вирусных инфекциях и поэтому должно быть отнесено вместе с интерфероном (см. далее) к основным факторам, способствующим выздоровлению организма от вирусной инфекции.

Особенности иммунитета при некоторых вирусных инфекциях. Продолжительность и прочность иммунитета варьирует при разных вирусных инфекциях. Так, при оспе, кори, паротите иммунитет является весьма прочным. При других вирусных инфекциях иммунитет не столь стоек и продолжителен и поэтому возможны повторные заболевания. Это, по-видимому, относится к некоторым парамиксовирусам (респираторно-синцитиальный вирус), а также к риновирусам, хотя повторное заражение может объясняться заражением другими серологическими типами риновирусов.

Своеобразны особенности иммунитета при гриппе. Перенесенная инфекция создает стойкий иммунитет: так, первая волна гриппа в 1977—1978 гг., вызванная вирусом H1N1, циркулировавшим в 1957 г., характеризовалась тем, что заболели почти исключительно лица моложе 20 лет, родившиеся после 1957 г. Таким образом, повторные заболевания гриппом одного и того же серотипа связаны не с нестойкостью иммунитета, а с антигенным дрейфом двух поверхностных вирусных белков. О прочности иммунитета при гриппе свидетельствует феномен антигенной доминанты или «первородного антигенного греха». При повторных заболеваниях гриппом наряду с появлением антител к вирусу, вызвавшему заболевание, стимулируется рост антител к вирусу, с которым произошла первая встреча данного индивидуума. Этот феномен был широко использован для «серологической археологии» — выяснения, какие вирусы гриппа циркулировали в прошлом, до их открытия.

Многие вирусы персистируют в организме, несмотря

на наличие антител. Например, аденовирусы могут длительно персистировать в миндалинах, вирусы герпеса могут длительно и даже пожизненно сохраняться в нервных клетках чувствительного ганглия тройничного нерва или в дорзальных ганглиях. При ряде персистентных вирусных инфекций причиной персистенции является недоступность вируса для циркулирующих в крови антител. Некоторые вирусы способны распространяться из клетки в клетку без выхода во внеклеточное пространство. Например, вирусы герпеса могут проникать из одной клетки в другую по цитоплазматическим мостикам. Многие вирусы (вирусы парагриппа человека, кори, респираторно-синцитиальный и др.) вызывают слияние соседних клеток и распространяются путем формирования симпласта или синцития. Возможно проникновение вируса и субвирусных компонентов в дочерние клетки при клеточном делении. Существует несколько способов «ускользания» вирусов от иммунологического надзора: 1) подавление фагоцитоза; 2) угнетение Т- и В-системы; 3) особая локализация вируса в организме, защищающая его от действия иммуноцитов. В результате создаются условия для распространения вируса в организме и его персистенции. Нарушение функции лимфоцитов имеется при большинстве вирусных инфекций. Вирусы гриппа, кори, полиомиелита, герпеса, ротавирусы и особенно вирус СПИД угнетают иммунные реакции Т-лимфоцитов, препятствуют их стимуляции. Вирус СПИД вызывает деструкцию Т-хелперов. Вирусы герпеса — возбудители ветряной оспы и опоясывающего герпеса, цитомегалии, инфекционного мононуклеоза — приводят к увеличению абсолютного и относительного количества Т-супрессоров. Активацию супрессоров вызывает вирус клещевого энцефалита.

Таким образом, приобретенный иммунитет после перенесенной вирусной инфекции может быть разным: в одних случаях он защищает от повторных заболеваний на многие годы или на всю жизнь; в других случаях утрачивается через несколько лет и даже месяцев, в связи с чем возможны повторные заболевания; в третьих случаях иммунитет не предотвращает персистирование вируса в организме и появление периодических рецидивов.

ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

В иммунологии иммунопатологическими реакциями называют такие иммунологические феномены, которые при-

водят к повреждению органов и тканей хозяина и одновременно направлены против возбудителя. Однако при вирусных инфекциях наряду с иммунопатологическими реакциями, наблюдающимися и при других инфекциях (образование иммунных комплексов, аутоантител и др.), встречаются и необычные феномены, которые также можно отнести к иммунопатологии.

Сохранение инфекционности вируса в иммунном комплексе и макрофагах. При взаимодействии вирусов с антителами могут формироваться иммунные комплексы, в которых вирусы сохраняют инфекционную активность. Обычно это имеет место при использовании недостаточной концентрации антител, однако избыток антител не всегда оказывает дополнительный инактивирующий эффект при ряде инфекций. Длительная циркуляция в организме таких иммунных комплексов приводит, во-первых, к постоянному инфицированию чувствительных клеток, во-вторых, к антигенной стимуляции вирусспецифических иммунокомпетентных клеток. В результате формируются новые иммунные комплексы, содержащие инфекционный вирус. Образующиеся иммунные комплексы фиксируются на клетках, содержащих рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулина, и в результате создаются условия для прикрепления и проникновения в клетки вируса.

Увеличение количества связавшегося с клеткой вируса, находящегося в составе иммунных комплексов, объясняется следующими причинами.

1. Клеточные рецепторы для ряда вирусов не могут обеспечить такого эффективного проникновения в клетку, как Fc-рецепторы.

2. Агрегированный вирус труднее проникает в клетку, чем мономерная вирусная частица, окруженная антителами.

3. Антитела защищают вирус от протеолитической деградации клеточными ферментами.

Феномен парадоксального усиления репродукции вирусов при использовании недостаточных концентраций антивирусных антител присущ многим вирусам: альфа- и флавивирусам, буньявирусам, рабдовирусам, реовирусам. Особенно четко этот феномен проявляется при заражении вирусами макрофагов: связанные с антителами вирусные частицы лучше размножаются в макрофагах по сравнению со свободными. Наиболее четко феномен проявляется при использовании вируса денге (флавивирус).

Макрофаги способны фагоцитировать многие вирусы.

Однако не все фагоцитированные вирусы разрушаются ферментными системами макрофагов; незавершенный фагоцитоз в ряде случаев может не предотвращать развитие инфекции, а становиться ее источником. Такая инфекция может протекать как в острой, так и хронической форме. Примером устанавливающейся персистенции при взаимодействии вируса и макрофагов является экспериментальная цитомегалия.

Иммунная деструкция зараженных клеток. Клеточные мембраны могут разрушаться гуморальными факторами — лимфотоксинами, которые синтезируются лимфоцитами. Лимфотоксины оказывают неспецифическое ферментативное действие вблизи секретирующих их клеток. Однако основным механизмом деструкции зараженных клеток является цитотоксическое действие Т-лимфоцитов. Вирусспецифические Т-киллеры появляются вскоре после заражения, через 1—3 сут. Способность Т-лимфоцитов разрушать зараженные клетки может приводить не только к защитному эффекту и выздоровлению от инфекции, но и к иммунопатологическим реакциям в результате поражения органов и тканей. Защитное или повреждающее действие Т-лимфоцитов зависит от стадии инфекции, в течение которой они действуют. Если разрушение зараженных клеток происходит на ранних стадиях инфекции, гибель немногочисленных зараженных клеток, находящихся, в основном, у входных ворот инфекции, не приведет к нарушению гомеостаза, и наступит выздоровление. Напротив, при действии Т-лимфоцитов на более поздних стадиях инфекции, когда в результате распространения вируса в организме повреждены клетки многих органов и тканей, иммунный цитолиз может привести к некомпенсируемым нарушениям жизненно важных функций организма и усугубить инфекционный процесс.

В ряде случаев специфические антитела могут воздействовать на клетки в отсутствие комплемента (при некоторых иммунодефицитных состояниях, поражении нервных клеток, недоступных для комплемента и т. д.). Антитела в отсутствие литического действия комплемента приводят к уменьшению выхода вирусных белков на клеточную поверхность, в результате чего может развиваться внутриклеточная персистенция вирусных компонентов.

Единый механизм, лежащий в основе защитного и повреждающего действия иммунных Т-лимфоцитов, предполагает обязательное участие иммунопатологического компонента в патогенезе любой вирусной инфекции, и

иммунопатологию можно рассматривать как обязательную плату за выздоровление при вирусных инфекциях. При разных инфекциях вирусной этиологии соотношение защитного и повреждающего действия Т-лимфоцитов существенно варьирует.

Аутоиммунные антитела. Деструкция зараженных вирусом клеток в процессе инфекции приводит к появлению антигенно измененных клеточных структур, которые воспринимаются организмом как чужеродные и вызывают формирование гуморальных и клеточных факторов иммунитета, способных взаимодействовать с антигенами нормальных клеток. Конформационная перестройка молекулы антигена, взаимодействующего с антителом, также является причиной образования аутоантител против собственных иммуноглобулинов. В результате возникают аутоиммунные реакции. В их патогенезе важную роль играет нарушение сосудистой проницаемости под действием иммунных комплексов. В результате происходит антигенная стимуляция элементов лимфоидной ткани, синтез аутоантител и формирование ауто-Т-лимфоцитов, разрушающих ставшие чужеродными клеточные антигены. Аутоиммунные процессы часто приводят к развитию осложнений при вирусных инфекциях. С аутоиммунными процессами связано, например, возникновение орхита как осложнения при вирусном паротите, обусловленного повышением проницаемости кровеносных и лимфатических сосудов тестикулярной ткани; возникновение миокардита при инфекции, вызванной вирусами Коксаки. У больных хроническим гепатитом В обнаруживаются клетки с цитотоксической активностью к гепатоцитам, которая реализуется в присутствии антител против специфического липопротеина печени, находящегося на поверхности гепатоцитов.

Иммунокомплексная патология. Образование иммунных комплексов при взаимодействии вируса с антителами является важным механизмом, обеспечивающим выздоровление и формирование противовирусного иммунитета. Однако иммунные комплексы могут оказывать не только защитное, но и повреждающее действие на организм. Иммунокомплексная патология широко распространена при вирусных инфекциях и играет значительно большую роль в их патогенезе по сравнению с другими инфекционными и неинфекционными болезнями.

В образовании иммунных комплексов участвуют преимущественно антитела класса IgG, однако их формирование может происходить и с участием IgM- и IgA-антител.

Так, IgM- и IgA-антитела в составе иммунных комплексов были обнаружены в клубочковых отложениях почек при алеутской болезни норки, инфекционном мононуклеозе, гепатите В. Формирование иммунных комплексов происходит как в жидкой среде, так и на поверхности зараженных вирусом клеток. Может происходить связывание антител с вирусными гликопротеидами, расположенными на поверхности зараженных клеток, с последующим освобождением иммунных комплексов во внеклеточное пространство. Такие иммунные комплексы образуются при кори. Размер, растворимость и биологическая активность комплексов зависят от отношения антигена к антителу и их относительной концентрации. Иммунные комплексы склонны к агрегации и вторичному связыванию различных молекул: компонентов комплемента, антител к ним, антиглобулинов, антиидиотипических антител.

Судьба иммунных комплексов и их биологическая активность в организме могут быть различными. Они могут взаимодействовать с клетками иммунной системы путем связывания с рецепторами к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, при этом аффинитет к рецепторам иммунных комплексов повышен по сравнению с иммуноглобулином. Взаимодействие с рецептором ведет к активации клеток, секреции биологически активных веществ, которые увеличивают проницаемость сосудов, активизируют свертывающую систему крови и т. д. Иммунные комплексы могут изменить гуморальный и клеточный ответ путем взаимодействия с В- и Т-клетками, усиливать или подавлять активность лимфоцитов.

Иммунные комплексы могут циркулировать в кровотоке и в межтканевой жидкости. Крупные иммунные комплексы быстро выводятся из циркуляции с участием системы мононуклеарных фагоцитов. Мелкие иммунные комплексы могут фиксироваться в стенках сосудов или мембранах почечных клубочков. Иммунные комплексы, находящиеся в межтканевых пространствах, плохо выводятся и вызывают локальное воспаление ткани. Укрупнение иммунных комплексов, их сорбция на стенках сосудов и тканях вызывают повреждение органов и тканей и обуславливают «болезни иммунных комплексов», патогенез которых связан с развитием гломерулонефрита и впервые разработан при сывороточной болезни.

Элементы иммунокомплексной патологии встречаются при большинстве вирусных инфекций и играют значительную роль в их патогенезе. Наиболее изучена иммуноком-

плексная патология при гепатите В, герпетической инфекции, геморрагической лихорадке денге, подостром склерозирующем панэнцефалите (табл. 13). В продромальном периоде гепатита В возникают васкулиты и артриты, обусловленные циркулирующими иммунными комплексами, содержащими HBs-антиген и анти-HBs-антитела, и гломерулонефриты, связанные с гранулярными отложениями иммунных комплексов в ткани почек.

Таблица 13. Иммунокомплексная патология при вирусных инфекциях

Инфекция	Наличие иммунных комплексов	
	в крови	в тканях
Гепатит В	+	+
Инфекционный мононуклеоз	+	+
Цитомегалия	+	+
Лимфома Беркитта	+	+
Геморрагическая лихорадка денге	+	+
Подострый склерозирующий панэнцефалит	+	+

В ядрах гепатоцитов при хроническом гепатите В регулярно обнаруживают как вирусные антигены, так и антитела класса IgG, которые проникают в клетку в результате нарушения проницаемости клеточных мембран. Основным антигенным компонентом является HBs-антиген, однако в иммунных комплексах обнаруживаются HBs- и HBe-антигены. При геморрагической лихорадке денге иммунные комплексы обуславливают усиленную репродукцию вируса путем взаимодействия с Fc-рецепторами моноцитов и активацию системы комплемента. При инфекционном мононуклеозе, лимфоме Беркитта и назофарингеальной карциноме обнаружены иммунные комплексы, содержащие аутоантитела. У больных цитомегалией детей обнаружены циркулирующие иммунные комплексы и иммунные комплексы в мембранах почечных клубочков. При ряде вирусных инфекций иммунокомплексная патология лежит в основе патогенеза. Так, гибель мышей, внутриутробно зараженных вирусом лимфоцитарного хориоменингита, наступает впоследствии от иммунокомплексного гломерулонефрита; та же причина гибели наблюдается при алеутской болезни норки. При других вирусных инфекциях иммунокомплексная патология явно

не выражена, однако она также играет роль в патогенезе заболевания. Например, при полиовирусной инфекции формирование иммунных комплексов, фиксирующихся в стенках кровеносных сосудов, приводит к нарушению их проницаемости и способствует проникновению вирусных частиц через гематоэнцефалический барьер.

Сохранение инфекционной активности вируса в составе иммунных комплексов является одной из основных причин возникновения хронических форм вирусных инфекций. При этом создается порочный круг: длительно текущий патологический процесс наносит ущерб репарационным системам гомеостаза организма, что, в свою очередь, приводит к созданию условий для персистенции вируса или его компонентов.

ИНТЕРФЕРОН

А. Айзекс и Ж. Линдеман в 1957 г. обнаружили, что клетки, зараженные вирусом, вырабатывают особое вещество, угнетающее размножение как гомологичных, так и гетерологичных вирусов, которое они назвали интерфероном. В дальнейшем было показано, что существует много интерферонов и поэтому следует говорить о системе интерферона. Если иммунная система обеспечивает белковый гомеостаз и через него устраняет чужеродную генетическую информацию, то система интерферона непосредственно воздействует на чужеродную генетическую информацию, устраняя ее из организма на клеточном уровне, и тем самым обеспечивает нуклеиновый гомеостаз. Система интерферона тесно взаимодействует с иммунной системой.

Интерфероны являются белками с молекулярной массой, колеблющейся у разных интерферонов от $22 \cdot 10^3$ (мышинный интерферон) до $94 \cdot 10^3$ (интерферон форели). Углеводные цепочки в молекуле β - и γ -интерферона не обязательны для его активности.

Интерфероны закодированы в генетическом аппарате клетки. Гены для человеческого фибробластного интерферона располагаются во 2-й, 9-й и длинном плече 5-й хромосомы, а ген, регулирующий транскрипцию — в коротком плече той же хромосомы. Ген, детерминирующий восприимчивость к действию интерферона, локализован в 21-й хромосоме. Ген для α -интерферона располагается в 9-й хромосоме, для γ -интерферона — в 11-й хромосоме.

Система интерферона не имеет центрального органа, так как способностью вырабатывать интерферон обладают все клетки организма позвоночных животных, хотя наиболее активно вырабатывают его клетки белой крови.

Интерферон спонтанно не продуцируется интактными клетками и для образования его нужны индукторы, какими могут быть вирусы, бактериальные токсины, экстракты из бактерий и грибов, фитогемагглютинины, синтетические вещества — поликарбоксилаты, полисульфаты, декстраны, но наиболее эффективными индукторами интерферона являются двунитчатые РНК: двунитчатые вирусные РНК и двунитчатые синтетические сополимеры рибонуклеотидов (поли-ГЦ, поли-ИЦ) и др. Индукция интерферона происходит вследствие дерепрессии его генов.

Типы интерферонов. Известны три типа интерферонов человека: α -интерферон, или лейкоцитарный интерферон, который продуцируется лейкоцитами, обработанными вирусами и другими агентами; β -интерферон, или фибробластный интерферон, который продуцируется фибробластами, обработанными вирусами и другими агентами. Оба эти интерферона принадлежат к типу 1. Более сильный γ -интерферон, или иммунный интерферон, принадлежит к типу 2. Имеется несколько подтипов α -интерферона, и общее число их у человека доходит до 25. Сравнительная характеристика интерферонов человека приведена в табл. 14. Активность интерферонов измеряется в международных единицах (МЕ). Одна единица соответствует количеству интерферона, которое ингибирует репродукцию вируса на 50%.

При индукции интерферонов синтезируется два и более его типов. Так, при индукции интерферона на лимфобластах образуется 87% лейкоцитарного и 13% фибробластного интерферона, при индукции интерферона на фибробластах имеют место обратные соотношения. Между тремя типами интерферонов могут существовать синергические взаимодействия.

Свойства интерферонов. Интерфероны обладают видотканевой специфичностью. Это означает, что интерферон человека действует только в организме человека, но неактивен в организме других биологических видов. Конечно, барьеры видовой специфичности не абсолютны: интерферон человека проявляет некоторую активность в тканях человекообразных обезьян, а куриный интерферон в организме близких видов семейства куриных. Однако активность интерферона в гетерогенных организмах резко

Таблица 14. Сравнительная характеристика α -, β - и γ -интерферонов человека

Свойства	Типы интерферона		
	α	β	γ
Количество подтипов	$>14 \alpha_1 - \alpha_{14}$	≥ 5	1
Клетки-продуценты	Лейкоциты	Фибробласты	Т-лимфоциты
Индукторы	Вирусы, бактериальные продукты, полимеры,	синтетические митогены	Т-митогены, лектины, антигены
Локализация в хромосоме	9-я	2-я; 5-я; 9-я	11-я
Длина иРНК в килобазах	0,7—0,8	0,7—0,8	?
Наличие интронов	нет	1 (β_2)	3
Количество аминокислот	166	166	
Молекулярная масса	17 500—22 000	20 000	38 000—68 000
Активность (МЕ/мг белка)	$2,4 \cdot 10^8$	$2,4 \cdot 10^8$	$\geq 5 \cdot 10^7$
Отношение к pH 2,0	Устойчив	Устойчив	Чувствителен
Отношение к температуре 56°C в течение 1 ч	Устойчив	Устойчив	Чувствителен
Гликозилирование	—	+	+
Антигенная специфичность	+	+	+
Наиболее выраженная биологическая активность	Противовирусная		Иммуномодулирующая

снижается. Поэтому можно заключить, что интерфероны, появившиеся у позвоночных, эволюционировали вместе с хозяевами. Интерферон является относительно устойчивым белком и хорошо переносит кислую среду (pH 2,2), что используется для выделения его и очистки. Антигенные свойства интерферонов мало выражены, в связи с чем антитела к нему удастся получить лишь после многократных иммунизаций.

Интерфероны не обладают специфичностью в отношении вирусов и действуют угнетающе на репродукцию различных вирусов, хотя разные вирусы обладают неодинаковой чувствительностью к интерферону. Чувствительность к нему обычно совпадает с индуцирующей активностью к интерферону. Наиболее часто применяемыми индукторами интерферона и тест-вирусами для его титрования являются рабдовирусы (вирус везикулярного стоматита), парамиксовирусы, тогавирусы. Продукция интерферона зависит также от характера применяемых клеток. Существуют клетки, дефектные по нескольким генам интерферона.

Интерфероны оказывают противовирусное, противоопухолевое, иммуномодулирующее и многие другие действия. Наиболее изучено их противовирусное действие, и именно на вирусных моделях выяснены биологические и другие свойства интерферонов.

Интерферон оказывает противоопухолевое действие при парентеральном введении в больших дозах, связанное с подавлением им цитопролиферативной активности. Добавление интерферона к культуре нормальных клеток сопровождается уже через 2 ч угнетением в них синтеза ДНК. При вирусиндуцированных опухолях интерферон угнетает репродукцию онковирусов и одновременно подавляет цитопролиферативную активность.

Интерферон является регулятором различных механизмов иммунного ответа, оказывая стимулирующее или угнетающее действие на иммунные реакции.

Механизм действия интерферона. Интерферон связывается с клеточными рецепторами, находящимися на плазматической мембране, что служит сигналом для derepression соответствующих генов. В результате индуцируется синтез особой протеинкиназы PK_{ds} , которая присутствует в следовых количествах во всех клетках млекопитающих и активируется низкими концентрациями двунигчатой РНК, а в зараженных вирусами клетках — вирусными репликативными комплексами.

Протеинкиназа фосфорилирует α -субъединицу иницирующего фактора трансляции $eIF-2$, и фосфорилирование блокирует активность иницирующего фактора. В результате иРНК, связанная с иницирующим комплексом, не может связаться с большой рибосомальной субъединицей, и поэтому ее трансляция блокируется. Иницирующий фактор $eIF-2$ в одинаковой степени необходим для трансляции как клеточных, так и вирусных иРНК, однако преимущественно блокируется трансляция вирусных иРНК, связанных с вирусными двунигчатыми РНК-структурами, в результате локальной активации протеинкиназы.

В обработанных интерфероном клетках индуцируется синтез фермента — синтетазы, которая катализирует синтез 2,5-олигодениловой кислоты, переключающую действие клеточных нуклеаз на разрушение вирусных иРНК. Таким образом, вирусные иРНК подвергаются разрушению нуклеазами (рис. 34). Блокирование интерфероном стадии инициации трансляции и разрушение иРНК обуславливают его универсальный механизм действия при

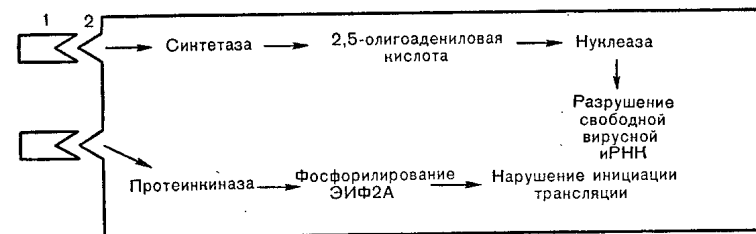


Рис. 34. Механизм действия интерферона.
1 — интерферон; 2 — клеточный рецептор.

инфекциях, вызванных вирусами с разным генетическим материалом.

Применение интерферонов. Интерфероны применяются для профилактики и лечения ряда вирусных инфекций. Их эффект определяется дозой препарата, однако высокие дозы интерферона оказывают токсическое действие. Интерфероны широко применяются при гриппе и других острых респираторных заболеваниях. Препарат эффективен на ранних стадиях заболевания, применяется местно, например путем закапывания или введения с помощью ингалятора в верхние дыхательные пути в концентрациях до $3 \cdot 10^4$ — $5 \cdot 10^4$ ед 2—3 раза в день. При конъюнктивитах интерферон применяют в виде глазных капель. Интерфероны оказывают терапевтическое действие при гепатите В, герпесе, а также при злокачественных новообразованиях. При этих заболеваниях назначают более высокие концентрации. Препарат применяется парентерально — внутривенно и внутримышечно в дозе 10^5 ед на 1 кг массы тела. Более высокие дозы оказывают побочное действие (повышение температуры, головная боль, выпадение волос, ослабление зрения и т. д.). Интерферон может вызвать также лимфопению, задержку созревания макрофагов, у детей — тяжелые шоковые состояния, у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями — инфаркт миокарда. Очистка интерферона значительно снижает его токсичность и позволяет применять высокие концентрации. Очистка осуществляется с помощью аффинной хроматографии с использованием моноклональных антител к интерферону.

Генноинженерный интерферон. Генноинженерный лейкоцитарный интерферон получают в прокариотических системах (кишечной палочке). Биотехнология получения интерферона включает следующие этапы: 1) обработка лейкоцитарной массы индукторами интерферона; 2) выделение из обработанных клеток смеси иРНК; 3) полу-

чение суммарных комплементарных ДНК (кДНК) с помощью обратной транскриптазы; 4) встраивание кДНК в плазмиду кишечной палочки и ее клонирование; 5) отбор клонов, содержащих гены интерферона; 6) включение в плазмиду сильного промотора для успешной транскрипции гена; 7) экспрессия гена интерферона, т. е. синтез соответствующего белка; 8) разрушение прокариотических клеток и очистка интерферона с помощью аффинной хроматографии.

Получены высокоочищенные и концентрированные препараты интерферона, которые испытываются в клинике.

Глава 10. ЭКОЛОГИЯ ВИРУСОВ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША ВИРУСОВ

В экологии — науке о взаимоотношениях организмов друг с другом, включая популяции вирусов и другие таксономические группы, и с окружающей средой — существует понятие экологической ниши — места, занимаемого данной таксономической группой на земле. Экологическая ниша — широкое понятие, включающее в себя и ареал, и взаимоотношения изучаемой таксономической группы с другими группами организмов, и роль их в природных биоценозах, и, наконец, место, занимаемое ими в биосфере.

Как было сказано выше (глава 2), вирусы, не будучи организмами, тем не менее, являются своеобразной формой жизни, которой присущи все основные ее проявления, вплоть до способности эволюционировать, приспосабливаться к меняющимся условиям среды. Лишенные собственных белоксинтезирующих систем, они являются автономными генетическими структурами, навсегда привязанными к внутренней среде организма — от простейшей прокариотической клетки до высшего многоклеточного организма. Эти организмы и являются экологической нишей вирусов.

Вирусы населяют одноклеточных прокариотов (бактерии) и эукариотов (грибы, простейшие), все виды растений и животных. Многие вирусы способны паразитировать в организме лишь одного вида. Такими являются некоторые фаги, вирусы растений, оспы животных, гепатитов человека. Другие вирусы поражают несколько близ-

ких видов животных. Такими являются многие бактериальные плазмиды, вирусы болезней картофеля и пасленов, вирус ящура, поражающий многие виды парнокопытных, вирусы гриппа человека и животных.

Существует большая группа вирусов, имеющих двухфазный тип распространения, при котором либо происходит последовательная смена хозяев, либо другой живой организм является механическим переносчиком. В ряде случаев организм насекомого является, наряду с организмом растения, местом размножения вируса. Это типичная двухфазная система, где вирус последовательно меняет двух хозяев, образующих прочный биоценоз, чем и обеспечивается сохранение и распространение данного вируса.

В частности, такие двухфазные системы чаще встречаются у вирусов, поражающих животных. В сущности, подавляющая масса вирусов, передающихся кровососущими членистоногими — клещами, комарами, москитами, мокрецами и т. п., последовательно сменяют двух хозяев, размножаясь обычно в организме каждого из них.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

В эпидемиологии вирусных инфекций господствует антропоцентрический принцип, и эпидемиология вирусных инфекций или, по крайней мере, большинства из них, не имеет существенных отличий от эпидемиологии бактериальных или протозойных инфекций.

В соответствии с ее положениями, эпидемический (эпизоотический) процесс представляет непрерывную цепь заражений (инфекционных процессов), сопровождающихся выходом возбудителя во внешнюю среду. В этой цепи следует различать источники инфекции, факторы передачи и заражаемые восприимчивые организмы.

Источниками инфекции может быть человек или животное. Соответственно все болезни, вызываемые возбудителями, способными паразитировать только в организме человека, называются «антропонозы». Если же человек заражается от животного, такие болезни обозначают как «зоонозы». Примерами антропонозов среди вирусных инфекций являются грипп, корь, оспа, герпес, полиомиелит. Примерами зоонозов являются клещевой энцефалит, лихорадка флеш-фебрильная (москитная лихорадка), лихорадка Ласса, лимфоцитарный хориоменингит, ящур.

К понятию источников инфекции примыкает, но не тождественно ему понятие резервуара инфекции, под которым подразумевают совокупность видов, поддерживающих существование данного возбудителя. Для антропонозов резервуаром инфекции является человек, человеческое общество, иногда ограниченное определенным ареалом. Например, лихорадка денге распространена только в тропическом поясе. Для зоонозов под резервуаром инфекции понимают виды животных, среди которых циркулирует данный вирус, нередко включая кровососущих (клещей, насекомых), которые по отношению к человеку являются переносчиками.

Понятия «антропонозы» и «зоонозы» не всегда отражают действительные процессы в природе и обществе. Так, желтая лихорадка городская бесспорно является антропонозом, так как заболевание передается от человека к человеку через укусы комаров. Но первоисточником ее является желтая лихорадка лесная (лихорадка джунглей), природные очаги которой в Центральной Африке существуют независимо от людей и обеспечиваются циркуляцией вируса между обезьянами и комарами. Таким образом, это типичный зооноз. Вынос вируса желтой лихорадки лесной за пределы природных очагов и циркуляция его среди людей превращает болезнь в антропоноз. Нечто подобное наблюдалось в прошлом с японским энцефалитом в Японии, когда этот зооноз сельскохозяйственных животных заносился в города и временно становился антропонозом, так как заболевания в городских условиях передавались комарами от человека к человеку. Сходные процессы имели место в некоторых районах Средиземноморья и в Крыму при флeботомной лихорадке (москитная лихорадка).

Еще сложнее обстоит дело с гриппом. Эта глобальная инфекция является бесспорно антропонозом, так как человек заражается ею только от человека. Тем не менее, почти каждая крупная эпидемия гриппа сопровождается выбросом возбудителей в популяции домашних и диких животных (включая птиц), где эти вирусы могут сохраняться и циркулировать длительное время. Более того, имеются веские основания полагать, что в процессе пересортировки генов вирусов гриппа могут появляться штаммы, вызывающие эпидемии и пандемии, которые начинают циркуляцию среди людей по типу чистого антропоноза.

Источники инфекции (речь идет преимущественно об антропонозах) подразделяют на больных, носителей в ста-

дии выздоровления (реконвалесценты) и здоровых носителей. Большинство вирусных инфекций в этом отношении почти не отличаются от бактериальных.

Факторы передачи вирусных заболеваний те же, что и при других инфекционных болезнях: воздух, вода, пища, почва, предметы обихода, а также членистоногие — преимущественно кровососущие. Соответственно различают воздушно-капельный механизм передачи, фекально-оральный, через поврежденные наружные покровы и посредством укуса кровососущих членистоногих. При вирусных инфекциях существует еще один механизм передачи вирусов — вертикальный, который осуществляется двумя способами: внутриутробное заражение плода и генетическая передача. Внутриутробное заражение плода может наблюдаться при заражении беременной женщины вирусами краснухи, цитомегалии и др. Циркулируя в крови, эти вирусы проникают через плацентарные барьеры и повреждают плод, вызывая развитие уродств. Генетическая передача характерна для онкогенных вирусов и обусловлена интеграцией их генома с геномом половых клеток.

Восприимчивые индивидуумы являются той почвой, на которой развивается эпидемический процесс. При инфекциях, передающихся воздушно-капельным путем, заболеваемость регулируется уровнем коллективного иммунитета, который формируется после очередной эпидемии. Примером является возникновение эпидемии кори в изолированных коллективах, все члены которого заболевают, за исключением лиц, перенесших корь при предыдущем заносе. При гриппе также заболеваемость регулируется уровнем коллективного иммунитета, однако в связи с изменчивостью протективных антигенов вируса гриппа сложившийся коллективный иммунитет не обеспечивает защиту от инфекций, поэтому эпидемии гриппа повторно поражают одни и те же контингенты.

Коллективный иммунитет регулирует заболеваемость и при ряде энтеровирусных инфекций, в частности при полиомиелите и гепатите А, а в эндемичных местностях — и при некоторых арбовирусных инфекциях. При указанных инфекциях целесообразна вакцинация, которая формирует необходимый коллективный иммунитет.

Среди вирусных болезней есть такие, восприимчивость к которым абсолютна и иммунитет после них сохраняется на многие годы или даже на всю жизнь (недавно ликвидированная оспа, корь, клещевой энцефалит). Существуют инфекции, восприимчивость к которым невысока,

однако развивается хорошо выраженный иммунитет (полиомиелит, гепатит А, многие энтеровирусные инфекции). Встречаются инфекции, вызывающие недостаточно прочный иммунитет, в результате чего возможны повторные заболевания (парамиксовирусные, риновирусные, аденовирусные инфекции), а также инфекции, при которых иммунитет мало эффективен вследствие изменчивости возбудителя (грипп), и, наконец, инфекции хронические, при которых иммунные реакции не являются эффективными (герпетические, цитомегаловирусные, аденовирусные инфекции). Поэтому при изучении эпидемиологии вирусных инфекций важно знать иммунологический статус в отношении изучаемой инфекции. Это помогает правильно планировать и проводить профилактические прививки, как это делалось при массовой ликвидации полиомиелита, снижении заболеваемости корью, глобальном искоренении оспы.

Глава 11. ХИМИОТЕРАПИЯ И ИММУНОПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ХИМИОТЕРАПИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Существенные различия в структуре и биосинтетических процессах у прокариотов (бактерий) и эукариотов (в частности, у человека и высших животных) обуславливают широкие возможности поиска эффективных и безвредных для организма химиотерапевтических веществ, тем более что существование многих из них подсказала сама природа в виде антибиотиков. Так, например, пенициллины нарушают синтез клеточной стенки бактерий — образования, отсутствующего в клетках животных, и поэтому для больного значительные дозы этих антибиотиков относительно безвредны. Тетрациклины нарушают нормальную работу прокариотических рибосом (правильность считывания генетического кода) и мало влияют на эукариотические рибосомальные системы и т. д.

Иначе обстоит дело с химиотерапией вирусных инфекций, поражающих человека и животных. Репродукция вирусов теснейшим образом связана с функционированием эукариотических клеток, в которых они паразитируют, в связи с чем обычные антибиотики, действующие на прокариоты (бактерии), неактивны в отношении вирусов. Поиск антивирусных веществ, специфически блокирующих вирусную инфекцию, но не повреждающих клетки орга-

низма, по принципу «волшебной пули» основателя химиотерапии П. Эрлиха, является весьма сложной задачей. Поэтому успехи в области химиотерапии вирусных инфекций скромны, набор химиотерапевтических препаратов невелик, и каждый новый эффективный препарат появляется не скоро.

Мишень действия антивирусных препаратов. В каждой из стадий репродукции вирусов можно выделить звено, на которое можно направить действие химиопрепарата.

Существует, однако, и другой подход к химиотерапии вирусных инфекций, основанный на положении, что мишенью действия антивирусного вещества может быть зараженная вирусом клетка. Такая клетка в генетическом и функциональном отношении отличается от здоровых клеток и является мишенью действия стимулированных Т-эффекторов. Разрушение небольшой популяции зараженных клеток в начальных стадиях инфекции, до ее генерализации, не должно явиться катастрофой для организма. Выявление зараженных клеток возможно, во-первых, иммунологически с помощью антител, специфических к вирусиндуцированным антигенам. Во-вторых, селективная гибель зараженных клеток возможна в результате повышения проницаемости плазматической мембраны зараженной клетки для ряда соединений, таких как некоторые аномальные нуклеозиды, бактериальные токсины и др.

Третья возможность заключается в использовании потенциальных токсинов — претоксинов, которые могут активироваться и превращаться в токсины только в зараженных клетках благодаря действию вирусспецифических ферментов. Такие вирусспецифические ферменты, как протеазы, протеинкиназы, нуклеотидкиназы могут активировать различные группы соединений, используемых в виде претоксинов, которые в результате внутриклеточной активации вызовут гибель зараженной клетки.

Таким образом, мишенью действия антивирусных веществ могут быть: 1) вирусспецифические процессы в зараженной клетке; 2) зараженная клетка.

Поиск и отбор антивирусных препаратов. Создание новых антивирусных препаратов ведется по двум направлениям. Первым из них является поточный метод изучения антивирусной активности большого количества синтетических и природных соединений (скрининг). Скрининг имеет несколько этапов. На первом этапе выявляется степень ингибирования репродукции вирусов, на втором — токсическое действие отобранных препаратов на нормальные

клетки, на третьем определяется минимальная активная концентрация препарата, не оказывающая токсического действия на клетки. Таким путем определяется химиотерапевтический индекс — отношение минимальной эффективной дозы к максимальной переносимой. На последнем этапе проводится дальнейшее изучение отобранных препаратов.

Результаты многолетних трудоемких поисков анти-вирусных веществ путем эмпирического отбора оказались весьма скромными и увенчались открытием единичных химиопрепаратов, обладающих узким спектром действия. Так, например, амантадин и ремантадин эффективны лишь при гриппе, вызванном вирусом типа А, но не В, метисазон действует лишь на инфекцию, вызванную вирусами оспы, и т. д. Очевидно, что, идя по этому пути, можно и в будущем ожидать получения ограниченного числа препаратов с узким спектром действия.

Между тем природа на примере интерферона показывает нам и другие пути, которые могли бы привести к созданию антивирусных препаратов с широким спектром действия и высокой эффективностью.

Благодаря достижениям фундаментальных исследований в области вирусологии и выяснению молекулярных механизмов репродукции вирусов появилась возможность для развития новых подходов к химиотерапии вирусных инфекций, которые основаны на направленном получении или синтезе химиопрепаратов, действующих на заведомо известные уязвимые стадии репродукции вирусов либо на функции клеток, необходимые на каком-то общем для различных групп вирусов этапе их репродукции.

Антивирусные препараты

В настоящее время применяются следующие группы антивирусных химиопрепаратов: 1) аномальные нуклеозиды; 2) производные адамантанамина гидрохлорида; 3) тиосемикарбазоны. Перспективными являются новые направления химиотерапии вирусных инфекций, из которых рассматриваются два: повреждение вирусных генов и ингибция протеолитической активности вирусов.

Аномальные нуклеозиды. Транскрипция генома ДНК-содержащих вирусов (кроме вирусов оспы) и его репликация осуществляются преимущественно клеточными ДНК- и РНК-полимеразами. Тем не менее, каждый ДНК-содержащий вирус индуцирует в зараженной клетке

синтез собственных ферментов, обеспечивающих транскрипцию и репликацию вирусспецифической ДНК. Индуцированные вирусом ферменты в ряде случаев отличаются от клеточных ферментов по своим свойствам, например по стабильности к температуре, pH, концентрации ионов, по субстрат-специфичности. Поэтому в химиотерапии инфекций, вызываемых ДНК-содержащими вирусами, нашли применение аномальные предшественники нуклеинового обмена — производные нуклеотидов и нуклеозидов. Наиболее активными соединениями оказались аномальные нуклеозиды, которые находят все более широкое применение в антивирусной терапии. Получение их основано на химической модификации природных веществ с целью создания биологически активных соединений направленного действия.

Антивирусный эффект аномальных нуклеозидов в большинстве случаев обусловлен внутриклеточным фосфорилированием неактивного нуклеозида до активного нуклеотида. Как аналоги нуклеотидов, они конкурируют с природными нуклеотидами за ферменты, участвующие в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Аномальные нуклеозиды ингибируют функции вирусных полимераз, а при включении во вновь синтезируемые нуклеиновые кислоты делают их нефункциональными. Естественно, что это происходит не только с вирусной, но и с клеточными ДНК и РНК. Поэтому основной проблемой, ограничивающей применение аномальных нуклеозидов, является отсутствие селективности их действия и нарушение клеточного метаболизма.

Хотя аномальные нуклеозиды обладают широким спектром действия, они мало эффективны при вирусных инфекциях. Исключением являются заболевания, вызываемые вирусами герпеса и оспы, синтез ДНК которых чувствителен к дозам аномальных нуклеозидов, которые удовлетворительно переносятся организмом. Поэтому аномальные нуклеозиды нашли широкое применение в клинике при лечении кожного герпеса, герпеса глаз, половых органов, а также ветряной оспы и опоясывающего герпеса, цитомегалии и инфекций, вызываемых вирусами оспы.

Антивирусное действие аномальных нуклеозидов может значительно усиливаться при их комбинированном применении в том случае, если они имеют разные точки приложения.

Пиримидиновые аналоги. Идоксуридин (5-йод-2-дезоксидеоксиуридин). Препарат содержит

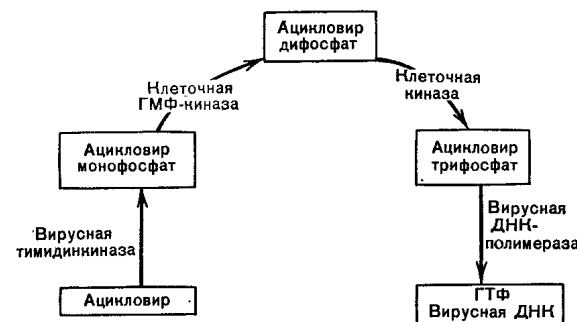
атом йода у 5-го атома пиримидинового кольца и является аналогом тимидина — нуклеозида, вовлеченного в синтез ДНК. Его антивирусный эффект обусловлен включением нуклеотида, образующегося при внутриклеточном фосфорилировании нуклеозида, во вновь синтезированную вирусную ДНК. Препарат активен против ДНК-содержащих вирусов — вирусов простого герпеса, цитомегалии, осповакцины, псевдобешенства. Селективность препарата по отношению к вирусной ДНК обусловлена большей скоростью синтеза ее по сравнению с клеточной в процессе репродукции вируса. Однако препарат имеет низкий терапевтический индекс и в основном используется для местного применения. Широкое применение препарат получил при герпетическом кератите, при котором он назначается в виде 0,1% раствора и 0,5% мази.

Пуриновые аналоги. Аденин-арабинозид (ара-А, или видарабид). Нуклеозид выделен из карибской губки в 60-х годах и применен вначале как противоопухолевый препарат. Позже была выявлена его антивирусная активность против вирусов герпеса и оспы. Получение нуклеозида ферментативным путем значительно снизило его стоимость. Ара-А является аналогом дезоксирибонуклеозида аденина. Терапевтическая эффективность его такая же, как у идоксуридина, но препарат обладает меньшей токсичностью. Применяется для лечения герпетических кератитов, увеитов, ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Его способность к проникновению через гематоэнцефалический барьер позволил применять препарат при герпетических энцефалитах. Для местного применения используется 3% мазь, для внутривенного введения — раствор, содержащий не более 0,7 мг/мл. В связи с относительно высокой токсичностью оптимальной дозой является 10 мг/кг в день, вводимая в течение 12-часового периода.

Другими пуриновыми арабинозидами, применяемыми для лечения герпетических инфекций, является 5'-монофосфат аденин-арабинозида (ара-АМФ) и 5'-монофосфат гипоксантин-арабинозида (ара-НхМР).

Ацикловир (ациклогуанозин). Этот аномальный нуклеозид, 9-(2-гидроксиэтоксиметил)-гуанин, является представителем нового класса соединений, в которых сахар в аномальном нуклеозиде заменен алифатической цепью. Ацикловир обладает селективной активностью против вируса простого герпеса, но не обладает антивирусным действием в отношении вируса оспы.

Схема 3. Внутриклеточное превращение ацикловира.



Препарат имеет меньшую токсичность по сравнению с другими аномальными нуклеозидами и подавляет рост клеток в концентрации в 3000 раз большей, чем антивирусная концентрация. Препарат активен при герпетическом кератите и энцефалите, кожном и половом герпесах, менее активен при инфекциях, вызванных вирусами ветряной оспы, Эпштейна — Барра, цитомегалии. Его антивирусная активность обусловлена внутриклеточным фосфорилированием до 5'-монофосфата вирусспецифической тимидинкиназой в зараженных вирусом герпеса клетках, а затем в 5'-трифосфат, который специфически ингибирует вирусную ДНК-полимеразу (схема 3). Фосфорилирование препарата в незараженных клетках происходит лишь в незначительной степени и этим объясняется его селективное действие на них. Благодаря низкой токсичности и высокоизбирательному действию на синтез вирусспецифической ДНК, ацикловир является перспективным антивирусным препаратом. Он применяется местно в виде 5% мази, внутривенно в дозе 5 мг/кг в день.

Рибавирин (виразол). В 60-х годах из стрептомицетов были выделены антибиотики шоудомидин и пирозомицин, представляющие собой нуклеозиды со значительной антивирусной активностью. Широкий спектр их действия подсказал синтез структурных аналогов, из которых наиболее активным антивирусным препаратом оказался рибавирин (виразол), представляющий собой 1-β-D-рибофуранозил-1, 2, 4-триазол-3-карбоксамид. Его антивирусный эффект основан на включении препарата в вирусспецифические РНК и ДНК и действии на вирусные РНК- и ДНК-полимеразы. Рибавирин имеет широкий спектр действия, обладая эффективностью против ДНК-

и РНК-содержащих вирусов — вирусов гриппа, парагриппа, кори, Коксаки, полиомиелита, риновируса, Синдбис, везикулярного стоматита, герпеса, осповакцины и др. Препарат применяется перорально в дозах 400—600 мг в день. Перспективным является аэрозольный способ введения его при респираторных инфекциях.

Противоопухолевые препараты. В отношении ретровирусов поиск химиотерапевтических препаратов был направлен на выявление специфических ингибиторов обратной транскриптазы (ревертазы). Имеется ряд таких соединений, которые в зависимости от принципа их действия могут быть разделены на несколько групп. Наибольший интерес представляют препараты, являющиеся аналогами матриц для вирусных обратных транскриптаз. Принцип их химиотерапевтического действия основан на нарушении функционирования обратных транскриптаз при химической модификации матрицы. Одним из активных соединений является аналог полицитидиловой кислоты — MRC — содержащий 5-меркаптозамещенные основания цитозина. Препарат применяется при лечении лейкозов у детей. Действие ингибиторов обратных транскриптаз направлено на блокирование интеграции генома ретровирусов с клеточной ДНК. После того, как интеграция произошла, и при эндогенных ретровирусах эти препараты неэффективны.

Производные адамантанамина гидрохлорида (амантадин и ремантадин). Эти вещества являются синтетическими соединениями, представляющими собой первичные амины с определенной структурой (конформация «кресло»). Оба препарата ингибируют репродукцию ряда вирусов — гриппа, Сендай, ньюкаслской болезни, кори, краснухи, везикулярного стоматита, альфа-вирусов и других липид-содержащих вирусов. Кроме того, амантадин применяется как фармакологическое средство для лечения болезни Паркинсона. Наиболее активны препараты в отношении вируса гриппа типа А.

Действие препаратов происходит на ранней стадии репродукции вирусов, мишенью их действия является поздняя стадия раздевания вирусов. Чувствительность к ремантадину и амантадину разных штаммов вируса гриппа типа А колеблется в широких пределах и обусловлена геном, кодирующим М-белок.

В настоящее время противогриппозные препараты ряда адамантана являются наиболее эффективными средствами химиотерапии и химиопрофилактики гриппа. В на-

шей стране синтез ремантадина осуществлен в Институте органического синтеза АН Латвийской ССР. Препарат прошел широкие клинические испытания и используется для лечения и профилактики гриппа. Лечение успешно при использовании препарата на ранних стадиях инфекции. При пероральном применении препараты достигают максимального уровня в крови через 4 ч, около 90% их выводится в неизмененном виде с мочой. Рекомендуются доза 150—300 мг в сутки нетоксична для человека. Лишь при дозах, в 12 раз превышающих этот уровень, препараты проявляют эмбриотоксическое и тератогенное действие. Возможные осложнения при длительном применении встречаются в исключительно редких случаях и связаны с проникновением препарата в ЦНС, что сопровождается явлениями депрессии, головокружением, беспокойством.

Применение амантадина и ремантадина — синтетических нетоксичных противогриппозных препаратов высокоизбирательного действия является выдающимся достижением химиотерапии и химиопрофилактики. Однако, не исключено, что использование этих препаратов в будущем может быть ограничено в связи с появлением устойчивых штаммов вируса гриппа.

Тиосемикарбазоны. Метисазон (Marboran) — синтетический антивирусный препарат, активный против вирусов оспы. Антивирусная активность обусловлена бензольным кольцом и боковой цепью, содержащей серу. Механизм действия препарата заключается в подавлении трансляции поздних вирусных иРНК и сборки вирусной частицы.

Антивирусная активность препарата известна с 1950 г., но впервые широкое испытание его профилактического действия было осуществлено во время вспышки натуральной оспы в Мадрасе в 1963 г., где метисазон показал высокую эффективность. Препарат применяется для профилактики и лечения оспы и осложнений при вакцинации.

Метисазон плохо растворим и применяется перорально в виде суспензии в дозе 200 мг/кг и затем по 500 мг/кг массы тела дробными дозами в течение 48 ч. Максимальный уровень в крови достигается через 6 ч после введения. Осложнением при применении препарата является тошнота и рвота, которые появляются через 4—6 ч после введения.

Перспективен в качестве противооспенного средства тиосемикарбазон-5-циантиофенальдегид.

Приобретение устойчивости к химиопрепаратам. Обстоятельством, осложняющим применение химиопрепаратов, является появление вариантов вирусов, устойчивых к ингибиторам: вирусов оспы к метисазону; вирусов гриппа к амантадину и ремантадину и т. д. Снижение вероятности появления устойчивых мутантов может создать комбинированное применение антивирусных препаратов с разным механизмом действия на репродукцию вируса, которое усиливает антивирусное действие каждого из них.

НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ХИМИОТЕРАПИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Повреждение вирусных генов. Одно из новых направлений химиотерапии можно сформулировать как «повреждение вирусных генов». С этой целью применяли нуклеазы. В дальнейшем это течение трансформировалось в более рациональную идею, заключающуюся в том, чтобы повреждать ген с помощью соединений, связанных с комплексными олигонуклеотидами.

Ингибирование протеолитической активации. В настоящее время накопились данные о том, что для возникновения инфекционного процесса необходима протеолитическая активация вируса, т. е. нарезание одного или нескольких его белков. Сущность этого феномена заключается в том, что многие вирусные белки приобретают функциональную активность лишь после протеолитического нарезания. У пикорна-, тога-, ретро- и других вирусов этот процесс лежит в основе формирования всех структурных вирусных белков, которые образуются в результате нарезания белка-предшественника. У ортомиксо-, парамиксо-, рео-, бунья-, аренавирусов и др. протеолитическому нарезанию подвергаются в первую очередь гликопротеиды. Нарезание проходит по типу точечного (ограниченного) протеолиза путем разрезания белка на два фрагмента и осуществляется либо только клеточными, либо клеточными и вирусспецифическими протеазами. Для правильного нарезания белка, обеспечивающего его активацию, необходимы протеазы определенной специфичности. Универсальность феномена протеолитической активации и уязвимость его для действия ингибиторов протеолитической активации позволяет рассматривать его как удобную мишень для химиотерапии ряда вирусных инфекций.

Ингибиторами протеаз являются официальные препараты гордокс (ВНР), контрикал (ГДР) и ϵ -аминокапро-

новая кислота, которые применяются при панкреатитах и геморрагических состояниях. Клинические испытания отечественного препарата ϵ -аминокапроновой кислоты при гриппе у детей показали высокую антивирусную активность препарата и его лечебную эффективность. Наиболее эффективным способом применения является ингаляционный, лечебный эффект препарата наиболее значителен на ранних этапах инфекции.

Помимо гриппа, антивирусное действие ингибиторов протеолиза проявляется при инфекциях, вызванных пикорнавирусами, парагриппозными вирусами, альфа-вирусами, аренавирусами, ротавирусами.

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Вирусные вакцины

Вакцинация имеет большое значение в профилактике вирусных инфекций. В результате вакцинации в организме вырабатывается иммунитет, обусловленный гуморальными и клеточными факторами, и организм становится невосприимчивым к инфекции. Эффективные вакцины созданы против многих вирусных инфекций. В результате вакцинации во всем мире ликвидирована оспа, побежден полиомиелит, ведется успешное наступление на корь, желтую лихорадку и другие инфекции.

В настоящее время известны следующие виды вирусных вакцин. 1. Вакцины из живых аттенуированных вирусов. 2. Корпускулярные (вирионные) убитые вакцины. 3. Субъединичные вакцины. 4. Генноинженерные вакцины. 5. Синтетические вакцины.

Последние два типа вакцин находятся в стадии разработки и практически еще не применяются.

Прививки против оспы, полиомиелита и кори являются обязательными. В связи с ликвидацией оспы во всем мире вакцинация против оспы в ряде стран отменена и проводится лишь ограниченная вакцинация особо уязвимым контингентам населения. Вакцинация против желтой лихорадки, бешенства, клещевого и японского энцефалитов проводится лицам с риском заражения.

Живые вакцины готовятся из аттенуированных вирусов, полученных разными приемами — отбором мелких колоний, ts-мутантов, адаптированных в холоду мутантов и т. п. Вакцинные штаммы должны быть генетически стабильными и не давать реверсий к дикому типу.

Живые вакцины отличаются от убитых тем, что они имитируют образование естественного иммунитета, так как при введении в организм вакцинальные штаммы размножаются, вызывая развитие вакцинальной реакции, сходной с естественным процессом, но отличающейся отсутствием или слабой выраженностью патологических явлений. Поэтому живые вакцины вызывают развитие совершенного иммунитета, сопровождающегося выработкой как гуморальных (IgG), так и секреторных (IgA) антител и появлением стимулированных Т-эффекторов и клеток памяти. Однако живые вакцины имеют ряд недостатков (табл. 15).

Таблица 15. Преимущества и недостатки живых и убитых вакцин

Преимущества	Недостатки
<i>Живые вакцины</i>	
Естественный путь введения	Возможность реверсии к патогенности и необходимость постоянного контроля
Развитие иммунитета, подобного иммунитету при естественной инфекции	Контаминация другими вирусами и микоплазмами, персистирующими в клетках субстрата (куриные эмбрионы, экспериментальные животные, культуры клеток)
Длительное образование антител, однократность иммунизации	Ограниченный срок годности
Местная резистентность у входных ворот инфекции (образование антител IgA)	Аллергизация организма
<i>Убитые вакцины</i>	
Стандартность	Необходимость контроля полной инаktivации вируса
	Кратковременность иммунитета, необходимость повторной иммунизации
	Парентеральный путь введения и отсутствие местной резистентности во входных воротах инфекции
	Аллергизация организма

Естественной живой вакциной был вирус коровьей оспы, который Дженнер в 1796 г. привил ребенку. От англ. *vacca* — корова — получили свое название вакцины. Примером эффективности вакцинопрофилактики является выдающийся успех в борьбе с оспой, завершившейся ее ликвидацией во всем мире. Большие успехи достигнуты в борьбе с полиомиелитом. В нашей стране была получена живая полиомиелитная вакцина из штаммов А. Сейбина, установлена ее безопасность и высокая эф-

фективность, после чего началось ее массовое применение в СССР, а затем и в большинстве стран мира. В результате плановой массовой вакцинации ликвидированы эпидемии полиомиелита и имеют место лишь спорадические случаи заболеваний.

Имеются успехи в борьбе с корью. В нашей стране разработана живая коревая вакцина и организована массовая вакцинация против кори. В результате в 8—10 раз снижена заболеваемость ею. При правильной организации прививок можно ожидать полную ликвидацию кори. Получена живая вакцина против паротита, которая применяется в ассоциации с коревой вакциной. Разработано несколько вариантов живой гриппозной вакцины. На очереди разработка живых вакцин против гепатита А и краснухи.

Корпускулярные убитые вакцины готовят из очищенного концентрированного вируса, инаktivированного формальдегидом, аминотетилальными соединениями (соединения формальдегида с аминокислотами) или ультрафиолетовым облучением (последний метод не всегда бывает надежным). Достоинством этих вакцин является точная дозировка антигена и, следовательно, более или менее стандартный иммунный ответ. Недостатком убитых вакцин является необходимость многократного введения и инъекционный путь введения, в результате чего не происходит образования секреторных иммуноглобулинов класса А.

В нашей стране разработаны и применяются ряд инаktivированных вакцин, например вакцина против гриппа и полиомиелита. Получена убитая вакцина против герпеса, которая применяется при рецидивирующих формах кожных, глазных, стоматологических вирусных заболеваний и при половом герпесе.

Первая вакцина против клещевого энцефалита была разработана советскими учеными в 1939 г. В последующие годы препарат совершенствовали в целях снижения его реактогенности и повышения эффективности. В настоящее время получены ареактогенные культуральные вакцины. Применяются вакцины против бешенства, полученные из мозга лабораторных животных и в культуре клеток. Получены вакцины против лошадиных западного и восточного энцефаломиелитов, японского энцефалита.

В стадии внедрения находится вакцина против гепатита В, полученная из HBs-антигена. Количество убитых вакцин в ближайшие годы будет значительно увеличено.

Поствакцинальные осложнения. Вирусные вакцины и другие профилактические вирусные препараты контролирует Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича МЗ СССР, где проверяют безвредность препаратов для человека, иммуногенность, стерильность и другие их свойства. Для каждого препарата составляется инструкция по его применению. Тем не менее, бывают случаи поствакцинальных осложнений, которые можно разделить на две группы. К первой группе относятся осложнения, связанные с нарушением технических правил вакцинации, введением вакцин аллергизированным или ослабленным лицам. Ко второй группе относятся осложнения, вызванные использованием несовершенных препаратов. Высокая реактогенность вакцин может быть обусловлена рядом причин, в том числе биологическими особенностями производственного штамма вируса, недостаточной инактивацией вируса, контаминацией живой вакцины диким штаммом и т. д. Например, тяжелые осложнения могут появиться при использовании вакцин против бешенства и клещевого энцефалита, полученных из мозга лабораторных животных. Поэтому эти вакцины теперь получают на культурах клеток, что значительно снижает их реактогенность.

Вакцины контролируют на стерильность, специфическую безвредность (убитые и субъединичные вакцины не должны содержать живой вирус), реактогенность и иммуногенность. Последняя изучается сначала на животных, а затем на волонтерах. При этом определяют сероконверсию — нарастание титра антител к данному вирусу после иммунизации, а если прививки многократные, то через две недели после каждой прививки. Окончательная оценка эпидемиологической эффективности проводится в шифрованных опытах, в которых равным количествам добровольцев вводят исследуемую вакцину и плацебо — индифферентная жидкость, имитирующая вакцину.

Субъединичные вакцины. В корпускулярных вакцинах, приготовляемых из сложно устроенных вирионов, лишь поверхностные протективные антигены, составляющие обычно около 10% вирусных белков, вызывают развитие вирусспецифического иммунитета. Остальные белки и липиды лишь усиливают реактогенность и вызывают развитие аллергических реакций. Поэтому вполне закономерным является получение субъединичных вакцин, содержащих протективные антигены. Как про-

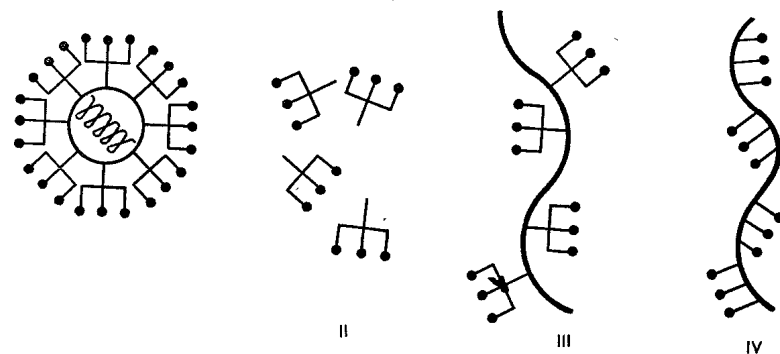


Рис. 35. Принцип конструирования субъединичных и синтетических вакцин.

I — вирион; II — субъединичная вакцина без носителя; III — субъединичная вакцина с носителем; IV — субъединичная вакцина из антигенных детерминант, ассоциированных с носителем и иммуностимулятором.

жуточный этап применяются расщепленные (сплит) вакцины, для приготовления которых вирус обрабатывают эфиром или другими жирорастворителями, удаляя липиды. Такие вакцины менее реактогенны, нежели корпускулярные, однако в них сохранены балластные вирусные белки, не играющие роли в создании протективного иммунитета.

Субъединичные вакцины лишены этих недостатков. Они готовятся следующим образом. Очищенные препараты вируса разрушают детергентами — химическими веществами, растворяющими липиды, затем отделяют поверхностные протективные антигены от нуклеокапсидов либо путем центрифугирования, либо путем хроматографии на колонках. Очищенные препараты стерилизуют и концентрируют, удаляя детергент с помощью диализа. Полученные таким путем субъединичные вакцины обладают минимальной реактогенностью, однако иммуногенные свойства их обычно слабее, чем у корпускулярных вакцин. Субъединичные вакцины приготовлены из вирионов гриппа, на очереди — субъединичные вакцины против вирусов герпеса, бешенства и других сложно устроенных вирусов.

Синтетические вакцины создают путем синтеза антигенных детерминант протективных вирусных белков. Однако чистый антиген, выделенный из состава вируса или искусственно созданный, не всегда обладает достаточной иммуногенностью, и иммунитет в ряде случаев не возникает. Антигены, вызывающие слабый иммунный ответ, должны быть конъюгированы с носителями и иммуностимуляторами, усиливающими иммунный ответ (рис. 35).

Вакцины будущего — синтетические вакцины — представляются в виде чистых протективных антигенов, полученных путем клонирования синтезированных участков генов в клетках высших эукариотов.

Генноинженерные вакцины. Экспрессия генов инсулина, соматотропного гормона (гормона роста), интерферона человека в прокариотических системах показала широкие возможности генетической инженерии и поставила на очередь задачу получения вакцин против инфекционных болезней и, в первую очередь, против вирусных инфекций.

Однако экспрессия многих вирусных генов в прокариотических системах отсутствует или незначительна в силу того, что указанные вирусы в ходе эволюции приспособились к паразитированию в организме человека и высших животных и используют для репродукции биосинтетические системы клетки хозяев, имеющие существенные отличия от биосинтетических систем прокариотов. Лишь в тех случаях, когда белки (антигены) относительно просты, возможно использование прокариотических систем. Наряду с прокариотическими системами целесообразно использование простых эукариотических систем, какими являются дрожжи. Однако и дрожжевые клетки не могут обеспечить синтез полноценных антигенов ряда вирусов человека и животных и для экспрессии их генов необходимы клетки высших эукариотов, что значительно усложнит и удорожит производство. Вакцины против полиомиелита и гриппа вряд ли будут широко производиться на перевиваемых клетках обезьян и человека методами генной инженерии, так как проще и дешевле производить эти вакцины, заражая клетки вирусом. Для вируса гепатита А этот путь наиболее перспективен в связи с трудностью накопления его в лабораторных условиях. Для вируса гепатита В генноинженерные вакцины также решают проблему контроля вакцины, требующего использования дорогостоящих пород обезьян. Получены рекомбинантные плазмиды, клонированные в кишечной палочке, однако стабильной экспрессии HBs-антигена в прокариотах получить не удалось. Она достигнута в клетках низших эукариотов — дрожжах. Достоинством дрожжевой вакцины является ее относительно высокая иммуногенность, полная безвредность, отсутствие необходимости контроля на обезьянах, дешевизна. Экспрессия HBs-антигена осуществлена в культуре клеток млекопитающих (грызуны), и такая вакцина может конкурировать с дрожжевой.

Перспективным является также использование в качестве вектора геномов крупных ДНК-содержащих вирусов и в первую очередь вируса осповакцины.

Антиидиотипические антитела — это антитела к антигенам против вирусных антигенов, которые по своей структуре сходны с антигенами и способны индуцировать гуморальный и клеточный иммунный ответ. Предполагается в будущем использование их в качестве эффективных и безвредных вакцин.

Указанные новые направления особенно перспективны для осуществления специфической профилактики инфекций, вызываемых вирусами, которые не культивируются в лабораторных условиях, имеют много серотипов или антигенно нестабильны и вызывают лишь кратковременный иммунитет.

Глава 12. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Лабораторная диагностика вирусных инфекций складывается из 3 методических направлений.

1. Обнаружение возбудителя или его компонентов непосредственно в клиническом материале, взятом от больного (быстрая диагностика).

2. Выделение вируса из клинического материала и его идентификации.

3. Серодиагностика вирусных инфекций.

Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций основаны на использовании биологических свойств вирусов. Так, в РГА гемагглютинины вирусов связываются с рецепторами чувствительных эритроцитов, вызывая их агглютинацию (склеивание); РГ_{адс} основана на прикреплении эритроцитов к участкам поверхности инфицированных клеток, где локализованы гемагглютинины. Ряд методов связан с ЦПД вируса на клеточную культуру. Однако большинство тестов диагностической вирусологии — это иммунологические реакции, основанные на взаимодействии вирусных антигенов и гомологичных антител.

Выбор метода лабораторной диагностики определяется в основном характером заболевания и предполагаемым возбудителем и решается в каждом отдельном случае в зависимости от периода болезни и условий лаборатории. Общие принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций приведены в табл. 16.

Таблица 16. Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций

Методы					
Инфекция	Вирусы	Быстрая и ускоренная диагностика	Выделение вирусов	Идентификация вирусов	Серодиагностика
Грипп	Ортомиксовирусы	ИФ, ИФА, РИА, обнаружение антител класса IgM	1. Куриные эмбрионы 2. Клеточные культуры	1. РГА, РТГА, РН 2. РГ _{адс} , РТГ _{адс} , РГА, РТГА, ИФ, РН, РСК	РТГА, РН, РСК, РПГ, РРГ, ИФА
ОРЗ	Вирусы парагриппа	ИФ, ИФА, обнаружение антител класса IgM	Клеточные культуры	РГ _{адс} , РТГ _{адс} , РГА, РТГА, РН, ИФ	РТГА, РТГ _{адс} , ИФА
„	Респираторно-синцитиальный	ИФ, ИФА	Клеточные культуры	ИФ, РН, РСК	РН, РПГА, ИФ, ИФА, РСК
„	Аденовирусы	ЭМ, ИФ, ИФА, МГ	Клеточные культуры	РТГА, РСК, РН	РСК, РН, РТГА
„	Реовирусы	Нет	1. Клеточные культуры 2. Новорожденные мыши	1. РН, РТГА, ИФ 2. РН	РН, РТГА
Энтеровирусные инфекции	Пикорнавирусы (энтеровирусы типов 1—71)	Нет	1. Клеточные культуры 2. Новорожденные мыши	1. РН, РТГА 2. РН, РСК	РН, ИФ, РСК, РТГА (некоторые серотипы)
Гастроэнтериты	Ротавирусы, вирус Норфолка, калицивирусы, астро-вирусы, корона-вирусы, аденови-русы	ИЭМ, ИФА, РИА, МГ	Нет методов, доступных для практической ла-боратории		ИЭМ, РСК, ИФ, ИФА, РИА

Гепатит А	Энтеровирус 72	ИЭМ, ИФА, РИА, Обнаружение антител IgM	Нет методов, доступных для практической лаборатории		ИФА, РИА
Гепатит В	Вирус гепатита В	ВИЭФ, РОПГА, ИФА, РИА	То же		ИФА, РИА, РПГА
Арбовирусные инфекции	Тогавирусы, буньявирусы	ИФА, РОПГА	1. Клеточные культуры 2. Новорожденные мыши	1. РГА, РТГА, РПГА, ИФ 2. РСК, РН	РТГА, РН, РСК, РРГ, ИФ, ИФА, РИА, РПГА
Аренавирусные инфекции	Аренавирусы	РОПГА, ИФА	1. Клеточные культуры 2. Новорожденные мыши	1. РГА, ИФ, РН, РСК 2. РН	РСК, РН, ИФ, РПГА
Оспа	Вирус оспы	ЭМ, ИФ, РИА	1. Куриные эмбрионы 2. Клеточные культуры	1. Бляшки на ХАО 2. Включения, ИФ, РГ _{адс} , РТГ _{адс}	РТГА, РСК, РН, ИФА
Простой герпес, опоясывающий герпес, ветряная оспа, цитомегалия	Вирусы герпеса	ИФ, ИФА, ИЭМ, цитология, МГ	1. Куриные эмбрионы (для некоторых штаммов) 2. Клеточные культуры 3. Мыши	1. Изменения ХАО РН 2. РН, ИФ, ИФА, 3. РН	РСК, РН, РИФ, ИФА, РГА
Бешенство	Вирус бешенства	Цитология (тельца Бабеша — Негри), ИФ	Мыши	РН	РН, ИФА

Таблица 17. Методы быстрой диагностики наиболее распространенных вирусных инфекций

Вирусы	Инфекция	Материал для исследования	Срок взятия материала	Метод быстрой диагностики
Оспы	Оспа	Содержимое везикулы, отделяемое носоглотки	С первого дня до отпадения корок; первые 3 дня болезни	ЭМ, ИФ, РИА, РОПГА, ИФА
Простого герпеса	Простой герпес	Содержимое везикулы	В течение первых 1—2 дней после появления сыпи	ИФ, МГ, ИЭМ, ИФА
Ветряной оспы и опоясывающего герпеса	Ветряная оспа, опоясывающий герпес	Содержимое везикулы	В течение первых 7 дней после появления сыпи	ИФА, ИФ, ИЭМ
Цитомегалии	Цитомегаловирусная	Моча	В течение всего периода заболевания	ЭМ, микроскопия окрашенных мазков-отпечатков, МГ, ИФ, выявление IgM, ИФА
Аденовирусы	Аденовирусная	Отделяемое носоглотки, конъюнктивы, кровь, кал	Первые 7 дней болезни	ИФ, МГ, ИФА, РИА, ЭМ
Гепатита В	Гепатит В	Кровь	В течение всего периода заболевания	ВИЭФ, РОПГА, ИФА, РИА
Гепатита А	Гепатит А	Фекалии	Первые 7—10 дней болезни	ИЭМ, ИФА, РИА, IgM
Ротавирусы	Острый гастроэнтерит	Фекалии	Первые 3—5 дней болезни	ЭМ, ИЭМ, ИФА, РИА, РГТО, МГ, электрофорез РНК в ПААГ
Парагриппа, респираторно-синцитиальный	ОРЗ	Отделяемое носоглотки	Первые 3—5 дней болезни	ИФ, ИФА, IgM
Гриппа	Грипп	Отделяемое носоглотки	Первые 3—5 дней болезни	ИФ, ИФА, РИА, ЭМ
Бешенства	Бешенство	Мозг погибшего человека и животных	Как можно раньше после смерти	Микроскопия окрашенных мазков-отпечатков, ИФ, ИФА, МГ
Риновирусы	ОРЗ	Отделяемое носоглотки	Первые 3—5 дней болезни	ИФ

БЫСТРАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Быстрая диагностика позволяет обнаружить вирус или его компоненты непосредственно в пробах, взятых от больного, и дать ответ через несколько часов. Методы быстрой диагностики приведены в табл. 17. Они могут быть основаны на прямом микроскопическом исследовании мазков-отпечатков пораженной ткани с целью выявления внутриклеточных телец-включений; например, при бешенстве, герпетической инфекции, ветряной оспе и др.

Возбудитель может быть выявлен в пораженной ткани с помощью флюоресцирующих антител: в клетках эпителия слизистой оболочки верхних дыхательных путей больных респираторными инфекциями; слущенных клетках эпителия слизистой оболочки кишечника больных гастроэнтеритами; мазках-отпечатках, взятых из пораженных органов (табл. 18).

Таблица 18. Диагностика вирусных инфекций с помощью метода иммунофлюоресценции

Инфекция	Быстрая диагностика при прямом исследовании клинического материала	Культура клеток для ускоренной индикации и идентификации вируса после выделения из клинического материала
Грипп	Десквамативный эпителий слизистой оболочки носоглотки; кусочки легких и трахеи, полученные при аутопсии	Культуры клеток почек обезьян, эмбриона человека, МДСК и др.
Парагрипп	»	Культуры клеток почек обезьян, эмбриона человека Нер-2
Аденовирусная	»	HeLa, Нер-2, KB и др.
Респираторно-синцитиальная	»	Нер-2, HeLa, диплоидные клетки человека
Корь	Эпителиальные клетки в осадке мочи, отделяемое носоглотки, лейкоциты крови, биопсийные препараты мозга, секционные препараты мозговой ткани	—
Краснуха	—	Культуры клеток почек кролика, обезьян, и др.

Инфекция	Быстрая диагностика при прямом исследовании клинического материала	Культура клеток для ускоренной индикации и идентификации вируса после выделения из клинического материала
Энтеровирусная	Секционные препараты миокарда (Коксаки), эпителиальные клетки в осадке мочи	Культуры клеток почек обезьян
Паротит	—	Культуры клеток почек обезьян, амниона человека, куриные фибробласты
Бешенство	Кусочки мозга, взятые при биопсии	Мазки-отпечатки мозга и слюнных желез инфицированных мышей
Герпес	Мазки из содержимого везикул, соскоба везикул и роговицы, секционные и биопсийные препараты мозговой ткани	Диплоидные клетки человека, фибробласты, срезы ткани мозга зараженных мышей
Цитомегалия	Лейкоциты крови	Диплоидные клетки легких эмбриона человека
Ветряная оспа	Мазки из содержимого везикул	Диплоидные клетки легких эмбриона человека
Оспа натуральная	Соскобы с макул и папул, мазки из содержимого везикул	Культуры клеток эпителиального происхождения
Арбовирусные	Лейкоциты крови (при денге, колорадской лихорадке)	Культуры клеток эмбриона кур, почек, эмбриона свиньи, ВНК-21, СПЭВ, препараты слюнных желез переносчиков, гемолимфа клещей
Гепатит В	Биопсийные и секционные препараты печени	—

Возбудитель обнаруживают с помощью ЭМ клинического материала при негативном контрастировании. Этот метод требует достаточно высокой концентрации возбудителя в пораженной ткани (10^4 — 10^5 частиц в 1 мл суспензии; большие концентрации вируса бывают в фекалиях лишь при ротавирусной инфекции). Большое значение

приобретает метод ИЭМ, основанный на взаимодействии добавленных к материалу антител с вирусными частицами, что позволяет выявить возбудитель и его одновременно идентифицировать. Этот метод широко применяется для быстрой диагностики герпетических, ротавирусных инфекций, гепатита А и др.

Твердофазный иммунологический анализ. Другим способом является обнаружение антигена в клиническом материале с помощью серологических реакций на твердой основе. Твердофазный иммунологический анализ основан на прикреплении одного из компонентов реакции (антитела или антигена) к нерастворимому твердому носителю и последовательному добавлению других компонентов реакции в жидкой фазе. С помощью промывания можно легко отделить образующийся комплекс антиген — антитело от несвязывающихся компонентов. В зависимости от маркера, используемого для метки антигена или антитела, реакции твердофазного анализа могут быть двух категорий: с использованием радиоактивных маркеров (РИА) и ферментов (ИФА). Эти методы являются высокочувствительными, быстрыми, с высокой воспроизводимостью результатов, а ИФА является технически простым и доступным методом. Оба метода широко применяются для быстрой диагностики гепатита А и В, гастроэнтеритов (в первую очередь ротавирусных инфекций), респираторных инфекций. Первый этап реакции — сорбция антигена или антитела на твердый носитель, которым являются панели, шарики или пробирки из синтетических инертных материалов: полистирола, дакрила, метакрилата, поливинилхлорида. Применяется несколько вариантов метода: прямой, непрямой и конкурентный (рис. 36). В прямом варианте на твердой фазе сорбируют специфические антитела, после удаления избытка антител добавляют материал, содержащий антиген, после отмывания несвязавшегося антигена вносят иммуноглобулин, меченный пероксидазой или щелочной фосфатазой в случае ИФА или радиоактивным йодом в случае РИА. После отмывания избытка антител в случае ИФА добавляют субстрат для фермента. В непрямом варианте имеется дополнительный этап — введение меченых антивидовых антител против глобулинов иммунизированных животных. Непрямой метод более чувствителен, чем прямой, и позволяет выявлять различные вирусные антигены при использовании одной антивидовой меченой сыворотки. Конкурентный

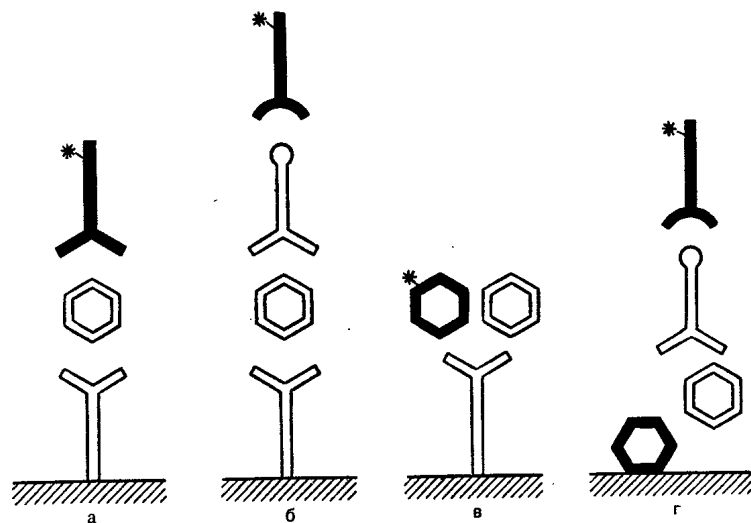


Рис. 36. Твердофазный иммуноферментный и радиоиммунный методы (схема).
 а — прямой метод (метод двойных антител); б — не прямой метод (метод тройных антител); в — конкурентный метод при сорбции антитела; г — конкурентный метод при сорбции антигена; звездочкой обозначено меченое антитело или меченый антиген.

метод основан на конкуренции известного и исследуемого антигенов за участки связывания с антителом. Метод может быть поставлен в двух вариантах — при сорбции на твердой фазе антитела или антигена. В первом варианте к антителам, сорбированным на твердой фазе, добавляют исследуемый антиген, а затем известный антиген, меченный ферментом. В том случае, если исследуемый антиген связался с антителами, связывание меченого антигена будет ограничено. В другом варианте сорбируют известный антиген, затем добавляют специфический немеченый иммуноглобулин и исследуемый антиген либо заранее проинкубированную смесь антигена и иммуноглобулина, после этого добавляют антивидовые меченые антитела и затем субстрат. Преимуществом конкурентного метода является его чрезвычайно высокая чувствительность и специфичность реакции. При этом методе используют в качестве известного антигена очищенные вирусные белки. Результаты ИФА определяют визуально или с помощью специального устройства (ридера), результаты РИА — с помощью счетчика или автордиографии, используя рентгеновскую пленку.

Молекулярная гибридизация (МГ). Методы МГ широко используются для анализа вирусных ДНК и РНК и их взаимодействий. В настоящее время эти методы стали применять для диагностики вирусных инфекций. Их использование все более расширяется в связи с тем, что они позволяют обнаружить единичные копии генов в клеточной популяции и по степени чувствительности не имеют себе равных среди других диагностических методов.

В первую очередь методы МГ применяют для выявления персистирующих вирусов и вирусов, находящихся в клиническом материале (крови, моче, смывах носоглотки, фекалиях и т. д.), которые не размножаются в культуре клеток. Эти методы относительно просты и позволяют быстро поставить диагноз, однако их недостатком является необходимость использования чистых реактивов, которые готовят специализированные лаборатории.

Реакция МГ основана на гибридизации комплементарных нитей ДНК или РНК и формировании двуничатых структур. Гибридизация может протекать между комплементарными молекулами ДНК-ДНК, ДНК-РНК и РНК-РНК. Приготовление зонда. Зондом называют ДНК или РНК, с помощью которых выявляют наличие в материале комплементарных нитей. Зонд можно приготовить из нуклеиновой кислоты, выделенной из вирионов; можно использовать иРНК, полученные при транскрипции *in vitro* (таким путем, например, получают зонд для ротавирусов). Однако наиболее дешевым зондом является клонированная рекомбинатная ДНК. Клонированные зонды получены для определения большинства патогенных для человека вирусов. Зонд метят радиоактивными предшественниками (обычно радиоактивным фосфором) в реакции, которая называется «ник трансляция». Эта реакция основана на разрывах нити ДНК эндонуклеазой и одновременного ковалентного присоединения к концам разрывов с помощью концевой нуклеотидилтрансферазы нуклеотидов, меченных радиоактивным фосфором. Недостатком этого метода является короткий период полураспада радиоактивного фосфора и необходимость в специальном оборудовании для определения радиоактивности. Поэтому перспективно использование колориметрических реакций. С этой целью в молекулу зонда при «ник трансляции» вводят биотин, который способен прочно связывать авидин или стрептовиридин, в свою очередь связанные с ферментом

(пероксидаза или щелочная фосфатаза). При добавлении субстрата к такому зонду возникает окраска, видимая невооруженным глазом.

Точечная гибридизация позволяет одновременно исследовать большое количество клинических проб. На стандартные фильтры наносят выделенную из проб ДНК или РНК; при наличии возможных дуплицированных структур их денатурируют и затем добавляют зонд. Метод используют для выявления вируса цитомегалии, вируса гепатита В, ротавирусов, энтеровирусов, парвовирусов, вирусов герпеса, гриппа и др.

Блот-гибридизация (от англ. blot — пятно) по Саузерну — метод выявления фрагментов ДНК, разделенных путем электрофореза в агарозе. Выделенную из ткани и очищенную ДНК нарезают на фрагменты рестрикционными эндонуклеазами и после электрофореза фрагменты переносят с агарозы на нитроцеллюлозные фильтры, на которые наносят меченый зонд. Этим методом определяют количество вирусспецифических последовательностей в выделенных из клеток ДНК. Метод применяют для обнаружения в опухолевой ткани геномов вируса Эпштейна — Барр, папилломавирусов и др. Аналогичный метод «северный блоттинг» можно использовать для обнаружения фрагментов РНК, однако он мало используется в диагностической вирусологии.

«Сэндвич»-гибридизация основана на использовании двух клонированных неидентичных фрагментов ДНК, один из которых иммобилизован на фильтре, а другой является зондом. Присутствующая в пробе комплементарная нить гибридизуется с обеими нитями ДНК и связывает зонд с фильтром. Метод обладает высокой чувствительностью и позволяет использовать пробы без предварительной обработки. Используется для обнаружения аденовирусов в отделяемом носоглотки, вируса цитомегалии в моче и т. д. Возможен другой вариант метода, при котором зонд гибридизуется с известной иммобилизованной на фильтре ДНК и связывает ДНК, находящуюся в пробе. Такой метод несколько проигрывает в чувствительности, но выигрывает в скорости гибридизации.

Гибридизация *in situ* применяется для выявления вирусных ДНК и РНК в индивидуальных клетках, а также персистирующих вирусов (например, в случае нейроинфекций). Используют замороженные срезы ткани, полученной при биопсии, и другие материалы. Таким обра-

зом существует несколько вариантов метода: гибридизация на фильтрах, точечная гибридизация, блот-гибридизация, «сэндвич»-гибридизация, гибридизация *in situ*, прямая гибридизация в геле и др.

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСА ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

В большинстве случаев концентрация вируса в клиническом материале недостаточна для прямого обнаружения вируса или антигена и тогда приходится прибегать к выделению вируса на чувствительных клетках и органоизмах с последующей его идентификацией.

Это трудоемкий процесс, требующий продолжительного времени, поэтому результаты, полученные при выделении вируса, являются ретроспективными. Вирусы могут быть выделены путем заражения лабораторных животных или культур клеток и идентифицированы с помощью биологических и серологических тестов. Методы выделения вирусов при различных инфекциях суммированы в табл. 19. Методы выделения вирусов из смывов носоглотки и фекалий больных людей с целью дифференциальной диагностики вирусных инфекций приведены в схемах 4 и 5.

Показания к выделению вируса могут быть следующими.

1. Определение циркулирующего среди населения типа и варианта вируса при обследовании спорадических случаев инфекции, вспышек и эпидемий (например, для идентификации «дикого» и вакцинного штамма вируса полиомиелита, сероварианта вируса гриппа и т. д.).

2. Случаи, когда диагноз важен для срочных эпидемиологических мероприятий, например, лабораторное подтверждение диагнозов оспы, гриппа, полиомиелита, арбовирусных энцефалитов является сигналом для проведения иммунизации населения или мероприятий по борьбе с переносчиками инфекций.

3. Инфекции, вызванные новыми типами вирусов, например возбудителями ранее неизвестных заболеваний или новыми серовариантами вируса гриппа.

4. Необходимость подтверждения предварительного диагноза, установленного, например, по данным электронно-микроскопического исследования.

5. Случаи, когда с помощью серологических методов не удается отличить один вирус от другого или при сход-

171 Таблица 19. Методы выделения вирусов при различных вирусных инфекциях человека

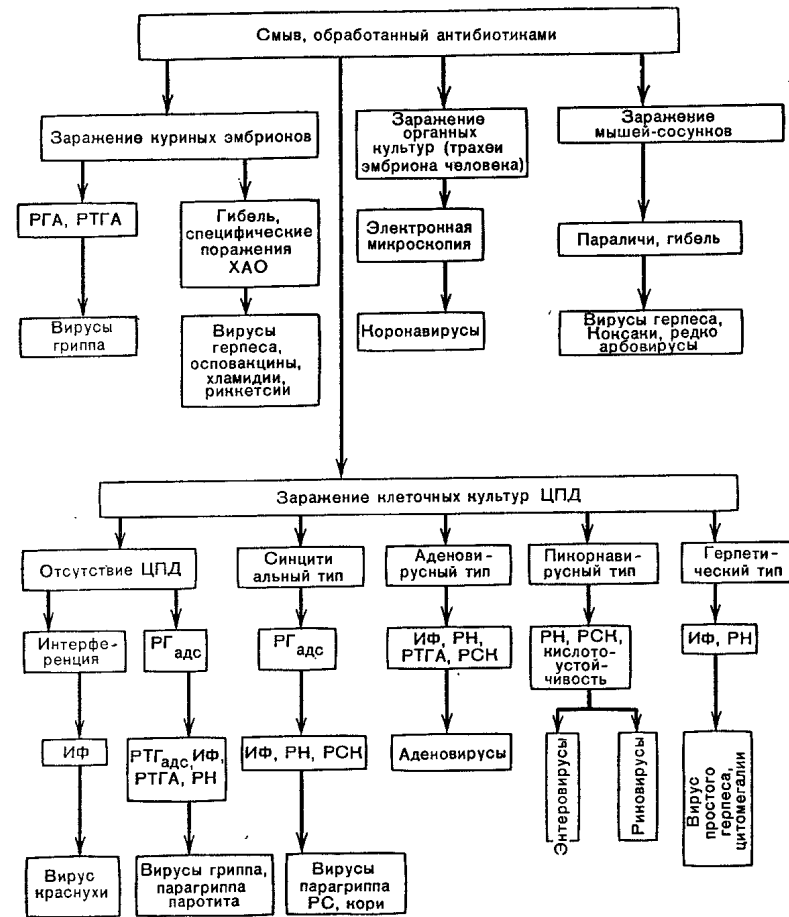
Семейства, вирусы	Инфекция	Источник выделения вируса	Предпочтительный метод выделения	Показатель размножения вируса
Оспы	Оспа	Везикулы, носоглотка, кровь	Куриные эмбрионы на ХАО КК человека, обезьян	Плотные пятна на ХАО ЦПД, цитоплазматические включения
Вирусы простого герпеса типов 1, 2	Простой герпес	Везикулы, носоглотка роговицы, мозг (ПМ)	КК человека, обезьян, кроликов	ЦПД, ядерные включения, ИФ
Вирус ветряной оспы	Ветряная оспа	Везикулы, носоглотка	НБМ КК человека	Параличи, смерть ЦПД, синцитий, ИФ, ядерные включения
Вирус цитомегалии	Гидроцефалия, другие уродства	Носоглотка, лейкоциты, моча, ЦНС и внутренние органы (ПМ)	То же	ЦПД, гигантские клетки, ядерные включения
Аденовирусы 1—37	ОРЗ, конъюнктивиты	Носоглотка, фекалии, конъюнктив	КК человека	ЦПД
Тогавирусы, альфавирусы	Западный и восточный американские лошадиные энцефаломиелиты лошадей, венозная энцефалит, лихорадка Чикунгунья	Кровь, ЦНС (ПМ)	НБМ КК	Параличи, смерть ЦПД

Флавивирусы	Клещевой и японский энцефалиты, лихорадка денге и желтая лихорадка	Кровь, ЦНС, печень, селезенка (ПМ)	НБМ	Параличи, смерть
Вирус краснухи	Краснуха	Кровь, носоглотка	КК	Гемагглютинация, интерференция
Коронавирусы	ОРЗ	Носоглотка	КК эпителия слизистой оболочки трахеи человека (органные культуры)	ЦПД
Парамиксовирусы	Паротит эпидемический	Носоглотка, слюна, лимф	КК почек обезьян	Гемадсорбция, образование синцитиев, ИФ, РТГА, РСК
Вирусы парагриппа типов 1—4	ОРЗ	Носоглотка	КК почек обезьян, эмбриона человека	То же
Вирус кори	Корь	Носоглотка, моча	КК человека, обезьян	Образование синцитиев, ИФ, РТГА
Респираторно-синцитиальный вирус	ОРЗ	Носоглотка, легкие (ПМ)	КК Нер-2, фибробласты человека	Образование синцитиев, ИФ
Рабдовирусы	Бешенство	ЦНС (ПМ)	НБМ или ВБМ	Параличи, смерть
Вирус везикулярного стоматита	Везикулярный стоматит	Везикулы, носоглотка	НБМ	» »
Вирусы гриппа типов А и В	Грипп	Носоглотка, легкие (ПМ)	Куриные эмбрионы (амнион), КК	Гемагглютинация, гемадсорбция, ИФ
Ареновирусы	Лимфоцитарный хориоменингит	Ликвор, кровь	ВБМ	Конвульсии, смерть
Вирус Ласса	Лихорадка Ласса	Кровь, внутренние органы (ПМ)	КК	ЦПД, ИФ

Семейства, вирусы	Инфекция	Источник выделения вируса	Предпочтительный метод выделения	Показатель размножения вируса
Вирус Хунин	Лихорадка аргентинская	Кровь, внутренние органы (ПМ)	НБМ	Параличи, смерть
Вирус Мачupo	Лихорадка боливийская	То же	То же	То же
Буньявирусы	Крымская геморрагическая лихорадка	Кровь, внутренние органы (ПМ)	НБМ	Параличи, смерть
Пикорнавирусы	Москитные лихорадки	Кровь	НБМ	Параличи, смерть
Вирусы полиомиелита типов 1—3	Полиомиелит	Фекалии, носоглотка, ЦНС (ПМ)	КК почек обезьян	ЦПД
Коксаки А типов 1—24	Герпангина, менингит, экзантемы	Фекалии, носоглотка, везикулы, ликвор	НБМ	Генерализованный менингит
Коксаки В типов 1—6	Менингит, плевродиния, миалгия	Фекалии, носоглотка, ликвор, ЦНС (ПМ)	КК почек обезьян, человека	ЦПД
Вирусы ЕСНО	Менингиты	Фекалии, носоглотка, ликвор	КК почек обезьян, НБМ	ЦПД Миозит, энцефалит
Риновирусы	ОРЗ	Носоглотка	КК почек обезьян, человека	ЦПД

Примечание. НБМ — новорожденные белые мыши; ВБМ — взрослые белые мыши; ПМ — посмертно; КК — культура клеток; ЦПД — цитопатическое действие; ЦНС — центральная нервная система.

Схема 4. Выделение вирусов из смывов носоглотки и их идентификация.

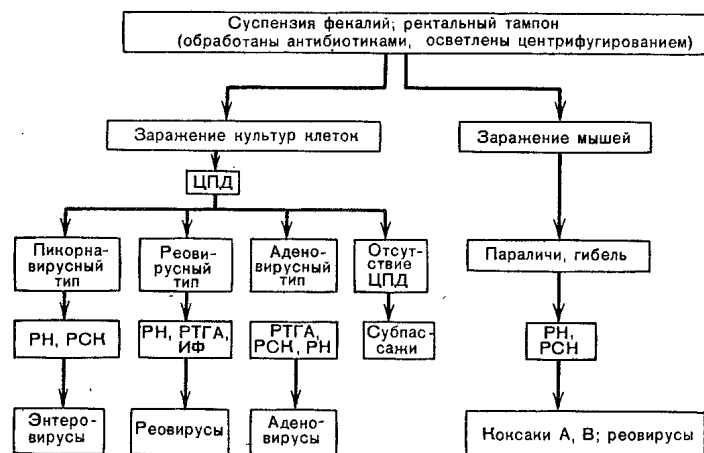


стве клинических проявлений болезни (асептический менингит).

6. Индикация вирусов в объектах окружающей среды.

Следует учесть, что выделение вируса не всегда является доказательством этиологии инфекции, поскольку возможны персистенция вирусов в организме человека или возникновение смешанной инфекции, вызванной двумя вирусами.

Схема 5. Выделение вирусов из фекалий и их идентификация.



СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Серологические методы, основанные на иммунологических реакциях между антигеном и антителом, имеют широкое распространение для диагностики вирусных заболеваний. Они просты, стандартны и позволяют исследовать большое количество проб за короткий промежуток времени. Этими методами проводят идентификацию вирусов с помощью набора известных сывороток и выявляют нарастание антител в парных сыворотках переболевших (взятых в начале заболевания и через 2—4 нед) с помощью набора вирусных диагностикумов (антигенов). Техника серологических реакций непрерывно совершенствуется, в основном за счет введения твердофазных иммунных реакций. Большое развитие в нашей стране получает метод ИФА.

Наиболее употребительными методами серодиагностики являются РСК и РТГА, ИФ, РИА и ИФА. Последние два метода имеют большую чувствительность по сравнению с другими. Они позволяют использовать не серийные двукратные разведения сывороток, как это делается при других методах, а одно разведение.

Парные сыворотки исследуют совместно, начиная с разведений 1:10. Показателем свежеперенесенной инфекции является не менее чем четырехкратное нарастание титра антител во второй сыворотке.

При нормальном иммунном ответе на вирусную инфекцию доминируют антитела классов IgG и IgM. Однако в то время как антитела класса IgG обнаруживаются через 2 нед и в течение длительного времени, антитела класса IgM появляются рано (на 3—5-й день болезни) и исчезают через несколько недель. Таким образом, обнаружение антител класса IgM является надежным методом быстрой диагностики и свидетельствует о свежеперенесенной инфекции даже при наличии одной сыворотки, взятой во время острой стадии болезни. Обычные серологические методы не позволяют дифференцировать антитела различных классов, поэтому требуются специальные методы для их идентификации. Однако в непрямой ИФ и при ИФА использование специальных анти-IgM антисывороток позволяет избирательно определять антитела класса IgM.

Глава 13. САНИТАРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Концентрация населения в больших городах, развитие промышленности и рост промышленных объектов приводят к нарастанию биологического загрязнения окружающей среды, сточных вод, открытых водоемов, почвы, а также в несколько меньшей степени подземных водоисточников и атмосферного воздуха. Тем самым создаются условия для выживаемости и циркуляции вирусов в объектах окружающей среды. Поскольку сохранение жизнеспособности вируса в воде, почве, воздухе, пищевых продуктах является одним из основных факторов, способствующих распространению инфекций в восприимчивых коллективах, возникла необходимость изучения патогенных для человека вирусов в объектах внешней среды. Этим занимается санитарная вирусология.

Предметом санитарной вирусологии является изучение поведения различных патогенных для человека вирусов в объектах окружающей среды (вода, почва, воздух, пищевые продукты и др.), разработка методов их индикации и эффективных мероприятий по санации объектов окружающей среды.

Задачей санитарно-вирусологической службы является систематическое санитарно-вирусологическое обследование сточных вод на городских очистных сооружениях, воды открытых водоемов, используемой для питьевого и хозяйственного водоснабжения, питьевой воды источников централизованного водоснабжения, почвы сельскохозяйственных

полей орошения, воздуха больничных и поликлинических учреждений, продуктов питания и т. д. Эти исследования позволяют контролировать циркуляцию патогенных для человека вирусов в окружающей среде.

Индикация вирусов в окружающей среде состоит из нескольких этапов: 1) концентрация вирусных агентов из окружающей среды; 2) транспортировка проб в лабораторию; 3) выделение вирусов в культурах клеток, на лабораторных животных или куриных эмбрионах; 4) идентификация выделенных агентов. Транспортировка, выделение вирусов и их идентификация осуществляются с помощью общепринятых вирусологических методов, и специфической для санитарной вирусологии проблемой является лишь концентрация вирусов из окружающей среды, потребовавшая разработки специальных методических приемов.

САНИТАРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ ВОДЫ

Основной причиной наличия в воде патогенных для человека вирусов является загрязнение ее фекалиями человека.

В фекалиях человека обнаруживаются более 100 различных вирусов, некоторые из них, принадлежащие к семейству пикорнавирусов, аденовирусов и реовирусов, обладают термостабильностью и долгое время могут сохранять жизнеспособность, многие из них устойчивы к обычным дезинфектантам, включая хлорирование, и могут быть обнаружены в сточных водах на далеком расстоянии от источника контаминации.

В воде при контаминации ее человеческими фекалиями обнаруживаются те же вирусы, что в фекалиях (табл. 20).

Наибольшее выделение кишечных вирусов происходит летом и осенью в связи с увеличением количества кишечных заболеваний. Однако вспышки гастроэнтеритов, вызванных ротавирусами, встречаются обычно зимой и ранней весной. Массивное выделение энтеровирусов из кишечника больных людей и здоровых вирусоносителей вызывает значительное обсеменение вирусами сточных вод, а устойчивость их к неблагоприятным факторам внешней среды обуславливает длительное выживание в воде. Таким образом, сточные воды являются основным резервуаром энтеровирусов во внешней среде.

Присутствие энтеровирусов в воде централизованного водопровода представляет эпидемическую опасность в от-

Таблица 20. Патогенные для человека вирусы, обнаруживаемые в воде

Семейства	Роды	Представители	Число типов	Вызываемые заболевания
Пикорнавирусы	Энтеровирусы	Полиовирусы	3	Лихорадка, параличи, менингит
		ЕСНО	34	Респираторные заболевания, диарея, менингит
		Коксаки А	24	Герпангина, респираторные заболевания, менингит
		Коксаки В	6	Респираторные заболевания, менингит, миокардит, плевралгия (плевродиния)
		Энтеровирусы типа 68—71	4	Менингит, энцефалит, респираторные заболевания, геморрагический энтеровирусный конъюнктивит
Реовирусы	Ротавирусы	Вирус гепатита А	2	Инфекционный гепатит (гепатит А)
			3	Острый гастроэнтерит, преимущественно у детей
Аденовирусы	Реовирусы			Респираторные заболевания
		Аденовирусы млекопитающих	34	Респираторные заболевания, конъюнктивит

ношении полиомиелита и других энтеровирусных инфекций, гастроэнтеритов, гепатита А и может привести как к спорадическим случаям, так и вспышке этих инфекций.

Длительность сохранения вирусов в воде. Вирусы обнаруживаются в концентрации 1 млн. на 1 г. Время переживания некоторых вирусов в воде достигает нескольких месяцев.

Длительность сохранения в воде вирусов значительно повышается при понижении температуры. Так, вирус полиомиелита выживает в речной и водопроводной воде при температуре 4° С 90 дней, а при температуре 37 и 20° С соответственно 10 и около 40 дней. Чем выше исходная концентрация вируса, тем более длительное время он обнаруживается в воде. Сроки выживания колеблются для разных вирусов. Наиболее длительно в воде выживают вирусы Коксаки группы А, менее длительно — вирусы полиомиелита, наиболее короткие сроки выжива-

емости — для вирусов Коксаки группы В (30—50 дней). Вирусы ЕСНО 7 более длительно выживают в воде, чем вирусы полиомиелита. Аденовирусы более устойчивы, чем вирусы полиомиелита и ЕСНО. Аденовирусы некоторых серотипов сохраняли свою активность в воде при температуре 4° С в течение 2 лет и более. К неблагоприятным факторам внешней среды наиболее устойчив из группы энтеровирусов вирус гепатита А. Вирус способен к длительному выживанию в воде в течение нескольких недель и даже месяцев. Известны водные вспышки гепатита А, например, распространение инфекции через сырую колодезную воду. Выживаемость вирусов более продолжительна в загрязненных водах. В морской воде сроки выживаемости более короткие в связи с повышенным содержанием солей и наличием йода, обладающего вирулицидным действием. Возможное вирулицидное действие оказывают находящиеся в морской воде микроорганизмы и растворенные химические вещества.

Из всех микроорганизмов в экспериментальных условиях наиболее длительной выживаемостью в воде различной степени загрязненности обладает фаг кишечной палочки (более 10 мес). Он является возможным кандидатом в санитарно-показательные микроорганизмы.

Методы концентрации кишечных вирусов, находящихся в воде. Исследованию подлежит вода централизованного водоснабжения, колодцев, открытых водоемов, плавательных бассейнов, сточные жидкости. Исследование сточных вод проводят с целью изучения циркуляции вирусов среди населения данной местности, степени инфицирования воды, эффективности работы очистных сооружений и т. п. Исследование воды поверхностных и подземных водоемов проводят при выборе источника для централизованного водоснабжения, для оценки санитарного состояния мест отдыха, по эпидемиологическим показаниям. Исследования питьевой воды проводят только по эпидемиологическим показаниям.

Методы концентрации вирусов из воды можно условно разделить на 4 группы.

I. Физические методы (ультрацентрифугирование, ультрафильтрация, пенная флотация и др.).

II. Физико-химические методы (преципитация этиловым спиртом, сульфатом аммония, сульфатом алюминия, двухвалентными катионами, преципитация в изoeлектрической точке вирусного белка, концентрация полиэтиленгликолем).

III. Адсорбционные методы (адсорбция на марлевом тампоне, природных минеральных сорбентах — бентоните и других ионообменных смолах).

IV. Биологические методы (адсорбция на дрожжевых клетках и других микроорганизмах).

Наиболее надежным методом концентрации вирусов является метод ультрацентрифугирования, однако этот метод не всегда доступен для вирусологических лабораторий. Чаще применяют методы ультрафильтрации, методы концентрации вирусов с помощью полиэтиленгликоля и адсорбционные методы — адсорбцию на марлевом тампоне и ионообменных смолах. Эти методы отличаются простотой, скоростью и достаточной эффективностью.

Для выделения вируса заражают культуру клеток или лабораторных животных (мышей-сосунков). Питьевая вода, безопасная в отношении вирусных инфекций, должна содержать менее одной вирусной частицы в 1 л. Однако эти требования не распространяются на вирус гепатита А и ротавирусы, которые могут быть обнаружены только с помощью малодоступных для вирусологических лабораторий методов.

САНИТАРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ ПОЧВЫ

Кишечные вирусы могут адсорбироваться подзолистыми почвами, однако в результате действия ряда факторов могут десорбироваться и снова поступать в окружающую среду. Таким путем кишечные инфекции могут передаваться через почву и овощи при использовании зараженных вирусами сточных вод на полях орошения, огородах и приусадебных участках (сточные воды → почва → овощи → человек). Кишечные вирусы длительное время сохраняются на овощах. Выживаемость их зависит от вида растения, условий вегетации, типа вируса и его исходной концентрации. Так, вирус полиомиелита типа I при температуре 6—10° С выживал на редисе в течение 2 мес. Из овощных культур наиболее быстрая инаktivация вирусов происходит на капусте в результате ее фитонцидной активности.

Инфицирование овощей может происходить не только путем попадания вирусов на их поверхность, но также и путем проникновения вируса из почвы в наземные части овощных культур через корневую систему. Поэтому необходимо систематическое проведение санитарно-виру-

сологических исследований поливной сточной воды, почвы и продукции полей орошения на присутствие кишечных вирусов. Благодаря быстрой адсорбции вирусов частицами почвы наиболее вероятна локализация вирусов в верхнем (пахотном) слое (0—25 см), однако важно бывает определить проникновение вирусов и в более глубокие слои (75—100 см).

Исследование почвы проводят по эпидемиологическим показаниям. Образцы почв (10—20 г) отбирают искателем с глубины 0—20 см в нескольких точках намеченного участка. Пробы смешивают и доставляют в лабораторию в стерильном полиэтиленовом мешке.

Обработка почвы включает десорбцию вирусов с поверхности частиц почвы в жидкую фазу (фосфатный буфер, pH 8,2), концентрирование вирусных частиц с помощью фильтрации жидкой фазы через фильтры из материала ФП или с помощью осаждения сульфатом алюминия. Так же обрабатывают и осадок сточных вод.

САНИТАРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ ВОЗДУХА

Воздушно-капельный путь передачи инфекции характерен для инфекций дыхательных путей — наиболее массовых инфекционных заболеваний. Вирусы попадают в воздух в виде капельной фазы аэрозоля в результате чиханья, кашля, разговора и находятся в составе капель различной величины, состоящих из слюны, слизи и солей. В наиболее высоких концентрациях вирус содержится в крупных каплях, которые мало устойчивы в аэрозоле и быстро оседают. Более длительное время во взвешенном состоянии находятся мелкие капли вирусного аэрозоля. Высыхание капель аэрозоля сопровождается инактивацией вируса.

Заражение респираторными вирусами в основном осуществляется за счет капельной фазы аэрозоля в закрытых помещениях. В первую очередь заражаются восприимчивые люди, находящиеся в непосредственной близости от больного. Менее опасно вдыхание высохших капель, в которых часть вирусных частиц уже инактивирована. Концентрация частиц в аэрозольном облаке уменьшается за счет разведения большими объемами воздуха и оседания крупных капель аэрозоля. Вместе с тем наличие в аэрозоле мелких капель дает возможность вирусу проникать в нижние отделы дыхательных путей. Инфекционный агент может переноситься токами воздуха на зна-

чительные расстояния — десятки километров от очага инфекции. Распространение вирусов зависит от скорости ветра; напротив, дождливая погода ограничивает распространение вирусов.

Устойчивые во внешней среде вирусы, в первую очередь аденовирусы, могут с пылевой фазой аэрозоля многократно поступать в воздух и длительно циркулировать в данном помещении.

По устойчивости вирусов в аэрозоле и на поверхностях их можно разделить на две группы: малоустойчивые вирусы, такие как парамиксовирусы (вирусы парагриппа и особенно респираторно-синцитиальный вирус) и несколько более устойчивые вирусы гриппа, которые передаются от больных людей здоровым только в виде капельной фазы аэрозоля, и устойчивые вирусы, такие как аденовирусы и ЕСНО вирусы, которые проникают в организм не только в виде капельной фазы, но и пылевой фазы аэрозоля (табл. 21).

Таблица 21. Вирусы, обнаруживаемые в воздухе, и их устойчивость при различной относительной влажности

Вирусы	Устойчивость при влажности		
	низкой	средней	высокой
Гриппа	+	—	—
Парагриппа	+	—	—
Ньюкаслской болезни	+	±	±
Респираторно-синцитиальной	+	±	—
Кори	+	—	±
Венесуэльского энцефаломиелита лошадей	+	—	—
Желтой лихорадки		+	+
Желтой лихорадки Рифт-Вали (лихорадки долины Рифт)		+	+
Саркомы Рауса	±	—	+
Осповакцины	+	—	—
Оспы голубей	+	—	±
Аденовирусы	—	±	+
Полиомиелита	—	±	+
ЕСНО 7	—	±	+
Энцефаломиокардита	—	±	+
Бактериофаги T1, T2	—	±	+

Обозначения: (+) — устойчивы, (±) — малоустойчивы, (—) — не устойчивы.

Методы концентрации вирусов из воздуха. Для изучения микрофлоры воздуха — бактерий и плесневых грибов — существуют различные методы исследования

и созданы многочисленные приборы для концентрации этих микроорганизмов из воздуха. Некоторые из приборов с соответствующими модификациями применяются и для концентрации вирусов из воздуха.

Поскольку вирусы, как правило, находятся в воздухе закрытых помещений в низкой концентрации, не позволяющей непосредственно их выделить, необходима предварительная концентрация вирусов из воздуха. Наиболее благоприятные условия для улавливания вирусного аэрозоля с сохранением инфекционной активности вирусов создаются путем концентрирования их в жидкой среде при соответствующем подборе улавливающей жидкости. Одним из наиболее эффективных приборов для выделения микроорганизмов из воздуха с целью исследования его бактериальной зараженности является бактериоуловитель Речменского, а также приборы ПОВ-1 и ПАВ-1, в которых в качестве жидкой среды используются сахарный бульон или гидролизат лактальбумина. Улавливающую жидкость используют как материал для выделения вирусов либо проводят дальнейшую концентрацию вируса, добавляя в пробирки с улавливающей жидкостью 30% раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 4000 или 6000. После центрифугирования суспензии удаляют верхний слой жидкости и анализируют вирус-содержащий нижний слой.

Помимо улавливания на жидких средах, для концентрации вирусов из воздуха могут быть использованы мембранные фильтры № 4 и фильтры из материала ФП. С поверхности фильтров вирусы смывают жидкой средой с антибиотиками.

Выживаемость вирусов в воздухе. Определение длительности выживания в воздушной среде различных респираторных вирусов является актуальным вопросом в связи с воздушно-капельным путем распространения респираторных инфекций. В экспериментальных исследованиях длительность выживаемости вирусов в аэрозольном состоянии зависит от таких факторов, как температура и относительная влажность воздуха, свет, состав улавливающей жидкости и т. д.

В закрытых помещениях основным фактором, влияющим на скорость инактивации вирусов в аэрозоле, является относительная влажность воздуха. Вирусы в различной степени устойчивы к показателям относительной влажности. Вирусы гриппа, парагриппа и респираторно-синцитиальный вирус быстрее инактивируются при высо-

кой относительной влажности и в меньшей степени — при низкой. Напротив, вирус полиомиелита, вирусы ЕСНО и аденовирусы более устойчивы в воздухе при высокой относительной влажности и быстрее инактивируются при низкой относительной влажности. Вирусы везикулярного стоматита и кори устойчивы как при низкой, так и высокой относительной влажности и быстрее инактивируются при средней относительной влажности.

САНИТАРНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ ПРЕДМЕТОВ ОБИХОДА

Предметы обихода могут быть посредниками в переносе вирусных агентов от больного к здоровому человеку. Особенно велика роль предметов обихода в детских учреждениях в связи с тесным контактом детей. Вирусы могут быть выделены из смывов с различных предметов обихода в детских учреждениях, больницах — игрушек, посуды, кухонного инвентаря, ткани, стекла, дерева, рук обслуживающего персонала. Аденовирусы типа 5 и вирусы ЕСНО 7 сохраняют инфекционную активность на некоторых предметах обихода более 7 суток, а вирусы парагриппа и респираторно-синцитиальный в течение нескольких минут или часов. Аденовирусы и энтеровирусы могут с предметов обихода поступать вторично в воздух и распространяться в виде пылевой фазы аэрозоля.

Исследование смывов с предметов обихода на наличие вирусов проводится по эпидпоказаниям в детских садах, яслях, больницах и других учреждениях. Смыв берут с поверхности предметов с помощью стерильного тампона, который помещают в пробирку с жидкостью (раствор Хенкса, гидролизат лактальбумина). Тампон отжимают и вирус из жидкости концентрируют с помощью фильтрации через фильтры из материала ФП или с помощью осаждения сульфатом алюминия.

САНИТАРНО-ПИЩЕВАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Исследование пищевых продуктов производят по эпидпоказаниям. Вирусы, находящиеся в жидких молочных продуктах, концентрируют с помощью полиэтиленгликоля с молекулярной массой 4000 или 6000 или с помощью цитрата натрия с последующей экстракцией фреоном 113.

Обработка полутвердых пищевых продуктов (творог, творожные продукты, мясные и рыбные полуфабрикаты, хлеб) и твердых (крупы, сыры, мясо и др.) заключается в экстракции вирусных частиц в жидкую фазу, из экстракта вирус осаждают с помощью полиэтиленгликоля.

Контаминация вирусами овощей возможна при использовании инфицированных сточных вод на полях орошения, огородах и приусадебных участках. Для десорбции вирусных частиц с поверхности овощей их заливают фосфатным буфером (рН 8,2), взбалтывают, жидкость осветляют центрифугированием и вирус из надосадочной жидкости концентрируют, как указано выше.

Часть II. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Глава 1. СЕМЕЙСТВО ВИРУСОВ ОСПЫ (POXVIRIDAE)

Вирусы оспы образуют обширное семейство, представители которого поражают человека, животных, птиц, насекомых. Название происходит от англ. *roх* — пустула, язва. Семейство состоит из двух подсемейств — вирусы оспы позвоночных и насекомых. Первое подсемейство имеет 6 родов. Представители каждого рода имеют общие антигены и обладают способностью к генетической рекомбинации. Род *Orthoroxvirus* включает вирус натуральной оспы, патогенный для человека, обезьян, а также вирусы осповакцины, оспы коров, экстремелии (вирус оспы мышей), оспы кроликов. Особенностью этих вирусов является их резистентность к эфиру и способность агглютинировать эритроциты кур. Вирусы рода *Pararoxvirus* отличаются меньшими размерами и иной морфологией — вирионы имеют овальную или цилиндрическую форму и более толстую наружную оболочку. Они чувствительны к эфиру и не способны к гематтотинации. Естественными их хозяевами являются копытные животные. К этому роду относятся вирус узелков доильщиц, орф-вирус (вирус контагиозного пустулезного дерматита). Род *Aviropoxvirus* включает вирусы, патогенные для птиц, они не чувствительны к эфиру. Вирусы рода *Carpipoxvirus* поражают овец и коз, чувствительны к эфиру. Род *Leporipoxvirus* включает вирусы фибромы и миксомы кроликов. Вирусы чувствительны к эфиру, передача может осуществляться членистоногими. Вирусы рода *Suipoxvirus* патогенны для свиней.

К неклассифицированным оспенным вирусам относятся вирусы Тана и Яба и вирус контагиозного моллюска, патогенный для человека.

ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

Морфология. Вирион имеет кирпичеобразную форму с закругленными углами размером 300—450 · 170—260 нм. Это самый крупный вирус животных. Он имеет сложное

строение и состоит из сердцевин (нуклеоида), имеющей форму двояковогнутой линзы (фигура восьмерки), по обе стороны от которой находятся овальные образования, называемые боковыми телами. Сердцевина содержит ДНК, упакованную в белковый футляр в виде цилиндрических или нитевидных фигур, и окружена внутренней и наружной мембранами. Сердцевина и белковые тела окружены внешней оболочкой с характерными шарообразными выступами.

Химический состав и физико-химические свойства. Большинство данных, относящихся к вирусу оспы, получены при изучении родственного ему вируса осповакцины. Вирионы содержат в своем составе двунитчатую ДНК, составляющую 5—7,5% от массы вириона, более 30 структурных белков, включая ферменты, липиды (4% от сухой массы), углеводы (3% от сухой массы). Липиды входят в состав наружной оболочки вирионов. Хотя липиды вирионов оспы являются компонентами клетки-хозяина, однако соотношение их в вирионах иное, нежели в клетках. Масса вириона $5,26 \cdot 10^{-15}$ г.

Геном вируса оспы представляет линейную молекулу двунитчатой ДНК с молекулярной массой более $130 \cdot 10^6$, значительно большей, чем у других вирусов животных. ДНК содержит окло 240 000 пар нуклеотидов при общей ее длине 82 мкм. На обоих концах молекулы имеются ковалентные сшивки, поэтому нити ДНК обладают необычной прочностью и не разделяются полностью при щелочной денатурации. Благодаря большой молекулярной массе ДНК обладает обширной генетической информацией.

Белки, антигены. В составе вирионов содержится более 30 структурных белков с молекулярной массой от $11 \cdot 10^3$ до $150 \cdot 10^3$ (по другим данным от $8 \cdot 10^3$ до $200 \cdot 10^3$). Из них 17 обнаружены в сердцевине, в том числе два белка, составляющих 50% от суммарного белка сердцевин. Пять белков локализовано на поверхности вириона, 8 — в более глубоких слоях наружной оболочки. Поверхностные белки являются гликопротеидами, и, по-видимому, с ними связан иммунитет к оспе. Вирусы оспы и осповакцины весьма сходны в антигенном отношении и отличаются друг от друга не более чем одним антигеном. Все антигены можно разделить на структурные, растворимые и гемагглютинин. К структурным белкам-антигенам относится NP-антиген, общий для всего семейства; этот антиген связан с белком нуклеокапсида.

Среди растворимых антигенов есть термолабильный (Л) и термостабильный (С). Гемагглютинин является липопротеидным комплексом, содержащим три гликопротеида. Он представляет собой свернутую в клубок трубчатую структуру, легко отделяющуюся от вириона. Гемагглютинин вызывает агглютинацию эритроцитов цыплят в широком диапазоне температур (от 4 до 37° С) и pH (от 4,6 до 10,0).

В вирионах оспы (осповакцины) выявлено 12—13 ферментов. Среди них находится ДНК-зависимая РНК-полимераза и другие ферменты, связанные с транскрипцией ДНК, модификацией иРНК, киназы и протеазы.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирус оспы является сравнительно устойчивым. Он устойчив к эфиру, большинству дезинфекционных средств, к высушиванию и может храниться в высохших экссудатах в течение многих месяцев при комнатной температуре, а в жидкости везикул на холоду — в течение нескольких лет. В 50% растворе глицерина вирус сохраняет инфекционную активность при 4° С в течение нескольких лет.

Репродукция. Вирус проникает в цитоплазму клетки посредством эндоцитоза. «Раздевание» вирионов и освобождение генома происходит в две стадии. В первой стадии протеолитические ферменты клетки разрушают наружную оболочку вирионов, происходит частичная транскрипция генома с образованием сверхнативных иРНК и последующим синтезом раздевающего белка, затем наступает вторая стадия раздевания, в результате которой разрушаются оболочки нуклеоида и вирусная ДНК начинает полностью функционировать. Затем начинается синтез ранних иРНК, которые считаются с других участков ДНК, ставших теперь доступными. Дочерние молекулы ДНК являются матрицами для синтеза поздних иРНК, которые транслируются с образованием около 80 структурных и неструктурных вирусных белков. Все процессы происходят в цитоплазме в так называемых фабриках, которые представляют своеобразные клеточные структуры, модифицированные вирусом. Репродукция вирусов оспы заканчивается через 6—7 ч. Зрелые вирионы через аппарат Гольджи доставляются к клеточной поверхности и выходят из клеток путем экзоцитоза. Включения в цитоплазме (в околоядерной области) зараженных клеток являются либо «фабриками» в стадии их функционирования, либо их остатками вместе с неиспользованными продуктами вирусиндуцированного син-

теза. Эти включения называются «тельца Гварниери», они имеют диагностическое значение при оспе.

Патогенез и клиника. Вирус проникает в клетки слизистой оболочки верхних дыхательных путей и после размножения по лимфатической системе переносится в регионарные лимфатические узлы. В них происходит дальнейшее размножение вируса и наступает первичная вирусемия, которая приводит к инвазии ретикулоэндотелиальной системы. Начинается интенсивное размножение вируса, приводящее ко вторичной вирусемии. После этого вирус накапливается в эпидермисе и вызывает поражения кожи. С появлением сыпи больной становится заразен. Основным источником заражения является отделяемое носоглотки. Заболевание развивается после инкубационного периода продолжительностью 8—18 дней и начинается внезапно лихорадкой, головной болью, болями в мышцах, прострацией и появлением характерной сыпи. Сыпь проходит стадии макулы, папулы, везикулы, пустулы и завершается образованием рубца — все это длится 3 нед. С появлением сыпи температура снижается и вновь повышается, когда образуются пустулы. Тяжесть течения варьирует. Известны две формы оспы — натуральная (*variola major*) с летальностью 20—40% и аластрим (*variola minor*) с летальностью 1—2%.

Иммунитет. Перенесенная инфекция приводит к развитию стойкого, почти всегда пожизненного иммунитета. Вакцинация также сопровождается формированием стойкого иммунитета. Приобретение прочного гуморального иммунитета в результате вакцинации позволило ликвидировать оспу во всем мире.

Эпидемиология. Натуральная оспа передается воздушно-капельным путем, заражение наступает при общении с больным, который при кашле и разговоре разбрызгивает в воздух отделяемое оспенных поражений слизистых оболочек. Заражение может также произойти и через предметы обихода и одежду больного, потому что вирус обладает стойкостью во внешней среде. Больной заразен в течение всего периода болезни, вплоть до отпадания корок, но наиболее всего — в течение первых 8—10 дней.

Эпидемии возникают во многих странах, но главным ее очагом являлась Юго-Восточная Азия (Индия, Пакистан, Бангладеш). В СССР оспа была ликвидирована в 1936 г., однако и после этого она неоднократно заносилась из соседних стран (Иран, Афганистан). Последний раз в СССР оспа была занесена из Индии в 1960 г.

В 1958 г. по предложению советской делегации Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) приняла резолюцию о глобальном искоренении оспы. Для осуществления этой задачи потребовалось 18 лет. На всех этапах выполнения этой программы Советский Союз оказывал большую помощь, предоставив 1,5 млрд. доз оспенной вакцины, а также специалистов.

В 1975 г. был зарегистрирован последний случай *variola major* в Бангладеш, а в 1976 г. — последний случай *variola minor* в Сомали.

Лабораторная диагностика. Несмотря на то что оспа в настоящее время ликвидирована во всем мире, каждый вирусолог должен уметь обследовать подозрительного на оспу больного, отличить по клиническим признакам от сходных заболеваний, вызываемых другими вирусами: герпеса и близкородственными вирусами осповакцины, коревой оспы и оспы обезьян, а также от других заболеваний, сопровождающихся сыпью.

Материалом для исследования служат содержимое везикул, пустул, чешуйки и корочки, взятые с кожи и слизистых оболочек, отделяемое носоглотки и кровь. В летальных случаях исследуют кусочки пораженной кожи, легкого, селезенки, кровь. Готовят мазки-отпечатки из содержимого пустул или соскоба из папул и отделяемого носоглотки и складывают отпечатками внутрь. Хранение и пересылку материала осуществляют по правилам, предусмотренным для особо опасных инфекционных материалов.

Быстрая диагностика. Для быстрой и ранней диагностики в острой стадии заболевания используют вирусоскопию, методы ИФ и выявления вирусного антигена в инфекционном материале. В мазках, приготовленных из содержимого везикул жидкости, взятой из высыпаний на коже и слизистых, под электронным микроскопом обнаруживаются вирусные частицы характерной формы в высокой концентрации. На стадии образования пустул вирусоскопия реже применяется в связи с уменьшением количества вируса.

В отпечатках из лопнувших, надрезанных пузырьков и соскобленных папул обнаруживаются клетки, содержащие тельца Гварниери, которые располагаются в цитоплазме вблизи ядра по 1—2 и более в одной клетке, имеют различную величину и форму.

Специфический антиген в мазках-отпечатках из кожных высыпаний и отделяемого носоглоток выявляют с

помощью непрямого метода иммунофлюоресценции. В окрашенных препаратах специфический антиген обнаруживается в клетках и межклеточном пространстве в виде яркосветящихся округлых мелких зерен и конгломератов различной величины и формы.

Антиген из жидкости везикул, пустул, экстракта корок и в сыворотке больных оспой может быть выявлен с помощью гипериммунных сывороток животных в РСК, РОПГА, ИФА и в других специфических реакциях.

Выделение вируса. Вирус выделяют из инфекционного материала путем заражения куриных эмбрионов и культур клеток. Оба метода обладают одинаковой чувствительностью. Куриные эмбрионы 11—12-дневного возраста заражают на хорион-аллантоисную оболочку (ХАО) и инкубируют при температуре 35° С 3—5 сут. При вскрытии на ХАО обнаруживаются мелкие белые плотные очаги поражения с резко очерченными границами, иногда окруженные прозрачной зоной. Серологическую идентификацию вируса проводят в РН на куриных эмбрионах, РСК или РТГА с куриными эритроцитами (однако свежeweделенные штаммы вируса оспы не обладают или обладают слабой гемагглютинирующей активностью).

Из культур клеток наиболее чувствительны к вирусу оспы культуры перевиваемых клеток человека — Hela, Нер-1, Нер-2, J-96, FL и др. Вирус вызывает ЦПД, проявляющееся в появлении резко контурированных очагов клеточной пролиферации. Они обнаруживаются через 24—30 ч после заражения. В дальнейшем появляются генерализованные некротические изменения ткани, РГ_{адс} появляется позже цитопатических изменений. Для идентификации вируса используется РТГ_{адс} с гипериммунными сыворотками животных.

Идентификацию вируса в культуре ткани можно проводить с помощью ИФ. Специфический антиген выявляется через 9—12 ч после заражения в цитоплазме вблизи ядра. При отрицательном результате выделения вируса делают дополнительно 2—3 слепых пассажа в культуре клеток, используя экстракты зараженных культур после их трехкратного замораживания и оттаивания.

Выделение вируса в куриных эмбрионах и культурах клеток осуществляется в 90—100% случаев оспы различной тяжести. Наиболее легко вирус выделяется из содержимого везикул, хуже — из содержимого пустул и корок.

Из крови больных вирус может быть выделен в течение первой недели заболевания.

Серологическая диагностика. Прирост антител в парных сыворотках больных определяется в РТГА, РСК, РН в куриных эмбрионах и на культурах клеток. Все три реакции имеют одинаковую чувствительность. Сыворотки больных прогревают при температуре 56° С в течение 30 мин. Антигемагглютинирующие антитела появляются уже к 5—6-му дню заболевания и нарастают в течение последующих 1—2 нед. Антигеном в РТГА является суспензия ХАО куриных эмбрионов, зараженных вирусом осповакцины, или стандартный гемагглютинирующий диагностикум. В РСК и РН в качестве антигена используются экстракты ХАО или культуры клеток, подвергнутые трехкратному замораживанию и оттаиванию.

Лечение и профилактика. Для лечения, помимо патогенетической и симптоматической терапии, применяли химиотерапевтический препарат из группы β-тиосемикарбазонов — метисазон. Его же применяли для профилактики заболеваний среди лиц, соприкасавшихся с больным оспой.

Однако основным средством, с помощью которого была достигнута победа над оспой, была оспенная вакцина (осповакцина), предложенная еще в 1796 г. английским врачом Э. Дженнером. Естественно, что в настоящее время препараты оспенной вакцины значительно усовершенствованы, как равным образом и методы прививки. Для массовых прививок применяются безыгольные инъекторы, а для индивидуальных — бифуркационная (раздвоенная) игла, позволяющая точно дозировать вакцину прививаемому. Победа над оспой была достигнута также в результате правильной организации выявления и подавления ее очагов. С ликвидацией оспы во всем мире прививки против нее прекращены.

ВИРУС ОСПЫ ОБЕЗЬЯН И СХОДНЫЕ ВИРУСЫ

Вирус оспы обезьян. В период ликвидации оспы на земном шаре были открыты вирусы, близкие к возбудителю натуральной оспы. Одним из них явился вирус оспы обезьян. Он отличается от вируса натуральной оспы чувствительностью к повышенной температуре, патогенностью для мышей и кроликов, характером оспин на ХАО куриного эмбриона, а также наличием Мо-антигена,

присущего только этому вирусу. У человека вирус оспы обезьян может вызвать генерализованное заболевание, напоминающее натуральную оспу. Очаги оспы обезьян и случаи заболеваний людей зарегистрированы в Заире, Либерии, Нигерии, Сьерра-Леоне, Камеруне, Береге Слоновой Кости. Заражение человека от человека встречается редко.

Вирусы оспы животных. Среди многочисленных вирусов оспы животных некоторые являются патогенными для человека, вызывая либо поражение в месте инокуляции вируса, как это имеет место при прививках осповакциной, либо реже — общую реакцию (лихорадка), и совсем в редких случаях — генерализованную форму болезни. Кроме осповакцины, ограниченные поражения кожи у человека могут вызвать вирусы коровьей оспы, узелков доильщиц (Орф-вирус). Все эти заболевания носят профессиональный характер и поражают лиц, ухаживающих за крупным рогатым скотом.

Вирусы Тана и Яба. В Кении у племени, живущего вдоль реки Тана, наблюдаются заболевания, вызванные неклассифицированным вирусом группы оспы. Болезнь характеризуется лихорадкой, общим недомоганием и появлением одной оспины. Передается при прямом контакте, а возможно, и комарами. Вирус патогенен и для обезьян.

Серологически близок к нему вирус Яба (название местности в Центральной Африке), который вызывает у обезьян развитие опухолей.

Вирус контагиозного моллюска. Относится также к неклассифицированным оспенным вирусам. Патогенен только для человека. При заражении вызывает образование эритематозных узелков. Вирус культивируется в перевиваемых клетках человека (амниотические клетки, Hela). Болезнь передается при прямом и половом контактах. Нередко заражение, особенно детей, происходит в плавательных бассейнах.

Глава 2. СЕМЕЙСТВО ВИРУСОВ ГЕРПЕСА (HERPESVIRIDAE)

Вирусы герпеса (от греч. herpes — ползучая) поражают широкий круг хозяев: человека, обезьян, многие виды домашних животных, грызунов, птиц, пресмыка-

ющихся, земноводных и рыб; сходные по морфологии возбудители обнаружены у моллюсков и грибов.

В семействе три подсемейства: *Alphaherpesvirinae*, которое включает вирусы простого герпеса человека, вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса, вирусы герпеса животных, *Betaherpesvirinae*, к которому относятся вирус цитомегалии человека и мышей, и *Gammapherpesvirinae*, к которому относится вирус Эпштейна — Барр. Для человека патогенны вирусы простого герпеса, ветряной оспы и опоясывающего герпеса, вирус цитомегалии, вирус Эпштейна — Барр, а также обезьяний вирус В.

ВИРУС ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

Морфология. Вирионы имеют 120—150 нм в диаметре и характеризуются сложным строением (см. рис. 7, е). Внутренний компонент представлен сердцевинной, которая содержит ДНК, намотанную вокруг цилиндрической массы. Сердцевина заключена в белковый капсид, имеющий симметрию икосаэдра, который состоит из 162 капсомеров. Капсомеры на гранях представляют шестиугольные призмы, а на каждой из 12 вершин капсомеры пятигранные. Капсид окружен липопротеидной оболочкой с шипиками на поверхности. Между капсидом и липопротеидной оболочкой расположен слой, размер которого значительно варьирует у разных вирусов герпеса.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат ДНК (6% от сухого веса), белки (70%), липиды (22%), углеводы (1,5—2%). Липиды находятся в составе липопротеидной оболочки, углеводы — в составе гликопротеидов, формирующих шипики на липопротеидной оболочке.

Молекулярная масса вирионов более $1000 \cdot 10^6$, плавающая плотность вирионов в хлориде цезия 1,26—1,29 г/мл, плавающая плотность капсидов 1,3—1,31 г/мл.

Геном вируса герпеса представляет линейную двунитчатую ДНК с молекулярной массой 80—150 $\cdot 10^6$.

Геном состоит из двух ковалентно связанных фрагментов — длинного (L), содержащего 82% ДНК, и короткого (S), содержащего 18% ДНК. Каждый фрагмент имеет специфический нуклеотидный состав, для которого характерна многократная повторяемость концевых нуклеотидов (терминальных блоков).

Белки и антигены. В составе вирионов герпеса находится примерно 30—33 полипептидов с молекулярной

массой от $12 \cdot 10^3$ до $140 \cdot 10^3$, в том числе 5 гликопротеидов, обозначаемых gA, gB, gC, gD и gE. Гликопротеиды находятся на наружной поверхности липопротеидной оболочки. Помимо структурных белков, в зараженной клетке синтезируется до 20 неструктурных белков.

Вирус содержит ряд антигенов, связанных как с внутренними белками, так и с гликопротеидами. Основными иммуногенами являются гликопротеиды gB, gC и gD. Эти белки индуцируют вируснейтрализующие антитела и клеточный иммунный ответ организма. Существует два серотипа вируса простого герпеса, которые имеют как общие, так и типоспецифические антигены. И те, и другие связаны с гликопротеидами. Общими антигенами являются gB и gD, а gC — типоспецифическим.

Устойчивость к химическим и физическим факторам. Вирусы термолабильны, чувствительны к эфиру, детергентам, инактивируются при $pH < 4,0$.

Репродукция. Вирус проникает в клетку путем рецепторного эндоцитоза. Слияние с плазматической мембраной и стенкой эндоцитарной вакуоли сопровождается удалением липопротеидной мембраны и освобождением нуклеокапсида, который транспортируется в ядро. В ядре происходит депротенинизация ДНК и затем ее транскрипция и репликация, осуществляемые как клеточными, так и вирусными ферментами. Вирус индуцирует синтез ряда клеточных ферментов и кодирует синтез двух собственных ферментов — тимидинкиназу и ДНК-полимеразу.

В клетках синтезируется большое количество (около 50) вирусспецифических белков, из которых примерно 30 в результате ряда модификаций превращаются в структурные вирусные белки. Синтез вирусных белков происходит в строго определенной последовательности. Вначале синтезируется лишь небольшое количество α -белков, кодируемых сверхранними иРНК, затем β -белки, кодируемые ранними иРНК, и наконец, поздние γ -белки, кодируемые поздними иРНК, среди которых преобладают структурные. Белки каждой группы транспортируются в ядро и путем связывания с определенными участками геномной ДНК регулируют включение синтеза следующей группы иРНК (каскадная регуляция).

Структурные капсидные белки транспортируются в клеточное ядро, где происходит их ассоциация с вновь синтезированными геномами и сборка вирусных нуклеокапсидов. Нуклеокапсиды ассоциируются с модифицированными участками ядерной мембраны и происходит поч-

кование вирусных частиц в околоядерное пространство. Затем по мембранам эндоплазматической сети вирусные частицы транспортируются в аппарат Гольджи, где происходит окончательное формирование углеводных цепочек гликопротеидов, и оттуда в составе транспортных везикул вирусные частицы выносятся на поверхность плазматической мембраны.

Патогенез. Основные пути заражения — воздушно-капельный (через слюну) и половой. Возможно заражение через предметы обихода, загрязненные слюной носителей возбудителя инфекции. Первичная репродукция вируса при стоматитах происходит в эпителии слизистой оболочки рта и глотки. По лимфатическим путям вирус попадает в кровь, вызывая генерализованную инфекцию. Возможными осложнениями являются герпетические менингиты и энцефалиты. Генерализованная герпетическая инфекция новорожденных поражает все органы и вызывает в тканях точечные некрозы и воспалительные очаги. В клетках пораженных тканей образуются внутриядерные включения. Ранние включения (тельца Каудри) содержат ДНК и заполняют все ядро, оттесняя хроматин к краю ядра. Поздние включения не содержат ДНК.

Для вируса герпеса характерна его пожизненная персистенция в виде двунитчатых кольцевых форм ДНК в нейронах чувствительных ганглиев. Вирус герпеса патогенен для многих видов лабораторных животных — мышей, крыс, кроликов, морских свинок, хомяков, собак, обезьян, у которых он вызывает лихорадку и энцефалит (обычно — при внутримозговом введении), а у кроликов — также кератоконъюнктивит.

Клиника. Вирусы герпеса вызывают различные клинические формы болезни. У человека в раннем детстве — стоматит и фарингит с последующим развитием латентной инфекции, чередующейся с обострениями в виде высыпаний на губах и крыльях носа. У большинства людей первичная инфекция клинически не выражена, однако сопровождается образованием антител. Вирусы типов 1 и 2 вызывают разные клинические формы. Вирус простого герпеса типа 1 вызывает герпес губ, афтозный стоматит, герпетическую экзему, кератоконъюнктивит, менингоэнцефалит. Вирус простого герпеса типа 2 вызывает половой герпес, герпес новорожденных. Доказана роль этого серотипа в развитии рака шейки матки. Наиболее массовыми и опасными формами являются половой герпес, герпетический кератит. Сравнительно редко встречаются гене-

рализованный герпес новорожденных и герпетический энцефалит.

Иммунитет. Хотя в крови переболевших находятся вируснейтрализующие антитела и обнаруживаются секреторные антитела класса IgA, однако они не препятствуют персистенции вируса и развитию латентной инфекции, которая чередуется с периодами обострения. Вирус персистирует в клетках нервной системы: нейронах, в составе ганглий.

Эпидемиология. Эпидемиология герпеса, вызванная вирусами типов 1 и 2, различна. Первичное инфицирование вирусом герпеса типа 1 происходит в первые годы жизни (от 6 мес до 3 лет), обычно в форме везикулярного стоматита. Дети обычно заражаются от родителей в период реактивации герпетической инфекции. Вирус передается через слюну и посуду, загрязненную слюной. В глаза вирус заносится грязными руками. Несмотря на образование антител, он не удаляется из организма и носительство длится в течение всей жизни. Инфекция время от времени рецидивирует. Взрослые менее восприимчивы к первичной герпетической инфекции, чем дети. Антитела к вирусу 1-го типа имеются у 70—90% взрослых.

Вирус типа 2 передается половым путем или попадает в организм ребенка от больной матери во время рождения. Половой герпес распространяется как венерическая болезнь.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования в острой стадии заболевания являются соскоб из везикул, слюна при поражениях слизистой полости рта, кровь при генерализованной инфекции, цереброспинальная жидкость при менингите и энцефалите, кусочки головного и спинного мозга в летальных случаях.

Быстрая диагностика. Мазки-отпечатки из соскоба герпетических везикул и осадков, полученных после центрифугирования цереброспинальной жидкости, красят по Романовскому — Гимзе и исследуют в световом микроскопе. Диагностическим признаком герпетической инфекции является наличие гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями. Идентификацию вируса проводят с гипериммунными сыворотками животных в прямой или непрямой ИФ, а также методами РИА и ИФА. В летальных случаях специфический антиген выявляется в отпечатках и срезах ткани головного и спинного мозга. Высокочувствительным методом быстрой диагностики яв-

ляется ДНК-ДНК-гибридизация, позволяющая выявить внутриклеточные единичные молекулы вирусных ДНК.

Выделение вируса. Для выделения вируса из инфекционного материала используют куриные эмбрионы, культуры клеток и лабораторных животных. Двенадцатидневные куриные эмбрионы заражают инфекционным материалом на хорион-аллантоисную оболочку. Через 48 ч инкубации при температуре 37°C на ХАО появляются типичные уплотненные бляшки (оспины), видимые невооруженным глазом. В окрашенных мазках-отпечатках из бляшек при световой микроскопии видны гигантские клетки с внутриядерными включениями.

Вирус герпеса размножается в культурах ткани различного происхождения, но наиболее пригодна для его выделения первичная культура почек кролика. В зараженных культурах вирус вызывает образование гигантских многоядерных клеток, округлых клеток и их конгломератов, в которых обнаруживаются внутриядерные включения.

Для выделения вируса можно использовать мышей-сосунков, заражаемых в мозг или внутрибрюшинно, которые через 3—4 дня заболевают и вскоре погибают. Кроликов и морских свинок заражают на скарифицированную роговуцу. Через 24—48 ч у них развивается кератоконъюнктивит, и в клетках роговуцы обнаруживаются внутриядерные включения. Идентификацию вируса в куриных эмбрионах, клеточной культуре и клетках роговуцы проводят в ИФ и РН.

Серологическая диагностика. Для определения прироста антител используют РСК. Антигены готовят из зараженных ХАО, мозга мышей-сосунков или клеток культуры. Используют также РН, преимуществом которой является меньшее выявление родственных связей между вирусами герпеса и ветряной оспы, ИФ, ИФА.

Специфическая терапия и профилактика. В остром периоде инфекции применяют химиотерапевтические препараты — аномальные нуклеозиды (идоксуридин, аденин-арабинозид, ацикловир и др.), индукторы интерферона. Для профилактики рецидивов в периоде ремиссии применяют многократное (5—6 раз) введение убитой герпетической вакцины. Ее применение показано при тяжелых рецидивирующих формах кожных, глазных, стоматологических и половых герпетических заболеваний. Для лечения полового герпеса и герпетических поражений глаз применяют комбинированное введение вакцины, химиотерапевтических препаратов и индукторов интерферона.

ВИРУС ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ И ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

Ветряная оспа — легкая инфекция, характеризующаяся папуловезикулярными высыпаниями на коже и слизистых оболочках и поражающая в основном детей. Опоясывающий герпес (herpes zoster) характеризуется воспалительной реакцией в задних корешках спинного мозга и спинномозговых ганглиях и наличием высыпаний на коже, иннервируемой пораженным чувствительным нервом. Это заболевание чаще поражает взрослых, чем детей. Обе инфекции вызывают один и тот же вирус, и они являются результатом различной реакции организма. По морфологии, химическому составу, биологическим свойствам этот вирус не отличается от вируса простого герпеса, оба имеют как общий, так и специфические антигены.

Патогенез. Вирус ветряной оспы передается воздушно-капельным путем, и первичное его размножение происходит в эпителии слизистых оболочек верхних дыхательных путей. По лимфатическим путям вирус попадает в кровь и из крови в кожу, вызывая поражение эпителия кожи и слизистых оболочек. На слизистых оболочках дыхательных путей появляется сыпь, подобная поражениям при натуральной оспе (отсюда и название болезни). В содержимом пузырьков находится вирус в высокой концентрации. Мацерация пузырька превращает его в ранку, и вирус легко передается при кашле, чиханье и разговоре.

Заболевание часто возникает у людей, перенесших ветрянную оспу в результате активации вируса, персистирующего в организме.

Клиника. Инкубационный период при ветряной оспе длится 14—21 день. Продромальный период характеризуется слабостью, подъемом температуры, везикулярная сыпь и пузырьки появляются вначале на туловище, затем на лице и конечностях. Ветряная оспа новорожденных характеризуется высокой смертностью (до 20%). Осложнением является энцефалит, пневмония. Ветряная оспа у женщин в первые три месяца беременности может привести к врожденным уродствам у плода.

При опоясывающем герпесе вслед за недомоганиями и подъемом температуры возникают сильные боли в области кожи или слизистых оболочек, иннервируемых одной группой чувствительных нервов и ганглиев. Через

несколько дней на этих участках кожи появляются высыпания (обычно на туловище, голове и шее).

Иммунитет. У больных ветряной оспой появляются вируснейтрализующие антитела, однако они не предупреждают развитие латентной инфекции и не играют роли в выздоровлении. Основное значение имеет клеточный иммунитет, но он также не препятствует возникновению латентной инфекции. Вирус персистирует в клетках дорзальных ганглиев и его активация на фоне иммунодефицитных состояний при опоясывающем герпесе приводит к периодическим обострениям заболевания. У больных ветряной оспой и опоясывающим герпесом увеличено абсолютное и относительное количество Т-супрессоров.

Эпидемиология. Ветряная оспа — одно из самых распространенных заболеваний человека. Оно высоко заразно, распространяется преимущественно воздушно-капельным путем. Наиболее восприимчивы дети от 2 до 6 лет, могут болеть и взрослые. Заболевание отмечается преимущественно зимой и весной.

Опоясывающий герпес встречается в виде спорадических случаев, не имеет сезонности, заражение от больного человека происходит крайне редко в связи с отсутствием вируса в слизистых оболочках верхних дыхательных путей. Опоясывающий герпес может быть источником ветряной оспы у ребенка.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является содержимое кожных высыпаний, отделяемое носоглотки, кровь.

Быстрая диагностика. В мазках-отпечатках, полученных из жидкости свежих везикул при окраске по Романовскому — Гимзе выявляют гигантские многоядерные клетки и внутриядерные включения. Для выявления специфического антигена используют ИФ, ИФА. Антиген может быть выявлен также в РСК при использовании в качестве антигена содержимого везикул и пустул, суспензии чешуек и корок, осветленной центрифугированием. Вирус может быть выявлен при ИЭМ.

Выделение вируса. Наибольшей чувствительностью к вирусу обладают клетки эмбриона человека, но можно использовать клетки почек обезьян, кроликов, коровы и т. д. Инфекционный материал лучше вносить одновременно с посевом клеток; ЦПД заключается в округлении клеток (преимущественно в культуре эпителия) и появлении гигантских многоядерных клеток (преимущественно в культурах фибробластов). Вирус связан с клет-

ками и слабо накапливается в культуральной жидкости. В зараженных клетках появляются внутриядерные включения. Идентификацию вируса проводят в РН и ИФ, используя сыворотки реконвалесцентов с высоким титром антител.

Серологическая диагностика. Проводится в РН в культуре клеток, ИФА, РСК. В качестве антигена в РСК используют экстракт зараженных клеточных культур после их трехкратного замораживания и оттаивания.

Профилактика. Эффективным методом профилактики является введение γ -иммуноглобулина. Заболевшие ветряной оспой подлежат изоляции от детского коллектива.

ВИРУС ЦИТОМЕГАЛИИ

Вирус впервые выделен в 1956 г. от детей, погибших от генерализованной инфекции, путем заражения культуры фибробластов человека.

По морфологическим и биологическим свойствам вирус цитомегалии сходен с вирусом простого герпеса, но отличается от него по ряду признаков: 1) имеет более продолжительный цикл репродукции; 2) обладает меньшей цитопатогенной активностью; 3) имеет более узкий спектр хозяев; 4) менее чувствителен к аналогам нуклеозидов, таким как арабинофуранозилтимидин, ацикловир и др. Последнее свойство, по-видимому, обусловлено меньшей способностью вируса индуцировать вирусспецифическую тимидинкиназу. Наиболее чувствительными культурами являются фибробласты эмбриона человека, диплоидные клетки легких эмбриона человека. Вирус вызывает характерное цитопатическое действие, заключающееся в возникновении гигантских клеток вследствие увеличения цитоплазмы и ядра. В клетках содержатся внутриядерные включения, состоящие из вирусных частиц и ядерного хроматина, окруженные светлым ободком («совиный глаз»). Заражение происходит через слюну. Заболевание длится годами, иногда пожизненно. Основными клиническими признаками являются поражение ЦНС, тромбоцитопения, гепатолиенальный синдром, гепатит, часто повторяющиеся пневмонии. Наиболее опасна вертикальная передача вируса от матери к плоду, особенно в первом триместре беременности. Инфекция обнаруживается у 0,5—2,4% новорожденных, и дополнительно 3—5% заражаются через материнское молоко и при близком контакте с матерью. У новорожденных инфекция чаще всего протекает в инан-

паратной форме и явные симптомы заболевания могут проявиться значительно позднее. У беременных женщин цитомегалия может приводить к недоношенности, мертворождению, у детей появляются врожденные дефекты развития, может развиться генерализованная инфекция, с поражением головного и спинного мозга, внутренних органов; часто возникает атипичная интерстициальная пневмония. Вирус персистирует в слюнных железах, почечной паренхиме и других тканях. В патогенезе заболевания большое значение имеют иммунопатологические реакции: иммунный лизис клеток системой антитело — комплемент и цитотоксическими лимфоцитами, появление иммунных комплексов в крови и тканях. Резко увеличивается количество Т-супрессоров и отношение Т-хелперов к Т-супрессорам падает до 0,23. Заболевание часто заканчивается летально.

У больных независимо от клинической формы болезни и при латентной инфекции вырабатывается гуморальный иммунный ответ: в сыворотках появляются комплемент-связывающие и вируснейтрализующие антитела. При внутриутробном заражении дети рождаются с антителами в крови и уровень их может нарастать после рождения. Несмотря на это, вирус персистирует в организме и выделяется со слюной и мочой в течение многих месяцев. Имеется два серотипа вируса, которые дифференцируются в РН.

Инфекция широко распространена в различных странах. Антитела обнаруживаются более чем у 80% людей старше 35 лет. Быстрая лабораторная диагностика основана на выявлении гигантских клеток с внутриядерными включениями в пораженных тканях, осадках мочи и слюны, выявлении IgM в ИФ, ИФА, РИА. Вирус выделяют из слюны, лейкоцитов крови путем заражения культур клеток фибробластов человека и диплоидных культур клеток легких человека. Через 1—2 нед в культурах появляются типичные изменения — участки увеличенных в размере клеток с внутриядерными включениями.

Антитела в парных сыворотках определяют в РН в культуре клеток, РСК, РПГА, ИФ, ИФА и РИА. Цитомегалия новорожденных может быть выявлена путем вирусоскопии мочи в связи с большой концентрацией в ней вируса. Профилактика осуществляется путем изоляции больных детей. Разработаны живые вакцины, полученные из аттенуированных штаммов и применяющиеся в виде моновакцины и дивакцины в сочетании с вакциной против

краснухи. Лечение проводят аномальными нуклеозидами (6-азауридин, ацикловир и др.). В связи с иммунодепрессивным действием вируса применяют левомизол.

ВИРУС ЭПСТАЙНА — БАРР

По фундаментальным свойствам вирус не отличается от других представителей семейства. Он содержит специфические антигены, которые выявляются с помощью РСК, иммунодиффузии, ИФ. Ранними антигенами являются мембранный антиген (МА), выявляемый по поверхности зараженных клеток, и ядерный (ЕВНА), обнаруживаемый в клеточных ядрах; поздним антигеном — антиген вирусного капсида.

Вирус уникален в семействе вирусов герпеса по своей способности вызывать не цитолиз, а размножение пораженных клеток — В-лимфоцитов. Вирус способен к длительной персистенции в них. В странах умеренного климата он вызывает инфекционный мононуклеоз, в условиях тропиков — лимфому Беркитта, в Китае — назофарингеальную карциному. Инфекционный мононуклеоз обычно поражает детей и молодых людей. Заболевание характеризуется подъемом температуры, увеличением лимфатических узлов и селезенки, числа моноцитов и лимфоцитов в крови. В-лимфоциты больных содержат и продуцируют вирусные частицы. Инфекционный вирус обнаруживается в отделяемом носоглотки, слюне. Обычно малигнизация не происходит благодаря включению защитных механизмов. К ним относятся специфические Т-киллеры, мишенью действия которых является вирусный антиген на поверхности В-лимфоцита, появляющийся уже на ранней стадии инфекции. Активируются естественные киллеры, К-клеточный механизм. Увеличивается активность супрессоров, которые тормозят пролиферацию и дифференциацию В-лимфоцитов и тем самым препятствуют размножению зараженных клеток. При выздоровлении появляются специфические Т-клетки памяти, которые убивают зараженные вирусом В-клетки после их рестимуляции. Эти клетки памяти циркулируют в крови переболевших пожизненно. Вируснейтрализующие антитела также сохраняются длительное время и защищают В-клетки от нового заражения свободным вирусом.

Лимфома Беркитта — опухоль верхней челюсти у детей и юношей в странах Африки. Карцинома носоглотки в основном поражает мужское население в Китае. Клетки

опухоли содержат множественные копии интегрированного генома вируса, в ядрах клеток выявляется антиген ЕВНА. В крови переболевших появляются антитела к капсидному антигену сначала класса IgM, затем класса IgG. Позднее появляются антитела к ранним антигенам МА и ЕВНА. Антитела сохраняются пожизненно. Для выявления вирусной ДНК в опухолевых клетках применяется метод МГ.

ОБЕЗЬЯНИЙ ВИРУС В

Вирус относится к группе псевдобешенства. В естественных условиях поражает обезьян церкопитеков. Описаны случаи энцефалита у людей при контакте с обезьянами.

Глава 3. СЕМЕЙСТВО ГЕПАДНАВИРУСОВ (HEPADNAVIRIDAE)

К семейству относятся вирус гепатита В, а также вирусы гепатита лесного сурка, земляной белки и пекинской утки. Первые три вируса имеют серологическое родство, последний стоит особняком.

ВИРУС ГЕПАТИТА В

Морфология. Виреоны гепатита В (частицы Дейна) сферической формы с диаметром 42—45 нм. Они состоят из сердцевины диаметром 27 нм, содержащей вирусную двунитчатую кольцевую ДНК, окруженную мембраной толщиной 2 нм; сердцевина окружена внешней липопротеидной оболочкой толщиной 7 нм. Наряду с полноценными вирионами встречаются в гораздо большем количестве частицы, состоящие лишь из фрагментов наружной оболочки. Они могут быть сферическими с диаметром 16—25 нм и нитевидными с диаметром 10—20 нм и длиной до 700 нм (рис. 37). Нитевидные структуры являются агрегатами сферических частиц. Частицы содержат поверхностный антиген вируса — HBs-антиген и накапливаются в результате избыточной продукции поверхностного компонента частиц Дейна. Частицы HBs антигена не обладают инфекционной активностью, однако, они являются маркером на возможное присутствие частиц Дейна в исследуемом материале.

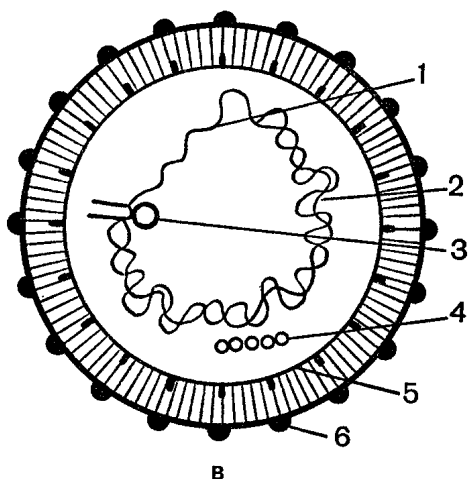
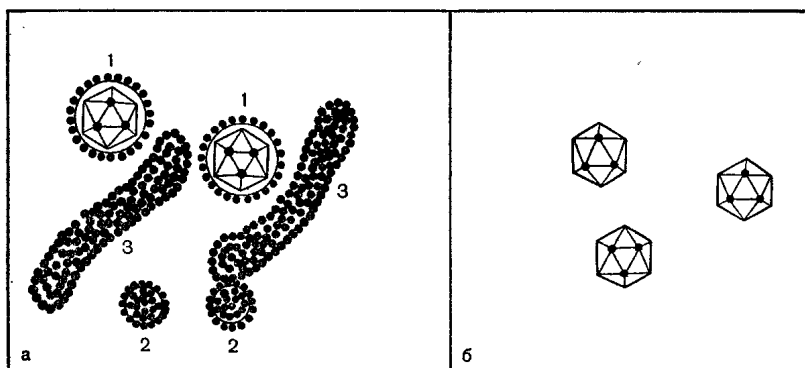


Рис. 37. Структура вируса гепатита В (схема). а — частицы Дейна (1) и частицы, содержащие НВс-антиген (2,3); б — сердцевина вирусных частиц после удаления наружной оболочки детергентом; в — структура частицы Дейна и расположение антигенов: 1 — однонитчатый участок ДНК; 2 — двунитчатый участок ДНК; 3 — ДНК-полимераза; 4 — НВе-антиген; 5 — НВс-антиген, 6 — НВс-антиген.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы, кроме ДНК, содержат белки, включая гликопротеиды, липиды, углеводы (в составе гликопротеидов). Частицы НВс-антигена являются липопротеидами. Плавающая плотность вирионов в хлориде цезия $1,24—1,26 \text{ г/см}^3$, плотность сердцевины $1,37—1,36 \text{ г/см}^3$, плотность частиц НВс-антигена $1,20—1,22 \text{ г/см}^3$.

Геном. Геном вируса гепатита В является уникальной структурой, представляющей двунитчатую кольцевую ДНК с однонитчатым участком. «Минус-нить» полная, с короткими перекрывающимися участками на 5'-концах. «Плюс-нить» неполная, ее 3'-конец имеет разную длину, разрыв достигает 30—40% длины ДНК. Дефект заполняется *in vivo* и *in vitro* благодаря активности вирусной эндогенной ДНК-полимеразы. Молекулярная масса ДНК

$2,1 \cdot 10^6$. ДНК имеет длину 1,06 мкм и содержит 3150 пар нуклеотидов.

Белки, антигены. В сердцевине вирионов находится ДНК-полимераза, НВе-антиген и НВс-антиген (антиген сердцевины). В свободном виде НВс-антиген не обнаруживается, он ассоциирован с частицей Дейна и выявляется в ядрах зараженных гепатоцитов. Напротив, НВе-антиген обнаруживается в свободном виде в крови обычно при наличии НВс-антигена.

Уникальную структуру представляет НВс-антиген с молекулярной массой $3,7 \cdot 10^3—4,6 \cdot 10^3$. В этом антигене содержатся липидные компоненты (фосфолипиды и гликолипиды), составляющие до 30% сухой массы, и 2 белка, из которых один является гликопротеидом с молекулярной массой $22 \cdot 10^3$. Основной антигенной детерминантой является детерминанта, общая для всех НВс-антигенов, эта детерминанта является протективным антигеном вируса. Имеются дополнительные две пары взаимоисключающих детерминант х или у и w или г. В итоге существует четыре основных подтипа НВс-антигена: adw-, ayw-, adr- и aug-. Описаны и другие антигенные детерминанты, связь которых с подтипами не установлена. Количество НВс-антигена в крови больных и носителей обычно на несколько порядков превышает содержание вируса и может достигать невероятно высоких цифр 10^{13} в 1 мл.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирионы чувствительны к эфиру и детергентам. Необычным свойством вирионов является устойчивость к высокой температуре: они выдерживают нагревание до 100°C в течение 1—2 мин, при этом устойчивость к температуре повышается, если они находятся в сыворотке крови. После 10-минутного кипячения инфекционная активность вируса утрачивается, но антигенность сохраняется. Антигенность сохраняется при низких значениях pH (2,4). Инфекционная активность и антигенность не утрачиваются при ультрафиолетовом облучении плазмы крови, хранении при температуре -20°C в течение многих лет, повторном замораживании и оттаивании.

Репродукция. Вирус гепатита В не культивируется в лабораторных условиях, что является препятствием для его накопления и изучения. Единственным восприимчивым животным является обезьяна шимпанзе. Получены перевиваемые культуры первичного рака печени, в которых геном вируса находится в интегрированном состоянии; культуры продуцируют НВс-антиген.

В связи с отсутствием лабораторной модели схема репродукции вируса гепатита В в известной степени основана на гипотетических данных. Вирус проникает в клетки печени (гепатоциты) благодаря наличию на их поверхности специфических рецепторов, после разрушения наружных оболочек освобождается внутренний компонент, имеющаяся в его составе вирусная ДНК-полимераза достраивает недостающий участок второй нити ДНК. Инфекция может проходить по одному из двух механизмов — продуктивному или интегративному. При продуктивном типе инфекции происходит транскрипция ДНК с помощью клеточных ферментов, образование иРНК, синтез вирусных белков. Репликация ДНК происходит по уникальному способу с использованием в качестве промежуточной формы не ДНК, а РНК. Цикл репродукции оканчивается сборкой вирусных частиц в цитоплазме гепатоцитов с участием мембран ретикулоэндотелиальной системы. При интегративной инфекции после достройки второй нити ДНК происходит интеграция ДНК с клеточным геномом вблизи сильного промотора, возможно, в области альбуминовых генов. В этом случае клетка начинает в огромном избытке производить HBs-антиген.

Патогенез и клиника определяются возможностью протекания заболевания в виде продуктивной и интегративной инфекции. Вирус попадает в кровь парентеральным путем и с током крови транспортируется в печень. Заболевание развивается после продолжительного (3—6 мес) инкубационного периода и сопровождается симптомами, связанными с поражением и гибелью гепатоцитов. Цитолиз осуществляется иммунокомпетентными клетками, распознающими вирусные антигены на клеточной поверхности. Гибель гепатоцитов обуславливает выход из них вируса и повторную волну вирусемии, приводящую к вторичной генерализации инфекции. Заболевание протекает тяжело, с высокой летальностью в результате острой дистрофии печени и имеет тенденцию к переходу в хроническую форму (в 6—15% случаев). Хронический гепатит является одним из факторов, приводящих к первичному раку печени. При интегративной инфекции цитолиз гепатоцитов не наступает и клетки длительное время продуцируют HBs-антиген, который секретируется в плазму крови. Носительство HBs-антигена может возникнуть и в результате перенесенной инаппарантной (бессимптомной) инфекции, и может продолжаться многие годы и даже пожизненно.

Особым обстоятельством,отягощающим течение гепа-

тита В, является присутствие РНК-содержащего вируса — дельта-фактора, который передается парентерально от человека к человеку. Дельта-фактор является дефектным вирусом и его репродукция зависит от вируса гепатита В. Частица имеет диаметр 36 нм, содержит РНК с молекулярной массой 550 000 и дельта-антиген, и покрыта HBs-антигеном. Дельта-фактор локализован в ядрах гепатоцитов, он высоко патогенен и в сочетании с вирусом гепатита В вызывает тяжелые формы заболевания — хронический активный гепатит и цирроз печени. Маркером на присутствие дельта-фактора являются анти-дельта-антитела.

Иммунитет. При заболевании формируется специфический иммунитет, который в большинстве случаев приводит к освобождению организма от вируса. Образование антител индуцируют три вирусных антигена — HBs, HBc, и HBe. Основным антигеном, индуцирующим протективные антитела, является HBs-антиген. В период реконвалесценции обнаруживаются антитела ко всем трем антигенам. Показателями перенесенной острой инфекции являются анти-HBc и анти-HBe-антитела, в то время как анти-HBs-антитела могут обнаруживаться и у носителей. Большое значение в развитии болезни имеют особенности иммунного ответа и аутоиммунные процессы. Снижение Т-клеточного иммунитета и уменьшение числа хелперов является неблагоприятным прогностическим признаком, активный Т-клеточный и стойкий гуморальный иммунитет определяют благоприятный исход и выздоровление. Переход в хроническую форму обусловлен иммунопатологическим состоянием организма, при котором повышается активность Т-клеток — супрессоров, тормозящих мобилизацию киллеров и элиминацию зараженных клеток. Иммунные реакции при хроническом гепатите отличаются от иммунных процессов при острой инфекции: отсутствуют сенсibilизация иммуноцитов к печеночному липопротеину, анти-HBs-антитела и т. д.

Эпидемиология. Основным механизмом передачи инфекции — парентеральный. Процедуры, способствующие заражению гепатитом В, разнообразны: хирургические вмешательства, пластические операции, массовые прививки, взятие крови для анализов, зубоврачебные процедуры, маникюр, педикюр и т. п. Наибольший риск инфицирования имеется при переливании крови или ее препаратов. Заражение возможно при близком бытовом контакте и половым путем, в основе которых также лежит парен-

теральный путь передачи. Возможна передача вируса от беременной матери к плоду либо путем трансплацентарной передачи вируса, либо во время родов и после родов, через молоко, слюну или сыворотку матери, поскольку практически все биологические жидкости организма у больных гепатитом В содержат вирус.

Важнейшими моментами эпидемического процесса при гепатите В являются: 1) длительное хроническое носительство как главный резервуар инфекции в природе; 2) вовлечение в эпидемический процесс взрослых в связи с частыми переливаниями крови и медицинскими манипуляциями и детей первого года жизни; 3) наличие групп высокого риска заражения; 4) отсутствие сезонности заболевания.

Основным серологическим маркером перенесенной и хронической инфекции является HBs-антиген. Носительство HBs-антигена среди населения разных географических зон СССР обнаруживается от 1 до 5% случаев.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследований является кровь больного. Для ранней диагностики широко используют биохимические показатели сыворотки больных, отражающие функциональное состояние печени.

Специфическими тестами для индикации HBs-антигена в сыворотках больных являются метод иммунодиффузии в агаре и встречный иммуноэлектрофорез (диагностические методы первого поколения), РОПГА (второго поколения), ИФА и РИА (третьего поколения). Наибольшей чувствительностью обладают два последних метода. HBs-антиген выявляется в сыворотках крови больных через 1—4 нед после заражения и за несколько недель до повышения уровня ферментов в сыворотке, которое опережает развитие клинических симптомов заболевания на 1—2 нед. Количество HBs-антигена достигает максимального уровня в разгар заболевания, в последующие 3 мес его количество либо снижается, либо циркуляция HBs-антигена продолжается; его обнаружение через год после заболевания свидетельствует о развитии хронического гепатита или бессимптомного носительства. Таким образом, выявление HBs-антигена в крови не является признаком острой инфекции, и если количество антигена в динамике не изменяется, то это свидетельствует о бессимптомном носительстве. Напротив, выявление в крови HBe-антигена одновременно с HBs-антигеном указывает на наличие острой инфекции и обусловлено активной репродукцией вируса.

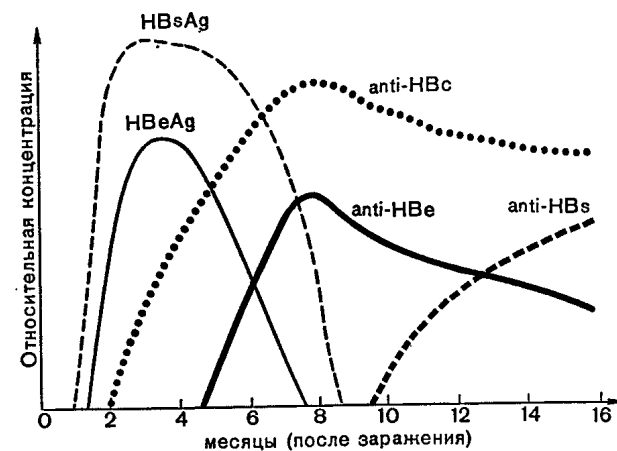


Рис. 38. Динамика появления серологических маркеров гепатита В.

Продолжительное персистирование HBe антигена связано с хронизацией процесса.

Анти-HBs-антитела можно обнаружить через 1—3 мес после исчезновения HBs-антигена, они присутствуют в крови в течение 3—4 лет. Анти-HBc-антитела появляются в крови через 3—5 нед после появления HBs-антигена. Они имеют особую диагностическую ценность, поскольку в течение 1—2 мес заболевания могут быть серологическим маркером. HBe-антиген обнаруживается в крови в инкубационном периоде, вскоре после появления HBs-антигена, и снижается при появлении желтухи. Через 1—3 нед появляются анти-HBe-антитела, которые сохраняются в невысоких титрах в течение нескольких месяцев (рис. 38).

Диагноз обычно основан на обнаружении HBs- и HBe-антигенов, анти-HBc- и анти-HBe-антител классов IgM и IgG. Вначале кровь повторно обследуется на HBs-антиген. При его отсутствии (что случается примерно в 10% случаев) сыворотки исследуют на наличие анти-HBc и анти-HBe. Присутствие анти-HBc-антител класса IgM достоверно свидетельствует об остром гепатите В. Высокие и стабильные титры анти-HBc свидетельствуют о наличии хронического процесса (табл. 22). Антитела к HBs- и HBe-антигенам выявляются с помощью методов ВИЭФ, РПГА, ИФА и РИА.

Профилактика. Основана на предупреждении заражения при парентеральных процедурах. С этой целью устраивают центральные стерилизационные для шприцев и

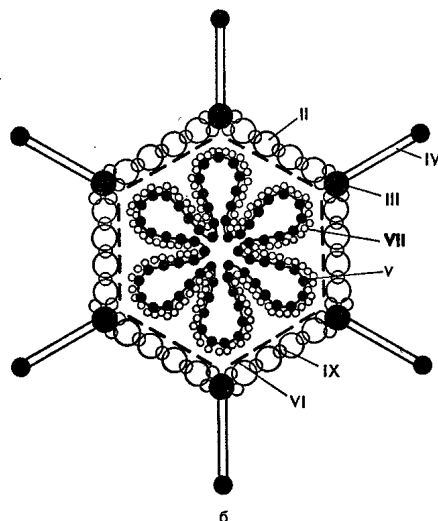
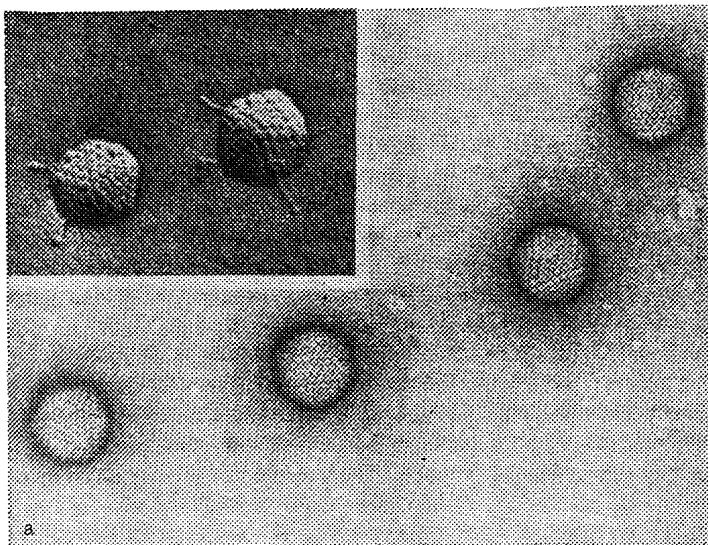


Рис. 39. Вирионы аденовируса.
а — электронно-микроскопическое изображение; б — схема строения вириона, римскими цифрами обозначены основные белки вируса; в центре — дезоксирибонуклеопротеид, содержащий вирусный геном.

АДЕНОВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА

Морфология. Вирионы (рис. 39) имеют форму икосаэдра диаметром 70—90 нм, состоящего из 252 капсомеров с диаметром 7—9 нм. Из них 240 капсомеров образуют 20 равносторонних треугольников, каждый имеет шесть соседних капсомеров и потому называется гексоном.

Гексон построен из 3—6 молекул белка II, составляющего около 50% от всех белков вириона. Группы из девяти гексонов связаны с двумя дополнительными минорными белками (VIII и IX). На двенадцати вершинах икосаэдра имеются булавовидные выступы длиной от 8 до 30 нм с головкой на конце величиной 4 нм. Они отходят от вершин двенадцати капсомеров, имеющих пять соседних. Эти капсомеры вместе с выступами называются пентонами, капсомеры — основанием пентонов, нити — фибрами. Внутри капсида находится сердцевина с диаметров 66 нм, представляющая правильно организованную структуру из 12 петель. Вершины петель совпадают с вершинами капсида, и на срезе вириона сердцевина образует фигуру, подобную цветку. Петли образованы дезоксирибонуклеопротеидом, состоящим из ДНК и ассоциированным с ним белком VII. Второй внутренний белок V находится на наружной поверхности петель. В сердцевине локализуются также белки VI, X.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат ДНК и белки. Среди белков есть гликопротеиды в составе фибров. ДНК составляет 12—13% от сухой массы, капсидные белки — 60%, внутренние белки — 12—20%. В вирионах нет липидов. Плавающая плотность их в хлориде цезия 1,328—1,340 г/мл, коэффициент седиментации 560—800S, молекулярная масса $170 \cdot 10^3$ — $175 \cdot 10^6$.

Геном аденовирусов представляет двунитчатую линейную ДНК с молекулярной массой $20 \cdot 10^6$ — $25 \cdot 10^6$ (чаще $22 \cdot 10^6$). ДНК содержит терминальные инвертированные повторы длиной 100—140 нуклеотидных пар, позволяющие образовывать кольцевые молекулы. На 5'-концах обеих нитей ДНК находится ковалентно связанный с остатком дезоксицитидиловой кислоты терминальный белок, который необходим для инициации репликации ДНК: его удаление приводит к значительному снижению инфекционной активности. Аденовирусы, обладающие онкогенными свойствами для животных, по нуклеотидному составу ДНК отличаются от неонкогенных вирусов. Для высокоонкогенных вирусов содержание ГЦ-пар равно 48—49%, у малоонкогенных — 49—52%, у неонкогенных — 56—59%. За функцию трансформации клеток ответствен ген, составляющий 12—14% вирусного генома с левой стороны.

Белки, антигены. Белки составляют 86—88% массы вириона, число их более 20 с молекулярной массой от

$7 \cdot 10^3$ до $110 \cdot 10^3$. В составе вириона содержатся как мажорные, так и минорные белки. В вирионе имеется не менее 7 антигенов. Четыре комплементсвязывающих антигена обозначены буквами А, В, С и Р (табл. 23). А-антиген связан с гексоном, В-антиген — с основанием пентона, С-антиген — с фибрами, Р-антиген является внутренним антигеном, освобождающимся при разрушении вириона; этот антиген отличается крайней нестабильностью. А-антиген является группоспецифическим, общим для всех аденовирусов человека. Однако у гексонов имеются и типоспецифические детерминанты. Р-антиген также группоспецифический. По В-антигену, являющемуся подгрупповым антигеном, все аденовирусы человека разделены на 3 подгруппы. С-антиген является типоспецифическим антигеном.

Таблица 23. Характеристика основных белков аденовирусов

Название	Число молекул в вирионе	Молекулярная масса	Антигены	
			название	специфичность
Гексон	240	$350 \cdot 10^3$ $400 \cdot 10^3$	А	Групповая
Пентон	12			
Основание пентона	12	$85 \cdot 10^3$	В	Подгрупповая
Фибры	12	$70 \cdot 10^3$	С	Типовая
Белки сердцевинны		$48 \cdot 10^3$ $24 \cdot 10^3$ $18 \cdot 10^3$	Р Р Р	Групповая — „ — — „ —

Вирусы обладают гемагглютинирующей активностью, которая обусловлена пентоном. По особенности агглютинировать разные виды эритроцитов аденовирусы делятся на 3 подгруппы. Вирусы подгруппы А агглютинируют эритроциты макаков резусов, но не крыс (типы 3, 7, 11, 14, 16, 20, 21, 25, 28). Вирусы подгруппы В агглютинируют эритроциты крыс, но не обезьян (типы 8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 22, 24, 26, 27, 29, 30). Наконец, подгруппа С слабо агглютинирует эритроциты крыс и не агглютинирует эритроциты обезьян (типы 1, 2, 4, 5, 6). Типы 12, 18 и 31 не обладают гемагглютинирующей активностью. РТГА используется для типоспецифической идентификации вирусов.

Устойчивость к физическим и химическим антигенам. Аденовирусы более устойчивы во внешней среде, чем другие вирусы человека. Они устойчивы в пределах pH 5,0—9,0, выдерживают прогревание при температуре 50°C , до 70 дней сохраняют активность при температуре 4°C , хранятся без потери активности в замороженном состоянии и при лиофилизации. Поскольку вирусы не содержат липиды, они устойчивы к действию эфира, хлороформа, детергентов.

Репродукция. Вирионы прикрепляются фибрами к специфическим рецепторам клетки и проникают в них путем рецепторного эндоцитоза. Разделение их начинается в цитоплазме и завершается в ядре. Конечным продуктом разделения является ДНК, ассоциированная на 5'-концах с терминальными белками. Транскрипция генома осуществляется клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой. В ранней стадии происходит лишь ограниченная транскрипция, которая идет на четырех отдельных участках генома, продуктами ее в основном являются иРНК для неструктурных белков. Поздняя транскрипция идет в направлении, противоположном ранней транскрипции с образованием около 13 классов иРНК. Поздняя транскрипция происходит после синтеза вирусной ДНК и ее продуктами в основном являются иРНК для структурных белков.

Репликация ДНК происходит в ядрах и обеспечивается клеточными системами синтеза ДНК, а также вирусспецифическими ферментами — продуктами ранней транскрипции.

Сборка вирионов происходит в ядрах и является многоступенчатым процессом. Вначале полипептиды образуют мультимерные белковые структуры — фибры и гексоны, затем образуются капсиды и более крупные структуры — незрелые вирионы. Вирионы образуют в ядре кристаллоподобные укладки (см. рис. 6,а). В ядре накапливаются и пустые капсиды, в которых нет сердцевинны, а также вирионы с меньшим количеством ДНК (неполные формы). Выход вирионов происходит при разрушении клетки. Каждая клетка способна продуцировать около миллиона вирусных частиц, однако лишь небольшое их количество выходит из клетки, а остальные остаются связанными с клеточными ядрами. В ядрах скапливаются вирусспецифические продукты, которые нарушают функцию ядра. В пораженной клетке появляются внутриядерные включения, она округляется и дегенерирует. Инфекционный цикл продолжается 14—24 ч.

Аденовирусы человека по онкогенным свойствам разделяют на 3 группы: А — высокоонкогенные, Б — слабоонкогенные и В — неонкогенные. У человека аденовирусы даже при длительной персистенции не вызывают неопластических процессов, и их трансформирующие свойства выявлены в опытах на культурах клеток и лабораторных животных — хомяках, крысах, мышах, кроликах. При трансформации происходит интеграция генома аденовирусов с клеточным геномом.

Аденовирусы (за исключением серотипов 38—41) хорошо размножаются в первичных и перевиваемых культурах клеток различного происхождения, вызывая два типа цитопатических изменений: округление клеток и их скопления, напоминающие гроздь винограда, которые вскоре отслаиваются от стекла, и мелкоклеточную дегенерацию с образованием мелких круглых клеток, диффузно располагающихся по всему слою культуры. В культурах фибробластов цитопатическое действие гораздо слабее, чем в культурах эпителиальных клеток. В зараженных клетках появляются внутриядерные включения.

Патогенез. Аденовирусы размножаются в эпителии слизистой оболочки верхних дыхательных путей; в клетках эпителия появляются характерные внутриядерные базофильные включения и скопления специфических антигенов. Вирус может проникать в легкие, размножаться в эпителии слизистой оболочки бронхов и альвеол и вызывать тяжелые пневмонии. Аденовирусы могут попадать в кишечник и размножаться в эпителии слизистой оболочки кишечника, вызывая гастроэнтериты (серотипы 40 и 41); при этом они в большом количестве выделяются с фекалиями больных. В кишечник вирусы попадают при фекально-оральном пути передачи или заносятся кровью.

Аденовирусы поражают лимфоидную ткань: миндалины, аденоиды, регионарные лимфатические узлы. Часто встречается вирусемия.

Клиника. Аденовирусы поражают дыхательный тракт, глаза, лимфоидное кольцо глотки, кишечник, мочевой пузырь, вызывая в разной степени выраженную общую реакцию (лихорадку, интоксикацию), связанную с вирусемией. Наиболее часты поражения дыхательного тракта: риниты, ларингиты, трахеобронхиты, пневмонии, описываемые как фарингоконъюнктивальная лихорадка. При заболеваниях, вызываемых типами 3 и 7, реже типами 1, 2, 5 и 6, преобладающим симптомом является конъюнктивит. Типы 8 и 19 вызывают эпидемический керато-

конъюнктивит, типы 11 и 21 — острые геморрагические циститы у детей, типы 40 и 41 — гастроэнтериты. Характерной чертой аденовирусных заболеваний является более длительный инкубационный период по сравнению с таковым других респираторных инфекций (6—9 дней), медленное развитие и длительное течение. Респираторный, конъюнктивальный и кишечный синдромы заболевания могут сочетаться с доминированием одного из них либо встречаться порознь. Вирус способен длительно персистировать в ткани миндалин и аденоидов, периодически вызывая ангины или приводя к развитию хронического тонзиллита.

Иммунитет. Перенесенная аденовирусная инфекция сопровождается выработкой устойчивого типоспецифического иммунитета, который, однако, не защищает от заболевания, вызываемого другим серотипом вируса. Основными протективными антителами являются вируснейтрализующие антитела. У новорожденных материнские антитела исчезают к 6 мес, но уже к 1-му году жизни у 50% детей появляются антитела к нескольким типам вируса.

В Москве у детей наиболее часто нейтрализующие антитела обнаруживаются к типам 1 (62%) и 3 (52%), реже выявляются антитела к типам 2 и 5, наименьшее количество антител появляется к типам 4, 6, 7, 8, 14, 21. С 7 до 19 лет количество нейтрализующих антител к различным типам увеличиваются. У взрослых антитела имеются к большому числу типов.

В сыворотках переболевших обнаруживаются вначале IgM-, затем IgG-антитела, в отделяемом носоглотки — IgA- и IgG-антитела.

Эпидемиология. Аденовирусная инфекция передается воздушно-капельным путем, через предметы обихода, а также через воду в плавательных бассейнах. Возможен фекально-оральный путь заражения. Заболевания имеют осенне-зимнюю сезонность, наблюдаются как спорадические случаи, так и вспышки. Удельный вес аденовирусных заболеваний у детей в возрасте от 6 мес до 2 лет составляет более 20%, у детей старше 3 лет — 12%, с увеличением возраста удельный вес аденовирусных заболеваний снижается.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования в острой стадии болезни являются отделяемое носоглотки, конъюнктивы и кровь, которые берут в течение первой недели заболевания, и фекалии, полученные в течение 10 дней после начала заболевания. От трупов

берут для выделения вирусов кусочки трахеи, бронхов, легких, кишечника, регионарных лимфатических узлов. Материал пересылают и хранят в замороженном состоянии.

Быстрая диагностика. Специфический антиген в клетках эпителия слизистой оболочки носоглотки выявляют с помощью ИФ, а также РИА и ИФА. Для выявления в стуле кишечных аденовирусов применяют метод МГ. Реакция приобретает большое значение для выявления аденовирусов, которые не культивируются в лабораторных условиях (типы 38—41) и не могут быть выделены из клинических проб.

Выделение вируса. Аденовирусы размножаются и вызывают цитопатический эффект во многих первичных и перевиваемых культурах клеток, но для их выделения лучше всего использовать первичные культуры почек эмбриона человека или диплоидные линии клеток эмбриона человека, которые являются наиболее чувствительными ко всем типам аденовирусов. К зараженным культурам не добавляют бычью сыворотку, так как она ингибирует репродукцию аденовирусов. Вирусы выявляют по цитопатическому действию, которое проявится в течение 10—14 дней культивирования.

Идентификацию выделенного вируса проводят в РСК с иммунной сывороткой к любому типу аденовируса, титрование вируса — в РН в культуре клеток. Для экономии культур клеток вначале ставят РН со смесями типоспецифических сывороток, а затем — отдельно с каждой сывороткой из смеси, нейтрализовавшей ЦПД вируса. Для титрования аденовирусов, вызывающих мелко-клеточную дегенерацию, используют первично-трипсинизированные культуры клеток почек обезьян, эмбрионов кроликов, морской свинки. Для титрования гемагглютинирующих аденовирусов используют РТГА с эритроцитами обезьян или крыс. С эритроцитами обезьян реакцию проводят при 37° С, крыс — при комнатной температуре и при 4° С. Предварительно сыворотки обрабатывают каолином или взвесью эритроцитов для удаления неспецифических ингибиторов.

Серологическая диагностика. Парные сыворотки больных исследуют в РСК с любым типом аденовирусов. При необходимости уточнения типа аденовируса применяют РН. В связи с возможностью появления в сыворотках реконвалесцентов гетерологических нейтрализующих антител для точной расшифровки вспышки тре-

буется выделение вируса от больных и его типирование.

Специфическая профилактика и лечение. При кератитах и кератоконъюнктивитах эффективен интерферон. Против аденовирусов отдельных типов получены живые и убитые вакцины.

Противоэпидемические мероприятия проводятся такие же, как и при других дыхательных путей инфекциях. Для профилактики кератоконъюнктивита необходимо соблюдение асептических условий при исследовании глаз.

Глава 5. СЕМЕЙСТВО ПАПОВАВИРУСОВ (PAROVAVIRIDAE)

Название «папова» происходит от первых слогов двух букв названий вирусов, включенных в это семейство: 1) вирусы папилломы человека, кроликов, коров и собак, 2) вирусы полиомы мышей, 3) обезьяний вакуолизирующий вирус (SV40). В семействе выделяют два рода: папилломавирусы (молекулярная масса ДНК— $5 \cdot 10^6$, диаметр вирионов 55 нм) и полиомавирусы (молекулярная масса ДНК— $3 \cdot 10^6$, диаметр вирионов 45 нм). Из этого семейства наиболее изучен SV40, патогенный для обезьян. Однако некоторые паповавирусы, патогенные для человека, имеют родственные антигены (Т-антиген) с SV40, и этот вирус вызывает злокачественную трансформацию клеток человека в культуре ткани.

ОБЕЗЬЯНИЙ ВИРУС 40 (SV40)

Морфология. Диаметр вирионов 45—55 нм. Вирионы содержат ДНК, заключенную в капсид икосаэдральной симметрии, состоящий из 72 капсомеров. Вирионы не имеют оболочки. Встречаются нитевидные формы. Из шести структурных белков три являются вирусспецифическими (VP1, VP2, VP3); первый из них образует гексоны, а два — пентоны. ДНК внутри вириона ассоциирована с тремя структурными белками, являющимися клеточными гистонами.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат белки и ДНК, не содержат липиды и углеводы. Молекулярная масса вирионов $25 \cdot 10^6$ — $47 \cdot 10^6$, плавающая плотность в хлориде цезия 1,32 г/см³.

Геном. Геном представляет кольцевую сверхспирализованную ДНК с молекулярной массой $3 \cdot 10^6$. Уникаль-

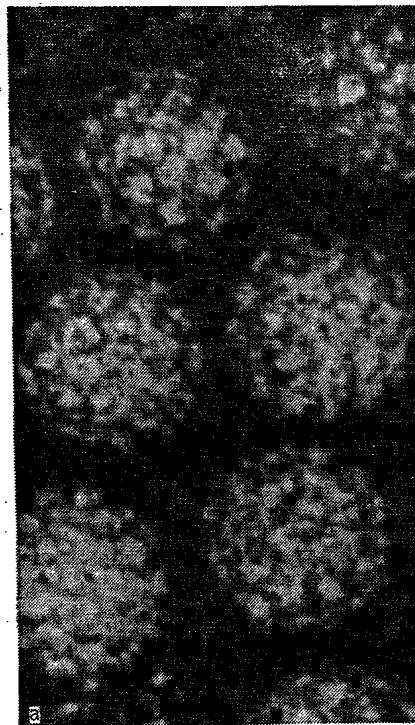


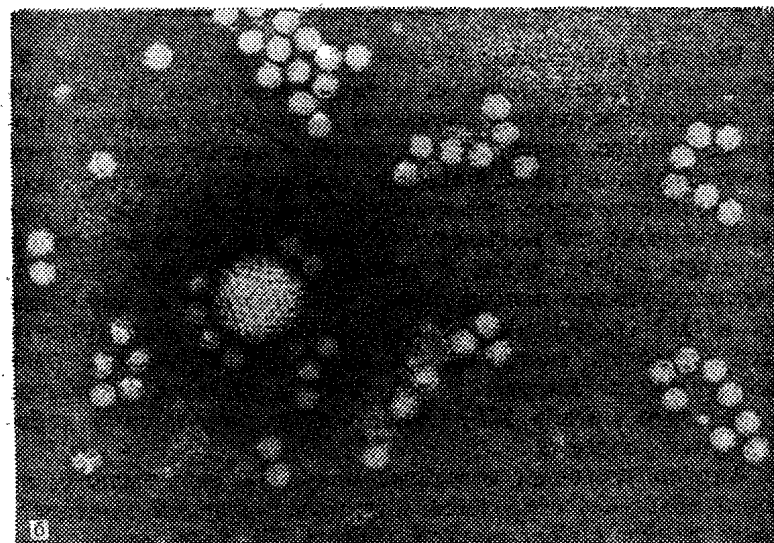
Рис. 40. ДНК-содержащие вирусы человека (электронно-микроскопическое изображение).
а — вирус папилломы человека;
б — аденоассоциированный вирус и вирион аденовируса.

ной особенностью генома паповавирусов является его организация в виде минихромосомы, очень сходной с хромосомами клетки.

Белки и антигены. Вирион содержит 3 вирусспецифических белка VP1, VP2 и VP3. Белок VP1 является главным белком вириона, из которого построен капсид. Его молекулярная масса $45 \cdot 10^3$, $48 \cdot 10^3$, он содержится в количестве 4200 молекул на вирион. Белки VP1 (молекулярная масса $32 \cdot 10^3$ — $53 \cdot 10^3$) и VP3 (молекулярная масса $23 \cdot 10^3$) являются минорными белками. Внутри вириона находятся минорные белки VP4, VP5 и VP6, которые являются клеточными гистонами. В зараженных клетках вирус индуцирует образование неструктурных белков, из которых наиболее важны большой и малый Т-антигены и опухолевый специфический трансплантационный антиген (ОСТА).

Репродукция. SV40 является удобной моделью для изучения экспрессии вирусного генома в эукариотической клетке. Весь геном построен с большой изобретательностью и организован с максимальной экономией имеющейся в нем информации.

При заражении чувствительных клеток SV40 может возникнуть продуктивная инфекция или интегративная, за которой следует онкогенная трансформация клетки. После адсорбции на клеточных рецепторах вирус проникает в клетку путем эндоцитоза и транспортируется к ядру, в ядре происходит его раздевание и начинается ранняя транскрипция на одной, «ранней», нити генома. Неструктурные белки, необходимые для репликации ДНК, закоди-



рованы в гене А. Репликация ДНК осуществляется клеточными ферментами, для инициации ее необходим Т-антиген. В процессе репликации участвует специальный белок, вызывающий разрыв одной нити в сверхспирализованной кольцевой молекуле. При раскручивании спирали ДНК появляется возможность для транскрипции второй нити и начинается поздняя транскрипция, которая происходит одновременно с репликацией ДНК, поэтому оба белка содержат одинаковые последовательности аминокислот. Ген белка VP1 перекрывает гены белков VP2 и VP3 за счет избыточных нуклеотидов и считывается в другой рамке. Сборка вирионов происходит в ядре. Сначала происходит ассоциация вирионной ДНК с клеточными гистонами, затем самосборка нуклеокапсидов, зрелые вирионы накапливаются в ядрах в виде кристаллообразных скоплений, которые освобождаются из клетки при ее гибели. Хотя SV40 трансформирует клетки человека в культуре клеток, однако он не обладает онкогенными потенциями для человека. Об этом свидетельствуют наблюдения над десятками миллионов детей (ныне взрослых), которым в первые годы массовых прививок против полиомиелита был введен вирус, контаминирующий клетки почек обезьян, на которых получали вакцину. Последующие тщательные наблюдения над этими контингентами показали полную безвредность SV40 для человека.

ВИРУСЫ ПАПИЛЛОМЫ И ПОЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Вирусы папилломы человека. Насчитывают около 33 серотипов таких вирусов. Папилломавирусы (рис. 40) вызывают образование папиллом и кандилом в области половых органов, ануса, на слизистой оболочке полости рта, дыхательных путей и пищеварительного тракта. Возможно злокачественное перерождение папиллом. Некоторые папилломавирусы вызывают образование злокачественных опухолей — рака кожи и гениталий (серотипы 5 и 8). Персистирующие папилломавирусы (в основном серотипы 16 и 18) регулярно обнаруживаются в злокачественных опухолях гениталий, в основном в клетках рака шейки матки. Вирусы в опухолевых клетках выявляют с помощью метода МГ. Они не культивируются в лабораторных условиях.

Вирусы полиомы человека. Вирус JC был выделен из мозга человека, страдавшего прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией. Вирус BK был выделен из мочи больного с трансплантированной почкой. Роль этих вирусов в развитии заболеваний человека неясна. Имеется серологическое родство с SV40. Антитела к вирусам BK и JC обнаруживаются у большинства людей.

Глава 6. СЕМЕЙСТВО ПАРВОВИРУСОВ (PARVOVIRIDAE)

Парвовирусы (от лат. *parvus* — маленький) поражают млекопитающих, птиц, насекомых. Они делятся на две большие группы: недефектные вирусы, способные к автономной репродукции (роды *Parvovirus*, *Densovirus*) и дефектные, которые реплицируются лишь в присутствии вируса-помощника (род *Dependovirus*, от лат. *dependere* — зависимый). У человека обнаружены представители рода *Dependovirus* — аденоассоциированные вирусы или аденосателлиты.

АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСЫ

Аденоассоциированные вирусы обнаружены в процессе выделения и культивирования аденовирусов человека.

Морфология. Это самые мелкие изометрические вирусы с диаметром 18—26 нм. Вирионы содержат одонитчатую ДНК, заключенную в капсид с икосаэдр-

альной симметрией, состоящий из 32 капсомеров с диаметром 3—4 нм. Оболочки не имеют (см. рис. 38,б).

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат белки и ДНК, не содержат липиды и углеводы. Молекулярная масса вирионов $5,5 \cdot 10^6$ — $6,2 \cdot 10^6$. Коэффициент седиментации 104—138 S плавучая плотность в хлориде цезия $1,4 \text{ г/см}^3$.

Геном. Геном представлен одонитчатой ДНК с молекулярной массой $1,5 \cdot 10^6$ — $2 \cdot 10^6$. Коэффициент седиментации ее 15—27 S, длина 1,4—1,5 мкм. В популяции существуют вирионы, имеющие основную и комплементарную ДНК, которые образуют двонитчатую структуру при фенольной экстракции. «Плюс»- и «минус-нити» ДНК находятся в отдельных вирионах («плюс»- и «минус-вирионы») примерно в одинаковых количествах.

Белки, антигены. Аденоассоциированные вирусы имеют три структурных белка с молекулярными массами $85 \cdot 10^3$, $72 \cdot 10^3$ и $61 \cdot 10^3$ и два неструктурных белка с молекулярными массами $25 \cdot 10^3$ и $16 \cdot 10^3$. Существует 5 серотипов вирусов. Все вирусы имеют общий антиген, выявляемый с помощью РИФ.

Репродукция. Хотя в вирионах содержится ДНК разной полярности, транскрибируется только «минус-нить». Репродукция происходит в ядре и зависит от функции вируса — помощника. При транскрипции образуется три основных транскрипта, которые имеют общий 3'-конец. Самая короткая иРНК кодирует все три вирусных структурных белка. Другие транскрипты кодируют неструктурные белки.

Роль аденоассоциированных вирусов в патологии человека не установлена, хотя предполагается, что они влияют на развитие аденовирусной инфекции. Для выявления их используют методы ЭМ, а также ИФ.

Лабораторная диагностика. Основана на методе МГ.

Глава 7. СЕМЕЙСТВО РЕОВИРУСОВ (REOVIRIDAE)

Реовирусы представляют собой обширную группу вирусов, поражающих млекопитающих, птиц, клещей, насекомых, растения. Среди вирусов, поражающих животных, выделены три рода: собственно реовирусы, ротавирусы и орбивирусы. Последние являются зоонозами с природной очаговостью; некоторые из них могут быть патогенными для человека. Реовирусы могут поражать

клетки эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и пищеварительного аппарата, откуда они и получили свое название (Respiratory enteric orphan viruses).

РЕОВИРУСЫ

Морфология. Вирионы имеют диаметр 60—70 нм и состоят из двунитчатой РНК, покрытой двумя капсидными белковыми оболочками — внутренней и наружной. Капсид имеет икосаэдральную симметрию. Наружный капсид состоит из 32 капсомеров с диаметром 18 нм, он может быть удален путем обработки химотрипсином или детергентами. Частица с удаленным наружным капсидом называется сердцевинкой. Она имеет 12 пятиугольных фасеток, образованных капсомерами внутреннего капсида, в центре которых находятся отростки диаметром 10 нм с внутренним каналом, через него выходят наружу вновь синтезированные молекулы иРНК (см. рис. 17).

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат РНК (14% от их массы) и белки. В сердцевине вирионов имеются 3000 молекул одонитчатых олигонуклеотидов, которые составляют 25% от всей РНК. Липиды отсутствуют. Углеводы входят в состав гликопротеидов, находящихся в составе наружного капсида. Молекулярная масса вирионов $130 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 740 S, плавучая плотность в хлориде цезия 1,36—1,39 г/см³.

Геном реовирусов состоит из 10 фрагментов двунитчатой РНК. Каждый фрагмент РНК представляет собой отдельный ген. Для возникновения инфекционного процесса необходимо наличие всех фрагментов РНК.

Белки, антигены. Восемь полипептидов являются структурными белками и обозначаются греческими буквами: $\lambda 1$, $\lambda 2$, и $\lambda 3$ (1400—1500 аминокислотных остатков); $\mu 1$ и $\mu 2$ (700—800 аминокислотных остатков); $\sigma 1$, $\sigma 2$ и $\sigma 3$ (350—400 аминокислотных остатков). Пять полипептидов входят в состав сердцевинки, три — $\mu 1C$, $\sigma 1$ и $\sigma 3$ — в состав наружного капсида. Белок $\sigma 1$ обеспечивает специфическое связывание с клеточными рецепторами и определяет тропизм вируса к определенным клеткам. Этот же белок является вирусным гемагглютинином. Он представляет собой основной типоспецифический антиген. Тем не менее, количество этого белка на поверхности вирионов мало — 24 молекулы на вирусную частицу и 1% от сухой массы всех белков.

Белок $\mu 1C$ обеспечивает проникновение вируса в клетку и его распространение в организме. Этот белок образуется путем протеолитического нарезания белка $\mu 1$. В наибольшем количестве на поверхности вируса представлен белок $\sigma 3$, однако функции его точно не установлены.

Известны три серотипа реовирусов человека. Они имеют общий комплементсвязывающий и типоспецифические антигены. Вирусы всех трех серотипов агглютинируют эритроциты человека группы 0, а вирус 3-го серотипа, кроме того, и эритроциты крупного рогатого скота.

В сердцевине вирионов имеется РНК-зависимая РНК-транскриптаза, которая становится активной после удаления наружного капсида. Имеются также фосфогидролаза, гуанилтрансфераза и метилтрансфераза (ферменты для синтеза «шапочки»).

Устойчивость к физическим и химическим агентам. Вирусы устойчивы к прогреванию при температуре 56°C в течение 2 ч, стабильны при pH 2,2—8,0, устойчивы к эфиру, детергентам. Относительно устойчивы они и к действию ряда химических веществ, включая 3% раствор формалина и 1% раствор перекиси водорода.

Репродукция. Вирус проникает в клетку посредством эндоцитоза и транспортируется в лизосомы. В лизосомах клеточные протеолитические ферменты типа химотрипсина разрушают наружный капсид и геном начинает функционировать в составе модифицированных сердцевин. Транскрибируется преимущественно одна нить генома с образованием большого количества «плюс-нитей», которые выходят через центральные каналы. Снабженные «шапочкой» и полиаденилатовой последовательностью «плюс-нити» функционируют как иРНК. Другие «плюс-нити» участвуют в репликации и входят в состав вновь синтезированных молекул генома.

Транскрипция и репликация в зараженной клетке строго регулируются. В процессе транскрипции образуются ранние и поздние иРНК. Ранние иРНК синтезируются с 4 фрагментов РНК, поздние иРНК — со всех 10 фрагментов генома. Каждый фрагмент кодирует один полипептид, однако некоторые продукты трансляции нарезаются с образованием двух зрелых белков. Транскрипция, репликация и сборка вирусных частиц осуществляются в специальных участках в цитоплазме — «фабриках». Вирус выходит из клетки при ее гибели.

Реовирусы хорошо размножаются в культурах клеток

разного происхождения — клетки почек обезьян, фибробласты эмбриона человека, перевиваемые линии клеток; ЦПД заключается в образовании округленных зернистых клеток и напоминает картину неспецифической дегенерации. В клетках образуются ацидофильные включения в околоядерной зоне цитоплазмы, содержащие вирусспецифические компоненты и зрелые вирионы (см. рис. 28) и соответствующие «фабрикам» (см. рис. 8,а), где происходит репродукция вируса.

Реовирусы имеют широкий круг хозяев. Они выделены от крупного рогатого скота, обезьян, собак, кур, мышей, диких птиц, москитов. Антитела к вирусу обнаружены у многих животных.

Патогенез и клиника. Вирус размножается в эпителии слизистой оболочки носоглотки и кишечника. При попадании в кишечник он взаимодействует со специализированными эпителиальными клетками в микроскладках над групповыми лимфатическими фолликулами — М-клетками, которые транспортируют вирус к лимфоидной ткани. Транспорт реовирусов через М-клетки, по-видимому, осуществляют клеточные лизосомы. Из групповых лимфатических фолликулов вирус попадает в брыжеечные лимфатические узлы, оттуда в селезенку, через лимфатическую систему попадает в кровь.

У взрослых заболевание часто протекает бессимптомно, у детей реовирусы вызывают катаральные воспаления верхних дыхательных путей или тонкого кишечника. Инфекция характеризуется появлением лихорадки, воспалением верхних дыхательных путей (ринит, фарингит), конъюнктивитом, поносом. Реже наблюдаются пневмония, герпангина, миокардит. Известны смертельные случаи заболевания среди новорожденных и детей раннего возраста.

Иммунитет. Клинически выраженная и инаппарантная инфекция сопровождаются появлением специфических антител. К 25—30 годам жизни большинство населения имеют антитела ко всем трем типам вируса, что свидетельствует о его широкой циркуляции.

Эпидемиология. Основной путь передачи — воздушно-капельный, однако возможен и фекально-оральный путь заражения. Реовирусы в связи с их высокой контагиозностью и устойчивостью во внешней среде часто являются причиной эпидемических вспышек в детских коллективах. В циркуляции вируса важную роль играет бессимптомное вирусоносительство.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются смывы носоглотки и фекалии больных. Из фекалий вирусы выделяют чаще, чем из смывов носоглотки. В летальных случаях используют кровь, легкие, печень, мозг, почки погибших.

Выделение вируса. Вирусы выделяют в первичных и перевиваемых культурах человека и животных (почек обезьян, фибробластов эмбриона человека, HeLa, Нер-2 и др.). Сыворотку животных к зараженным культурам не добавляют в связи с возможным содержанием в ней антител к реовирусу. Цитопатический эффект может проявиться через длительный период — 2—3 нед после заражения. Он характеризуется появлением дегенерировавших клеток, которые не слущиваются со стекла, а сохраняют связь с монослоем, прикрепляясь к нему отростками.

Вирус можно выделить путем заражения мышей-сосунков в мозг, подкожно, внутривенно, интраназально. Через 5—12 дней наступает гибель животных. Однако чаще используют культуры клеток, так как мыши менее чувствительны к вирусу и могут спонтанно быть инфицированы реовирусами.

Идентификацию вирусов проводят в РН и в РТГА с использованием эритроцитов человека 0 группы и крупного рогатого скота; применяют эталонные типоспецифические сыворотки. Неспецифические ингибиторы из сывороток удаляют обработкой каолином, а изогемагглютинины — 50% взвесью эритроцитов человека группы 0.

Серологическая диагностика. Нарастание антител в парных сыворотках определяют в РТГА, используя в качестве антигена культуральную жидкость зараженных культур клеток после полной дегенерации клеточной культуры.

Профилактика. Специальные меры профилактики не разработаны.

РОТАВИРУСЫ

Ротавирусы являются наиболее частыми возбудителями гастроэнтеритов у детей. Они вызывают также гастроэнтериты у молодых животных (обезьян, крупного рогатого скота, лошадей, собак, овец, оленей, кроликов, мышей и др.). Наиболее хорошо изучены вирус диареи телят Небраски (NCDV), вирус эпизоотической диареи мышат, вирус обезьян (SA11), вирус, выделенный из кишечника

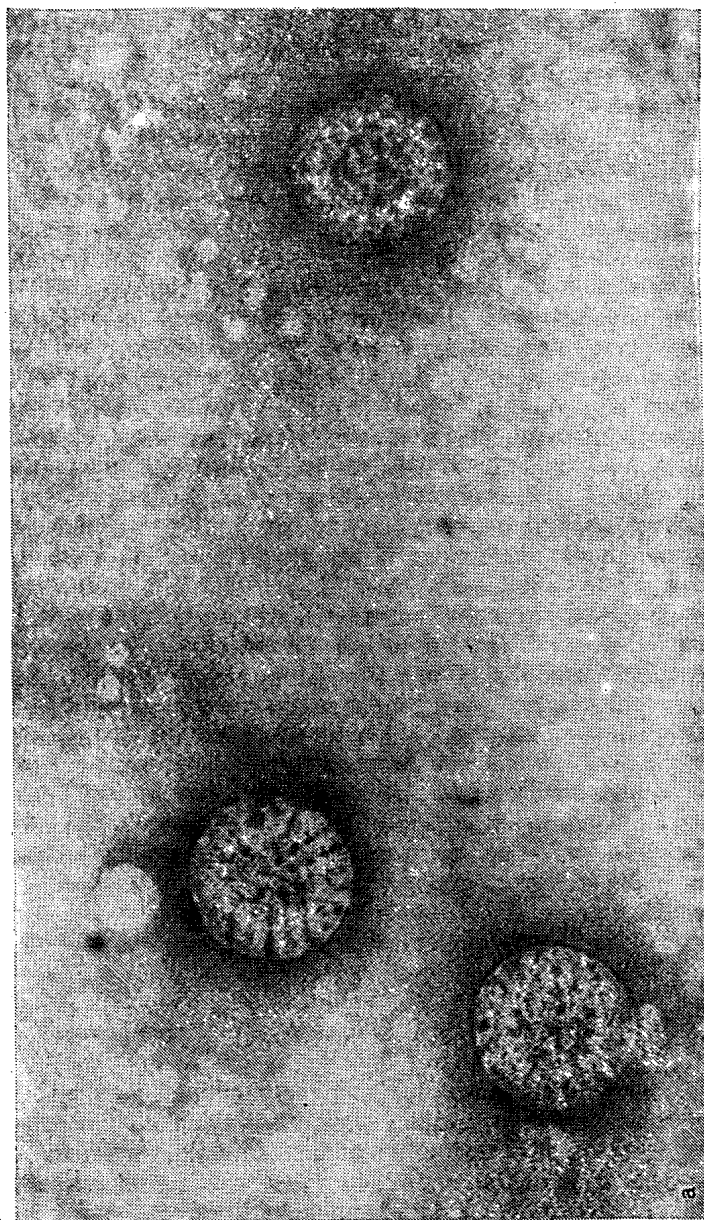
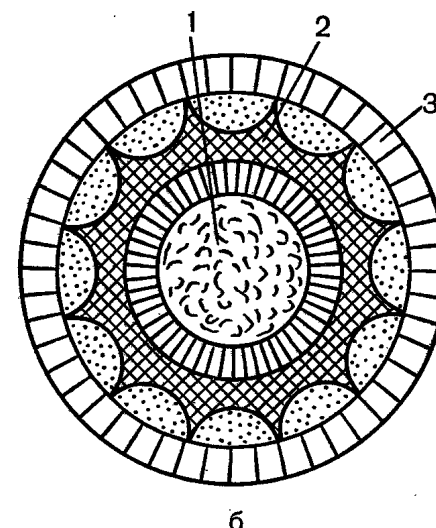


Рис. 41. Вирионы ротавируса. а — электронно-микроскопическое изображение; б — схема строения вириона: 1 — сердцевина; 2 — внутренний капсид; 3 — наружный капсид.



овец и крупного рогатого скота. Все вирусы имеют сходную морфологию и содержат общий антиген.

Морфология. Название рода происходит от лат. *rota* — колесо, поскольку при электронной микроскопии вирионы имеют вид колеса, благодаря наружному капсиду в форме обода и капсомерам внутреннего капсида в виде радиальных спиц (рис. 41). Вирион имеет диаметр 70—75 нм и состоит из сердцевины диаметром 33—40 нм, содержащей двунитчатую РНК и внутренние белки, и двух капсидов с икосаэдральной симметрией — внутреннего и наружного. Часто встречаются частицы, лишенные наружного капсида диаметром 60 нм, а также пустые частицы, лишенные сердцевины; и те и другие не обладают инфекционной активностью. В препаратах ротавирусов обнаруживаются трубчатые структуры, связанные с морфогенезом вируса.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат РНК и белки. Липиды отсутствуют. Углеводы содержатся в составе гликопротеидов. Плавучая плотность двухкапсидных частиц в хлориде цезия 1,36—1,38 г/см³, коэффициент седиментации 525 S. Плавучая плотность пустых частиц 1,29 г/см³.

Геном представлен одиннадцатью уникальными фрагментами двунитчатой РНК с молекулярной массой от $0,2 \cdot 10^6$ до $2 \cdot 10^6$ и общей молекулярной массой $11 \cdot 10^6$. При электрофорезе в полиакриламидном геле фрагменты располагаются четырьмя группами, содержащими 4,2,3 и 2

фрагмента соответственно. Каждый фрагмент кодирует индивидуальный белок. Первичная структура генома установлена. Продуктами 4,9,11-го генов являются белки наружного капсида, 1,2, 6-го генов — белки внутреннего капсида, 5,7,8,10-го — неструктурные белки.

Белки и антигены. Среди белков наружного капсида находится белок VP7, продукт 9-го гена, являющийся протективным антигеном и основным антигеном участвующим в РН. Этот белок является типоспецифическим антигеном. В наружном капсиде локализуется также белок VP3, продукт 4-го гена, обуславливающий гемагглютинирующую активность вируса и взаимодействующий с клеточными рецепторами. Этот белок нарезается трипсиноподобными ферментами клетки на две субъединицы (с молекулярной массой $88 \cdot 10^3 \rightarrow 60 + 28 \cdot 10^3$). Нарезание этого белка вызывает протеолитическую активацию-вируса и необходимо для возникновения инфекции. Общим антигеном и антигеном, определяющим подгрупповую специфичность, является белок внутреннего капсида, продукт 6-го гена, VP6. Среди белков сердцевинки находится РНК-зависимая РНК-полимераза.

Все вирусы человека и животных имеют общий антиген, выявляемый в ИФ, ИЭМ, РСК и др., и разделяются на 3 подгруппы, которые дифференцируются в ИФА. Типоспецифические антигены, находящиеся в составе наружного капсида, позволяют дифференцировать 4 серотипа вирусов человека и животных.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Ротавирусы устойчивы к эфиру и детергентам, кислым значениям pH (3,0), обычным дезинфектантам. Особенно устойчивы в фекалиях, сохраняя инфекционную активность при комнатной температуре до 7 мес. Прогревание при температуре 50°C в присутствии детергентов, замораживание и оттаивание инактивирует вирус.

Репродукция. Ротавирусы человека не культивируются в обычных условиях и лишь с большим трудом происходит их адаптация к росту в культуре клеток (первичные или вторичные культуры клеток почек зеленых мартышек). Применяют ряд приемов, увеличивающих интенсивность репродукции: добавление в культуральную среду трипсина, вызывающего протеолитическую активацию вируса; центрифугирование клеток после инфицирования и т. д. В этих условиях обнаружено ЦПД, заключающееся в появлении округлившихся клеток и их агрегатов, отторгающихся от стекла.

Ротавирусы животных размножаются в культурах клеток, поэтому они изучены лучше, чем ротавирусы человека, и многие данные относительно репродукции ротавирусов получены на этих моделях.

Вирус проникает в клетку путем рецепторного эндоцитоза и транспортируется в лизосомы, где происходит транскрипция генома с помощью эндогенной транскриптазы. Вируспецифический антиген обнаруживается с помощью ИФ в околоядерной области цитоплазмы в составе включений, а затем во всей цитоплазме. Сборка вирусных частиц происходит многоэтапно в ассоциации с мембранами эндоплазматической сети. Сначала образуются однокапсидные частицы, которые почкуются через мембрану в вакуоли и приобретают липопротеидную оболочку. В эндоплазматических вакуолях формируется наружный капсид и утрачивается липопротеидная оболочка. Вирусные частицы выходят из клетки путем «взрыва» после ее лизиса. Инфекционный цикл занимает 18—20 ч.

Патогенез. Путь заражения фекально-оральный. Вирус размножается в клетках эпителия ворсинок тонкого кишечника, находящихся на вершине ворсинок. Разрушение клеток приводит к уменьшению количества ферментов, расщепляющих дисахариды (мальтозу, сахарозу и лактозу). В связи с этим в двенадцатиперстной кишке накапливаются дисахариды и нарушается процесс всасывания простых сахаров. По мере образования инфекционного потомства вирусные частицы движутся с содержимым кишечника в дистальном направлении. Переходя в толстую кишку, дисахариды и простые сахара создают повышенное осмотическое давление, которое препятствует всасыванию воды из кишечного содержимого и приводит к поступлению в кишечник воды из тканей организма. Попадающие в толстую кишку моносахариды расщепляются кишечными бактериями до низкомолекулярных жирных кислот, увеличивающих осмотическое давление и обостряющих процесс. В результате воспалительных процессов в слизистой оболочке кишечника усиливается перистальтика, что обуславливает понос.

Клиника. Инкубационный период от 15 ч до 3—5 дней. Болезнь начинается остро. Появляются понос, рвота, тошнота, боли в животе. Часто бывает только тошнота и затем понос. Испражнения обильны, водянистые, пенистые, ярко-желтого цвета, иногда мутно-белой окраски. Отмечается повышение субфебрильной температуры, слабость, головная боль. Болезнь длится 5—7 дней.

Иммунитет. Инфекция сопровождается появлением специфических антител. На первой неделе заболевания — антитела класса IgM, через 2—3 нед — антитела класса IgG. Уже к 6 годам жизни антитела обнаруживаются у 60—90% детей. Однако гуморальный иммунитет не предупреждает развитие заболевания; большое значение приобретают секреторные антитела IgA и другие факторы местного иммунитета. Пассивный иммунитет защищает детей первых шести месяцев жизни от инфекции, которая в этом возрасте обычно протекает бессимптомно.

Эпидемиология. Ротавирусный гастроэнтерит является преимущественно заболеванием раннего детского возраста. В основном болеют дети в возрасте от 6 мес до 2 лет, инфекция часто встречается у новорожденных, но не всегда сопровождается клиническими симптомами. Регистрируются вспышки в детских коллективах, семейные и внутрибольничные, в такие периоды болеют и дети старших возрастов и взрослые. Заболевание имеет сезонность (январь, февраль), но спорадические случаи встречаются в течение всего года. В развивающихся странах ротавирусная инфекция является основной причиной смертности детей раннего возраста.

Источником инфекции является только человек. Больные выделяют большое количество вируса с фекалиями (в 1 г обнаруживается до 10^{10} вирусных частиц). Инфицирование происходит при контакте с загрязненной фекалиями средой. Однако, не исключен и воздушно-капельный путь передачи инфекции. Относительно высокая устойчивость вируса во внешней среде затрудняет предупреждение контаминации окружающей среды.

Лабораторная диагностика. Лабораторная диагностика основана на обнаружении возбудителя в фекалиях и выявлении иммунологических сдвигов путем обследования парных сывороток больных.

Материалом для исследования являются фекалии. Фекалии отбирают стерильно и доставляют в лабораторию в контейнерах со льдом. Готовят 10—20% суспензию фекалий на растворе Хенкса. После осветления на низкой скорости надосадочную жидкость обрабатывают антибиотиками.

Быстрая диагностика. Быстрая диагностика основана на выявлении вирусных частиц или антигенов в фекалиях больных с помощью методов ЭМ, ИЭМ, РИА и ИФА. В качестве иммунных сывороток используют гипериммунные сыворотки лабораторных животных (кро-

ликов, морских свинок), иммунизированных ротавирусами животных (SA 11 или вирус диареи телят Небраски), или сыворотки больных, в стадии выздоровления.

Поскольку большие количества вируса выделяются с фекалиями, вирусные частицы можно выявить при прямой ЭМ экстрактов фекалий. При взятии материала на 1—3-й день после начала заболевания получают максимальное число положительных ответов (до 100%), на 3—5-й день — до 50%, на 5—8-й день — до 25%.

При ИЭМ гипериммунную сыворотку смешивают с экстрактом фекалий больного, смесь инкубируют при комнатной температуре, а затем при температуре 4°C, после чего центрифугируют для осаждения специфических вирусных агрегатов. Осадок ресуспендируют в нескольких каплях дистиллированной воды и материал контрастируют с помощью фосфорновольфрамовой кислоты. В препаратах видны компактные агрегаты, состоящие из вирусных частиц, окруженных ореолом антител.

Вирусный антиген в экстрактах фекалий можно определить с помощью твердофазных РИА и ИФА. Чувствительность этих методов примерно одинакова. Их преимуществом перед методом ЭМ является возможность исследования большого количества проб и точный количественный учет результатов. С помощью этих реакций, а также РСК и РПГ выявляются в основном групповые и подгруппоспецифические антигены, общие для ротавирусов человека и животных, в то время как в РН выявляются типоспецифические антигены.

Быструю диагностику можно провести также путем выявления вирусных РНК в экстракте фекалий с помощью метода МГ при использовании в качестве зонда плазмиды, содержащей гены ротавируса, а также путем электрофореза РНК, выделенной из экстракта фекалий, в полиакриламидном геле. Фрагменты РНК выявляют путем окрашивания геля бромидом этидия. Этот метод более чувствителен, чем ЭМ.

Серологическая диагностика. Прирост антител в парных сыворотках больных определяют с помощью антигенов ротавирусов животных, близких в антигенном отношении ротавирусу человека, вируса диареи телят Небраски и обезьяньего вируса SA11. Эти вирусы адаптированы к культуре клеток и дают выраженный цитопатический эффект. Антитела выявляют в РН в культуре ткани, РСК, РТГА с эритроцитами человека группы 0 или эритроцитами морской свинки. Сыворотки предварительно

обрабатывают каолином и 50% эритроцитарной массой.

Профилактика и лечение. Профилактика основана на эпидемиологических мероприятиях, общих для всех кишечных инфекций. Лечение симптоматическое. Целесообразна вакцинация детей раннего возраста убитыми вакцинами.

ОРБИВИРУСЫ

Орбивирусы выделены из общей экологической группы арбовирусов и представляют многочисленную группу вирусов, передающихся клещами, комарами, москитами. Они образуют 17 серологических групп, имеются также не-сгруппированные вирусы. Все они вызывают болезни с природной очаговостью. Наряду с вирусами, патогенными для человека (вирус Колорадской лихорадки, вирус Кемеровской лихорадки), патогенность большинства вирусов для человека не доказана.

Глава 8. СЕМЕЙСТВО ТОГАВИРУСОВ (TOGAVIRIDAE)

Тогавирусы (от лат. toga — плащ) представляют обширную группу, включающую более 90 вирусов. Семейство содержит 4 рода. Два из них — альфа-вирусы и флавивирусы — являются арбовирусами, вызывающими инфекции, передающиеся членистоногими, в основном комарами и клещами. Два других рода включают вирусы, не вызывающие трансмиссионных инфекций: род рубивирус включает вирус краснухи, а род пестивирус — вирусы чумы животных. Флавивирусы выделены в отдельное семейство.

Все альфа- и большинство флавивирусов имеют несколько хозяев и циркулируют в природе между позвоночными и членистоногими. Многие из них являются возбудителями тяжелых заболеваний у людей — желтой лихорадки, клещевого и японского энцефалитов, геморрагических лихорадок, лихорадку денге и др. Все альфа-вирусы экологически связаны с комарами, большая часть флавивирусов также передается комарами, однако среди них есть группа вирусов, не передающихся членистоногими. Единственным хозяином вируса краснухи является человек. Вирусы рода пестивирус поражают собак, коров, свиней, овец и коз и вызывают у них заболевания с пора-

жением мукозных мембран. В пределах родов тогавирусы связаны общими антигенами, но между родами антигенных связей нет.

АЛЬФА-ВИРУСЫ

Род альфа-вирусов включает 21 вирус, различающихся по антигенным свойствам. Среди них есть патогенные для человека виды (табл. 24), есть и вирусы, непатогенные для человека и патогенные для животных. Типичным представителем рода является вирус Синдбис.

Таблица 24. Наиболее распространенные инфекции человека, вызываемые альфа-вирусами

Инфекция	Переносчик	Область распространения
Лошадиный веноэнцефалит	Комар	Латиноамериканские страны
Лошадиный восточный энцефалит	«	США, латиноамериканские страны
Лихорадка О'Ньонг-Ньонг	«	Уганда, Кения
Лихорадка Пиксуна	«	Бразилия
Лихорадка леса Семлики	«	Уганда, Камерун, Мозамбик
Лихорадка Синдбис	«	Африка, Азия, Австралия
Лошадиный западный энцефалит	«	США, латиноамериканские страны
Т-48, реки Росс	«	Австралия
Чикунгунья	«	Америка, Индия
Карельская лихорадка (лихорадка Погоста)	«	Карелия, Финляндия, Швеция

Морфология. Вирионы сферической формы с диаметром 70 нм. Внутренним компонентом является нуклеокапсид с диаметром 25—30 нм, имеющий икосаэдральную симметрию и состоящий из РНК и капсида, образованного одним капсидным белком. Нуклеокапсид окружен наружной липопротеидной оболочкой толщиной 4,8 нм, в которую погружены гликопротеиды; их липофильные фрагменты пронизывают липидный слой и контактируют с нуклеокапсидом (см. рис. 21). Гликопротеиды образуют шипики на поверхности вириона длиной 10 нм.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат РНК (5,5—6,3%), белки (57—60%), липиды (27—30%) и углеводы (6,5% от сухой массы частицы). Липиды находятся в составе наружной липопротеидной оболочки, углеводы — в составе гликопротеидов. Молекулярная масса вирионов $70 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 280 S, плавающая плотность в сахарозе

1,21 г/см³, в хлориде цезия — 1,25 г/см³. Коэффициент седиментации нуклеокапсида 140 S, плавучая плотность в сахарозе 1,24 г/см³.

Геном представляет линейную однонитчатую РНК с молекулярной массой $4 \cdot 10^6$ — $4,2 \cdot 10^6$, включающую около 13 000 нуклеотидов. Коэффициент седиментации около 42S.

Геном имеет положительную полярность. Вирсионная РНК проявляет инфекционную активность.

Белки, антигены. Альфа-вирусы содержат один капсидный белок (С белок) в количестве 300 молекул на вирион, с молекулярной массой $30 \cdot 10^3$ — $34 \cdot 10^3$. В составе липопротеидной оболочки имеется два или три гликопротеида E1, E2, E3 (последний не у всех альфа-вирусов) по 300 молекул каждого на вирион. Гликопротеиды имеют по две углеводных цепочки, одна длиннее, другая короче. Молекулярная масса гликопротеидов E1— $52 \cdot 10^3$, E2— $49 \cdot 10^3$, E3— $10 \cdot 10^3$. Гликопротеид E1 обладает гемагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей и цыплят при pH 6,0. Некоторые вирусы вызывают гемолиз.

Вирусы содержат группоспецифический антиген, обусловленный капсидным белком, видовые и типоспецифические антигены, обусловленные наружными белками. По данным РТГА, среди альфавирусов выделяют три группы близких по антигенным свойствам вирусов: 1 — комплекс вируса западного энцефалита (ЗЭЛ), к которому относится вирус Синдбис; 2 — комплекс вируса энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ); 3 — комплекс вируса леса Семлики. Наиболее сложной антигенной структурой характеризуются вирусы комплекса ВЭЛ, в котором различают четыре антигенных подтипа.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Альфа-вирусы чувствительны к эфиру и детергентам, легко разрушаются при температуре 56°С, устойчивы в диапазоне pH 6,0—9,0, сохраняют инфекционную активность при замораживании. Вирусы высокочувствительны к ультрафиолетовому облучению.

Репродукция. Вирус проникает в клетку по механизму рецепторного эндоцитоза. При слиянии вирусной оболочки со стенкой вакуоли вирусная нуклеиновая кислота выходит в цитоплазму. Около двух третей ее с 5'-конца транслируется с образованием вирусных белков. В зараженных клетках функционирует два класса иРНК: один из них (с коэффициентом седиментации 42S) функционирует на ранней стадии, до репликации РНК, и кодирует синтез

неструктурных белков, а другой (с коэффициентом седиментации 26S) — на поздней стадии, после репликации РНК, и кодирует синтез структурных белков. Трансляция РНК с коэффициентом седиментации 42 S происходит на свободных полисомах, трансляция РНК с коэффициентом седиментации 26S также начинается на свободных полисомах, а затем от синтезирующего белка-предшественника отрезается капсидный белок, и вновь образованный сигнальный пептид следующего белка (гликопротеида) фиксирует рибосому к мембране эндоплазматической сети. Последующая трансляция с образованием вирусных гликопротеидов происходит на полисомах, связанных с мембранами. В процессе транспорта к аппарату Гольджи от белка-предшественника отрезается гликопротеид E1, в то время как предшественник двух других гликопротеидов E2 и E3 нарезается только на плазматической мембране, и его нарезание является сигналом для сборки вируса. Процесс морфогенеза альфа-вирусов от формирования нуклеокапсидов до почкования занимает менее получаса.

Все процессы синтеза вирусспецифических компонентов происходят в «фабриках», связанных с мембранами эндоплазматической сети. Здесь же происходит и сборка нуклеокапсидов. Инфекционный цикл занимает 6—8 ч.

Патогенез и клиника. Патогенез и клиника альфа-вирусных инфекций разнообразны. Это — либо лихорадка (Синдбис, Карельская, Чикунгунья, О'Ньонг-Ньонг, леса Семлики) с более или менее выраженными поражениями внутренних органов (печень, селезенка), иногда с появлением сыпей, либо тяжелые формы энцефаломиелитов (Восточный, Западный, Венесуэльский), либо инаппарантные инфекции. Некоторые альфа-вирусы, по-видимому, не патогенны для человека.

Первичные энцефалиты характеризуются поражениями различных участков ЦНС — основания мозга, коркового вещества, мозжечка, спинного мозга. Характерны мелкие кровоизлияния с периваскулярными муфтами, инфильтрация мозговых оболочек.

В ранней стадии инфекции вирус размножается вне нервной ткани. С кровью вирус заносится в ЦНС и начинается второй цикл его размножения, на этот раз в нервных клетках. Разрушение клеток приводит к симптомам клинически выраженного энцефалита. Заболевание начинается остро, появляются сильная головная боль, озноб, подъем температуры, тошнота и рвота, характерным симптомом является ригидность затылочных мышц. В тя-

желых случаях наблюдаются спутанное сознание, тремор, судороги, коматозное состояние. Болезнь может закончиться летальным исходом.

Иммунитет. В результате перенесенного заболевания появляется стойкий гуморальный иммунитет. Инаппарантные формы инфекции также сопровождаются образованием антител. Комплементсвязывающие антитела при ряде инфекций, вызванных альфа-вирусами, сохраняются лишь на протяжении 1—2 лет и их высокие титры свидетельствуют о недавно перенесенной инфекции. Вирус-нейтрализующие и антигематтупинирующие антитела сохраняются в течение многих лет.

Эпидемиология. Многие альфавирусы широко распространены на американском континенте, другие — в азиатских странах, Австралии. Некоторые альфавирусы выделены на территории СССР.

Для альфавирусных инфекций характерны природные очаги, которые поддерживаются за счет циркуляции вируса между членистоногими и позвоночными. В условиях тропического климата, где комары активны на протяжении всего года, циркуляция альфа-вирусов между комарами и животными, являющимися резервуаром инфекции, постоянно поддерживается. Человек, попадая в природный очаг заболевания, заражается при укусах инфицированных членистоногих.

Попадая в человеческую популяцию, вирус при высокой плотности населения и большой численности комаров передается через их укусы от человека к человеку. В этом случае человек становится хозяином-накопителем. Эпидемия обрывается, когда создается большая иммунная прослойка населения в результате перенесенного заболевания или вакцинации.

В разных географических зонах существуют разные виды позвоночных хозяев и переносчиков. Для вируса японского энцефалита описано более 20 видов переносчиков с преобладанием определенных видов в конкретных очагах.

В лабораторных условиях заражение людей может произойти в результате вдыхания вирусного аэрозоля при создании высокой концентрации вирусных частиц, поэтому работа с альфавирусами должна проводиться с соблюдением специального защитного режима.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования при энцефалитах служат кровь, цереброспинальная жидкость, которые берут не позже в течение первых 5

дней заболевания. В летальных случаях используют ткань различных участков головного мозга, кровь, цереброспинальную жидкость.

Методы быстрой диагностики не разработаны.

Выделение вируса. Проводят путем заражения мышей в мозг. Мыши заболевают через 8—12 дней, у них появляются судороги, параличи и вскоре животные гибнут. При последующих пассажах инкубационный период сокращается до 4—6 дней. Выделение вируса можно проводить в культуре ткани, используя культуры фибробластов куриных эмбрионов и перевиваемые культуры СПЭВ и ВНК-21. Куриные фибробласты обладают большей чувствительностью к вирусу, чем фибробласты мышей. Вирусы энцефаломиелитов вызывают ЦПД во всех указанных культурах. Идентификацию их проводят в РН на мышцах или культурах клеток, в РТГА, РСК, методом ИФ, используя эталонные типоспецифические сыворотки иммунизированных животных или переболевших людей. В РТГА используют 0,5% взвесь гусиных эритроцитов, приготовленную на фосфатном буфере pH 6,2 (гематтупиния лучше проходит при низких значениях pH).

Серологическая диагностика. Прирост антител в парных сыворотках определяется в реакции нейтрализации, РСК, РТГА, РРГ, РПГА, ИФ, ИФМ, РИМ. Антиген готовят обычно из мозга мышей, зараженных в мозг эталонными штаммами, или используют стандартные диагностикумы.

Профилактика. Против ряда инфекций, вызываемых альфа-вирусами, существуют убитые вакцины, инактивированные формалином. Вакцинация необходима для персонала, работающего с вирусами.

Краткое описание инфекций, вызываемых альфавирусами

Лошадиные энцефаломиелиты. Наиболее тяжелыми заболеваниями человека, вызываемыми альфавирусами, являются американские лошадиные энцефаломиелиты.

Лошадиный восточный энцефаломиелит распространен на Восточном побережье США. Заболевания наблюдаются поздним летом и осенью в сельских и пригородных местностях, встречаются в виде спорадических случаев и крупных вспышек. Человек может заразиться при укусе комара, а также через объекты внешней среды, загрязненные выделениями больных лошадей (мо-

локо, моча, отделяемое носоглотки). Заболевание начинается внезапно высокой температурой, болевым синдромом, с явлениями поражения головного мозга, в тяжелых случаях быстро развивается летаргия. Болезнь длится до 2 нед. Летальность достигает 10%; у детей нередко остаются стойкие параличи. Естественным резервуаром являются дикие птицы, переносчики — комары *Culiseta melanura* и *Aedes*, но в эпидемический процесс могут вовлекаться лошади, и тогда вероятность заражения людей резко увеличивается.

Лошадиный западный энцефаломиелит распространен преимущественно в Западных и Юго-Западных районах США и Канады. Резервуаром вируса также являются дикие птицы, переносчиками — комары *Culex tarsalis*, *Culiseta melanura* и др., лошади вторично вовлекаются в эпизоотический процесс. Человек заражается в основном при укусах инфицированных комаров. Отмечаются спорадические случаи или эпидемии. Болезнь начинается внезапно и протекает с высокой температурой, болевым синдромом, явлениями поражения головного мозга. Однако летальные случаи наблюдаются редко.

Лошадиный венесуэльский энцефаломиелит распространен в экваториальной части Латинской Америки, Центральной Америки, на островах Карибского моря, а также в южных штатах США. Резервуаром вируса в природе являются мелкие млекопитающие, переносчиками — многие виды комаров. Лошади вторично вовлекаются в эпизоотический процесс. Человек заражается при укусах инфицированных комаров, а также при уходе за больными лошадьми аэрогенным путем. Наблюдаются обширные эпидемии. Болезнь протекает с лихорадкой, энцефалитом, однако имеет относительно доброкачественное течение.

Чикунгунья. Болезнь широко распространена в тропических районах Африки и Юго-Восточной Азии. Резервуаром возбудителя являются приматы, переносчиками — комары *Aedes aegypti*. Вирус может передаваться через укусы комаров от человека человеку. Заболевание характеризуется лихорадкой, появлением сыпи, болями в суставах, отеком, может принять форму геморрагической лихорадки.

Лихорадка О'Ньонг-Ньонг. Болезнь распространена в странах Восточной Африки, резервуаром возбудителя являются приматы, переносчиком — комары *Aedes aegypti*. Протекает в виде лихорадки с высокой температурой, сыпью, болями в суставах. В неблагоприятных условиях

болезнь даже может выйти за пределы природных очагов.

Лихорадка леса Семлики. Болезнь распространена в лесистых районах Центральной и Западной Африки. Резервуаром вируса являются приматы, переносчиками — комары родов *Aedes* и *Mansonia*. Заболевания людей встречаются спорадически и протекают с лихорадкой, сыпью, общим недомоганием.

Лихорадка Синдбис. Болезнь распространена в Африке, Азии, Австралии. Очаги инфекции имеются и на территории СССР. Переносчиками являются комары рода *Culex*, а также *Anopheles*, *Aedes*. Заболевание характеризуется высокой температурой, сильными головными болями, сыпью. Вирус выделен от человека, комаров, клещей, диких птиц. Культивируется в 7—8-дневных куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок, фибробластах куриных эмбрионов и клетках почек обезьян, оказывает ЦПД на клетки культуры.

Карельская лихорадка (финское название — лихорадка Погоста). Болезнь обнаружена в Карельской АССР, южной части Финляндии и Швеции. Переносчиками являются комары. Заболевание протекает с лихорадкой, общим недомоганием, слабостью, иногда бывают сыпи. Выделенный вирус серологически близок к вирусу Синдбис. Вирус пассируют на новорожденных мышках.

ФЛАВИВИРУСЫ

Род (семейство) объединяет 43 типа вирусов, почти все они (за исключением пяти) размножаются в переносчиках. Большинство вирусов выделены от комаров, которые поддерживают их циркуляцию в природных очагах и при укусах заражают человека. Ряд вирусов выделен от клещей (вирусы клещевого энцефалита, геморрагических лихорадок). Клещи могут быть резервуаром вируса и его переносчиками.

Среди флавивирусов существуют четыре антигенные подгруппы, к которым относятся: вирусы клещевого энцефалита, японского энцефалита, желтой лихорадки и вируса денге.

Морфология. Вирионы имеют сферическую форму с диаметром 40—50 нм. Внутренним компонентом является нуклеокапсид, он окружен наружной липопротеидной оболочкой, в которую погружен один гликопротеид, образующий шипики на поверхности вириона.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат РНК, белки, липиды (в составе липопротеидной оболочки) и углеводы (в составе гликопротеида). РНК составляет 8%, липиды 25% от сухой массы, остальную массу составляют белки. Молекулярная масса вирионов $46 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 205 S, плавучая плотность в сахарозе 1,19—1,21 г/см³. Коэффициент седиментации нуклеокапсида 140 S, плавучая плотность в хлориде цезия 1,31—1,34 г/см³.

Геном — однонитчатая «плюс-нитевая» РНК с молекулярной массой $4 \cdot 10^6$ — $4,6 \cdot 10^6$, содержит около 14 000 нуклеотидов, коэффициент седиментации 45 S.

Белки, антигены. Капсидный белок имеет молекулярную массу $13,5 \cdot 10^3$. В наружной липопротеидной оболочке содержатся два белка, один из них с молекулярной массой $53 \cdot 10^3$ — $63 \cdot 10^3$ является гликопротеидом, другой не содержит углеводы и, по-видимому, образуется при нарезании гликозилированного белка.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирусы чувствительны к эфиру, детергентам, формалину, низкому значению pH, теряют инфекционную активность при прогревании при температуре 56—60° С в течение 10—30 мин.

Репродукция. Клеточными рецепторами для вирусов являются фосфолипиды или гликолипиды. Вирусы проникают в клетки путем рецепторного эндоцитоза с последующим слиянием вирусной оболочки со стенкой вакуоли. В зараженной клетке обнаружен только один класс иРНК — геномная РНК с коэффициентом седиментации 45 S. Вирусный репликативный комплекс связан не с мембранами эндоплазматической сети, как у альфавирусов, а с кариолеммой (ядерной мембраной). Репродукция идет медленнее, чем у альфавирусов. Созревание происходит путем почкования не через плазматическую мембрану, а через мембраны эндоплазматической сети. Вирусные частицы в полости вакуолей часто образуют кристаллоподобные образования.

Вирусы хорошо размножаются во многих культурах клеток, однако их ЦПД выражено в меньшей степени, чем у альфавирусов.

Патогенез и клиника. Разнообразны при разных заболеваниях. Среди них наблюдаются тяжелые заболевания, распространенные в разных зонах: желтая лихорадка, лихорадка денге, комариные энцефалиты (японский, Ильеус, долины Муррея, Сент-Луис, Западного

Нила), клещевые энцефалиты (азиатский и европейский) и геморрагические лихорадки (Омская, Кьясанурская), которые поражают человека (табл. 25). В патогенезе инфекций значительную роль играют иммунопатологические реакции с участием аллергического компонента. При лихорадке денге активируются Т-супрессоры, в результате чего снижается уровень антител. Значительную роль в патогенезе играет иммунопатология, обусловленная образованием иммунных комплексов. Иммунные комплек-

Таблица 25. Наиболее распространенные инфекции человека, вызываемые флавивирусами

Вирус	Переносчик	Область распространения	Инфекция
Денге типов 1—4	Комар	Южная и Восточная Азия, Индия, Пакистан, Филиппины, острова Тихого океана	Лихорадка, геморрагическая лихорадка
Желтой лихорадки	»	Африка, Центральная и Южная Америка	Геморрагическая лихорадка
Западного Нила	»	Восточная Африка, Ближний Восток, Индия, Европа	Лихорадка, энцефалит
Ильеус	»	Центральная и Южная Америка	Энцефалит
Клещевого энцефалита	Клещ	Европа, Азия (СССР)	Энцефалит
Кьясанурской лесной болезни	»	Индия	Геморрагическая лихорадка
Колорадской клещевой лихорадки	»	Северная Америка	Лихорадка
Москитной лихорадки	Комар	Европа, Центральная и Южная Америка	Лихорадка
Омской геморрагической лихорадки	Клещ	СССР	Геморрагическая лихорадка
Повассан	Комар, клещ	Азия, Канада, США	Лихорадка
Шотландского энцефалита	Клещ	Европа	Энцефалит
Энцефалита Сент-Луис	Комар	Северная и Южная Америка	Энцефалит
Энцефалита долины Муррея	»	Австралия	Энцефалит
Японского энцефалита	»	Восточная и Юго-Восточная Азия	Энцефалит

сы при лихорадке денге способствуют проникновению вируса в клетки и усиленной репродукции вируса.

Иммунитет прочный, повторные заболевания не наблюдаются.

Эпидемиология. Переносчиками одних заболеваний являются комары, других — клещи.

Вирусы выделены от комаров и клещей, у клещей вирусы могут переходить от поколения к поколению путем трансовариальной передачи. Таким образом, клещи являются не только переносчиком, но и резервуаром вируса.

Лабораторная диагностика и профилактика проводятся так же, как и при альфа-вирусных инфекциях.

Краткое описание инфекций, вызываемых флавивирусами

Желтая лихорадка. Желтая лихорадка лесная (желтая лихорадка джунглей) встречается в некоторых районах тропической Африки и Южной Америки как природно-очаговое заболевание, поражающее приматов и передающееся комарами рода *Haemagogus* и *Aedes*. Обычно главную опасность представляет не эта, сравнительно редкая болезнь, а желтая лихорадка городская, когда болезнь передается от человека человеку через укус комара *Aedes aegypti*, который распространился во всем тропическом поясе. Болезнь характеризуется внезапным началом, высокой лихорадкой, прострацией и желтухой. В недавнем прошлом желтая лихорадка городская вызывала тяжелые эпидемии с высокой смертностью. В настоящее время ее распространение уменьшено в значительной мере благодаря мерам по уничтожению комаров инсектицидами, индивидуальной защите от комаров и предотвращению переноса комара *Aedes aegypti* морским и воздушным транспортом. При выезде в места, неблагополучные в эпидемическом отношении, обязательны прививки живой вакциной.

Лихорадка денге распространена в тропическом и субтропическом поясе во многих странах Старого и Нового Света. Известны 5 серотипов вируса. По-видимому, существует денге джунглей как природно-очаговая болезнь приматов. Но главную опасность представляет геморрагическая лихорадка, передающаяся от человека человеку комарами *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*. Болезнь протекает с высокой температурой, болевым синдромом,

сыпями, тяжелой интоксикацией. В последние два десятилетия она встречается во многих местностях (Юго-Восточная Азия) и дает высокую смертность. Основные меры сводятся к уничтожению комаров и защите от их нападения.

Целесообразной была бы вакцинация в эндемичных районах, но вакцины пока нет.

Японский энцефалит распространен в Восточной и Юго-Восточной Азии. Резервуаром вируса являются птицы, переносчиками — комары *Culex tritaeniorhynchus* и др. В эпизоотический процесс часто вовлекаются свиньи, резко усиливая циркуляцию вируса, и тогда возникают крупные вспышки среди людей. Болезнь протекает остро, с лихорадкой, тяжелыми симптомами тяжелой формы энцефалита и вызывает высокую смертность. Борьба основывается на уничтожении переносчиков и защите от их нападения, но также широко применяется иммунизация убитой вакциной.

Энцефалит долины Муррея — природно-очаговое заболевание. Циркуляция вируса происходит между дикими птицами и комарами *Culex annulirostris*. Среди людей встречается в виде спорадических случаев и протекает с температурой и явлениями легкой формы энцефалита. Профилактика — защита от нападения комаров.

Энцефалит Сент-Луис. Природные очаги его рассеяны в разных районах США. Резервуаром вируса являются дикие птицы, переносчиками — комары рода *Culex*. Заболевание у людей могут быть в виде спорадических случаев, но иногда — и в виде довольно крупных вспышек, особенно в районах ирригации. Протекает с лихорадкой, у некоторых — с явлениями тяжелой формы энцефалита. Профилактика основывается на систематическом уничтожении комаров инсектицидами.

Лихорадка Западного Нила встречается в бассейне Нила. Резервуар возбудителя не определен, переносчиками являются комары рода *Culex*. Болезнь протекает относительно легко, редко осложняется энцефалитом. Профилактика — борьба с переносчиками.

Клещевой энцефалит — природно-очаговое заболевание, ареал которого занимает обширное пространство тайги и лесов от Дальнего Востока до Центральной Европы. Известны две разновидности вируса, в связи с чем различают две тяжелые формы заболевания: более легкий европейский и дальневосточный клещевой энцефалит. Вирус циркулирует среди мелких лесных

зверьков и клещей *Ixodes persulcatus* (на востоке) и *Ixodes ricinus* (на западе), которые передают вирус потомству трансвариально. Человек заражается при укусе инфицированных клещей. Весенне-летняя сезонность заболевания обусловлена биологической активностью клещей в этот период. В населенных местностях в эпизоотический процесс вовлекается крупный рогатый скот и человек может заразиться алиментарным путем — через молоко. Восточный вариант болезни протекает тяжело, с температурой, явлениями энцефалита, стойкими параличами мышц шейно-плечевого отдела, летальность доходит до 20%. Европейский вариант клещевого энцефалита протекает значительно легче. Специфическая профилактика осуществляется путем иммунизации убитой вакциной, полученной из мозга зараженных животных или в культуре клеток; культуральная вакцина является менее реактогенной. В очагах клещевого энцефалита проводится вакцинация населения в возрасте от 4 до 65 лет. В первые три дня болезни эффективно введение специфического иммуноглобулина. Неспецифическая профилактика основывается на уничтожении клещей вблизи населенных мест, местах летнего отдыха, на бивуаках, а также на индивидуальных мерах защиты от их нападения (репелленты, рациональная одежда для работников геолого-изыскательских партий).

Близкими к вирусу клещевого энцефалита являются вирусы Повассан (Канада), Лангат (Малайзия), шотландского энцефалита (Великобритания), геморрагической омской лихорадки (СССР), Кысанурской лесной лихорадки (Индия).

Геморрагическая омская лихорадка вызывается вирусом, родственным вирусу клещевого энцефалита в антигенном отношении. Резервуар вируса — мелкие степные зверьки, переносчик — клещ *Dermacentor pictus*. Человек заражается случайно, находясь в природных очагах инфекции. Клиническое течение — лихорадка, геморрагические сыпи, атипическая очаговая пневмония. Болезнь обычно протекает доброкачественно. В качестве профилактических мер используют средства, уничтожающие клещей.

Кысанурская лесная лихорадка вызывается вирусом, иммунологически родственном предыдущему. Резервуаром возбудителей являются обезьяны и мелкие лесные зверьки, переносчики — клещи рода *Haemaphysalis*. Заболевание у людей протекает с двухфазным типом лихорадки,

миалгией, оканчивается обычно благополучно. В качестве профилактических мер используют средства, уничтожающие клещей.

ВИРУС КРАСНУХИ

Вирус относится к роду *Rubivirus* семейства *Togaviridae* и является возбудителем острого инфекционного заболевания, сопровождающегося лихорадкой и сыпью. Особенностью вируса краснухи является его способность передаваться трансплацентарно при инфекции у беременных женщин и вызывать врожденные уродства и гибель плода.

Морфология. Вирусные частицы имеют сферическую форму с диаметром 60—70 нм, нуклеокапсид с икосаэдральной симметрией с диаметром 30 нм. Вирус содержит липопротеидную оболочку, на поверхности которой находятся шипики длиной 8 нм с утолщением на концах.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирус содержит однонитчатую РНК, белки, липиды (до 25% сухой массы), углеводы в составе гликопротеидов. Коэффициент седиментации вирионов 350 S, плавучая плотность в сахарозе 1,19 г/см³.

Геном. Геном представлен однонитчатой «плюс-нитевой» РНК с молекулярной массой около $3 \cdot 10^6$ и коэффициентом седиментации 40 S. Порядок генов в геноме $\text{NH}_2\text{-C-E2-E1-COOH}$.

Белки и антигены. Известны три структурных белка: белок нуклеокапсид С с молекулярной массой 33 000 и два гликопротеида Е1 (молекулярная масса $58 \cdot 10^3$) и Е2 (молекулярная масса 42 000—47 000). Структурные белки транслируются с субгеномной иРНК с коэффициентом седиментации 24 S, соответствующей одной трети геномной (коэффициент седиментации 40 S) РНК с 3'-конца. Гликопротеиды являются протективными антигенами, один из них является гемагглютинином, агглютинируя эритроциты 1—3-дневных цыплят и голубей. Имеется один антигенный тип вируса.

Устойчивость к физическим и химическим антигенам. Вирус чувствителен к эфиру, детергентам, инактивируется при температуре 56°C в течение 1 ч, нестабилен при низких значениях pH. В замороженном состоянии сохраняет инфекционную активность годами.

Репродукция не изучена. Вирус размножается в первичной культуре клеток амниона человека, перевиваемых культурах клеток почек кролика (RK 13), Vero, BHK-21

и др. с ЦПД, которое проявляется в круглоклеточной дегенерации и появлении гигантских многоядерных клеток. В ряде культур вирус размножается без ЦПД и выявляется по феномену интерференции при заражении культур другими цитопатогенными вирусами (полиомиелита, ЕСНО 11, везикулярного стоматита, ньюкаслской болезни и др.). В зараженных клетках образуются цитоплазматические ацидофильные включения. Вирус патогенен для обезьян макак, а некоторые штаммы — и для кроликов.

Патогенез, клиника. Вирус передается воздушно-капельным путем. Первичное размножение его происходит в шейных лимфатических узлах, откуда вирус примерно через неделю после заражения попадает в кровь. Через 2 нед появляется сыпь. За 7—9 дней до появления сыпи вирус можно обнаружить в отделяемом носоглотки, за неделю и в течение недели после появления сыпи — в крови, при появлении сыпи — в моче и кале. Краснуха протекает как сравнительно легкое инфекционное заболевание. Болеют преимущественно дети младшего возраста, но могут болеть и взрослые. При заболевании беременных женщин вирус во время вирусемии проходит через плаценту и проникает в ткани плода, приводя к его гибели или тяжелым уродствам. Наибольший риск развития уродств при заражении матери в первом триместре беременности, в период формирования эмбриона, когда уродства возникают в 60% случаев. Поэтому краснуха в этом периоде является показанием для прерывания беременности. При перенесении заболевания во втором и третьем триместрах процент врожденных уродств снижается (примерно 25 и 8% соответственно). Уродства могут проявиться и в отдаленном среднем школьном возрасте.

Тератогенное действие вируса характеризуется триадой симптомов: 1) пороки сердца; 2) поражение органов зрения (двусторонняя катаракта, глаукома, близорукость и др.); 3) поражение органов слуха (глухота является наиболее частым пороком развития). Дети отстают в росте, массе тела, физическом и умственном развитии. Тератогенное действие обусловлено подавлением митотической активности клеток плода, цитодеструктивным действием вируса, поражением сосудов плаценты.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенной инфекции стойкий. Антитела класса IgM появляются при появлении сыпи, достигают максимального уровня через 1—2 нед

и исчезают через 2—3 мес. Антитела класса IgG появляются в первые дни после сыпи и достигают максимального уровня через 2—3 нед. Особенностью иммунитета является относительно высокий титр IgM и относительно низкий — IgG. Обнаружено нарушение клеточного иммунного ответа.

Эпидемиология. Путь заражения воздушно-капельный. Высокая заражаемость, отсутствие изоляции больных, большое количество инapparантных форм инфекции способствуют быстрому распространению ее и созданию иммунной прослойки среди населения еще в детском возрасте. Тем не менее женщины детородного возраста в 7 до 30% случаев являются серонегативными, т. е. не содержат антител к вирусу краснухи.

Лабораторная диагностика. Быстрые методы диагностики отсутствуют. Диагностика основана на выделении вируса из клинического материала и обнаружении антител к вирусу. Вирус может быть выделен из отделяемого носоглотки и крови до появления сыпи; из крови, мочи и кала — после появления сыпи. Вирус выделяют путем заражения культур клеток PK 13, Vero, SIRC (клетки роговицы кролика), первичной культуры клеток амниона человека. Идентификацию выделенного вируса проводят в РТГА, а также в РГ по тесту интерференции. Вирус может быть выделен из разных органов новорожденных, внутриутробно зараженных краснухой, путем сокультивирования с чувствительными культурами клеток. При врожденной инфекции вирус длительное время выделяется из кала и мочи больных детей.

Основным методом серодиагностики является определение антител класса IgM, обычно используется ИФ, ИФА или РИА. Для выявления антител IgM применяют анти-IgM антитела (к фрагменту мю), при использовании всех реакций удаляют ревматоидный фактор. Широко применяют определение антигеммагглютинирующих антител в РТГА с использованием эритроцитов голубей. Предварительно из сывороток удаляют ингибиторы путем обработки 20% каолином и изогеммагглютенины путем обработки 50% взвесью эритроцитов. Используют также ИФА, РРГ. Нарастание антител класса IgG определяют с помощью этих реакций при использовании парных сывороток, взятых через 1—3 дня после появления сыпи (1-я сыворотка) и через 1—2 нед после появления сыпи (2-я сыворотка).

Профилактика. Проводится система карантинных мер

в детских учреждениях. Целесообразна выборочная иммунизация девочек 12—14 лет, у которых нет антител к вирусу краснухи. Существуют убитые и живые вакцины, полученные из аттенуированных штаммов вируса, пассируемых при низкой температуре в культуре клеток почек зеленой мартышки и диплоидных клеток легких эмбриона человека.

Беременным женщинам не рекомендуется вводить иммуноглобулин, поскольку он не предупреждает вирусемиию.

Глава 9. СЕМЕЙСТВО КОРОНАВИРУСОВ (CORONAVIRIDAE)

Название происходит от лат.— согопа в связи с наличием шипиков в виде короны на поверхности вирусной частицы. Вирусы вызывают у человека легкие респираторные заболевания, а некоторые штаммы — гастроэнтериты.

Наиболее изученными штаммами коронавируса человека является штамм 229 Е, вызывающий энтериты, и адаптированные к клеточным культурам и мышам-сосункам штаммы ОС38 и ОС43, вызывающие респираторные заболевания.

Семейство включает также вирусы, патогенные для животных и вызывающие у них гепатиты, гастроэнтериты, энцефалиты (вирусы гепатита мышей, гастроэнтерита свиней и другие). Среди них наиболее хорошо изучен вирус инфекционного бронхита кур (ИБК).

Морфология. Вирионы представляют собой частицы с диаметром от 75 до 160 нм (рис. 42). Они окружены «частью» поверхностных булавовидных выступов длиной 12—24 нм и напоминают фигуру солнечной короны. Выступы расположены в два раза реже, чем шипики на поверхности вируса гриппа, легко отламываются при хранении и очистке вирусов, разрушаются бромелайном и трипсином.

В сердцевине вириона различают центральное тело и матрикс. Центральное тело представляет собой спиральный нуклеокапсид с диаметром 14—16 нм, образованный нитями диаметром 9 нм. Матрикс расположен между нуклеокапсидом и липопротеидной оболочкой.

Химический состав и физико-химические свойства. В состав вирионов входят РНК, белки, липиды, углеводы. Липиды находятся в составе липопротеидной мембраны,

углеводы — в составе гликопротеидов. Коэффициент седиментации вирусов 390S. Плавающая плотность вирионов в хлориде цезия $1,18 \text{ г/см}^3$, плавающая плотность нуклеокапсида $1,31 \text{ г/см}^3$.

Геном представляет одонитчатую линейную РНК с молекулярной массой $5 \cdot 10^6$ — $7 \cdot 10^6$ и коэффициентом седиментации 60—70S. При нагревании РНК диссоциирует на фрагменты с коэффициентом седиментации 35S и 4S. РНК содержит до 70 полиаденилатовых последовательностей на 3'-конце. Геном коронавируса имеет позитивную полярность, проявляет инфекционную активность.

Белки и антигены. Коронавирусы содержат три группы белков: белок нуклеокапсида с молекулярной массой $50 \cdot 10^3$ — $60 \cdot 10^3$, который ассоциирован с геномом и формирует спиральный РНП; белки оболочки, являющиеся гликопротеидами с молекулярной массой $90 \cdot 10^3$ — $180 \cdot 10^3$, которые обеспечивают адсорбцию и проникновение вируса в клетку и обуславливают слияние вирусной и клеточной мембран; матриксный белок с молекулярной массой $20 \cdot 10^3$ — $35 \cdot 10^3$, находящийся в составе вирусной оболочки и в разной степени гликозилированный.

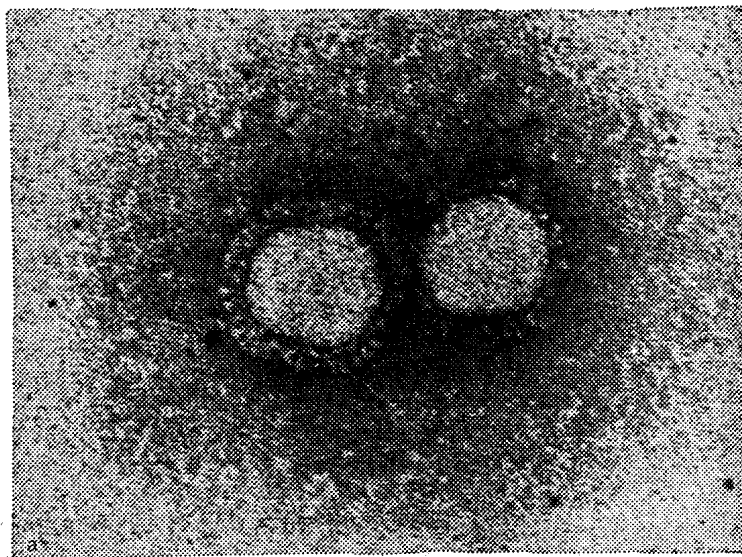
Вирионы агглютинируют эритроциты кур, мышей, крыс, но не агглютинируют эритроциты человека. Нейраминидазная активность вирионы не обладают и элюция вируса с эритроцитов имеет иной механизм, чем у вируса гриппа.

Коронавирусы человека имеют общие антигены с коронавирусами животных (крупного рогатого скота, мышей, свиней), за исключением вируса инфекционного бронхита кур и некоторых др.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирусы чувствительны к эфиру и детергентам, неустойчивы к pH 3,0, прогреванию при температуре 56°C , УФ-лучам.

Репродукция. Коронавирусы плохо культивируются в лабораторных условиях и это затрудняет их выделение и изучение. Некоторые штаммы можно культивировать только в органных культурах трахеи эмбриона человека, другие — в культурах ткани кишечника и почек эмбриона человека. Оптимальная температура для роста вируса 33 — 35°C .

Вирусы проникают в клетку путем эндоцитоза, репродукция их происходит в цитоплазме. В зараженных клетках функционируют 7 индивидуальных РНК с общим 3'-концом. Сборка вирионов происходит на мембране эндо-



плазматической сети с почкованием в цитоплазматические вакуоли, откуда вирусные частицы по каналам эндоплазматической сети попадают на наружную поверхность клетки.

Патогенез и клиника. Коронавирусы вызывают у человека острое респираторное заболевание, наиболее характерным симптомом которого является профузный насморк, обычно без повышения температуры. В кишечник вирус попадает вторично в результате вирусемии.

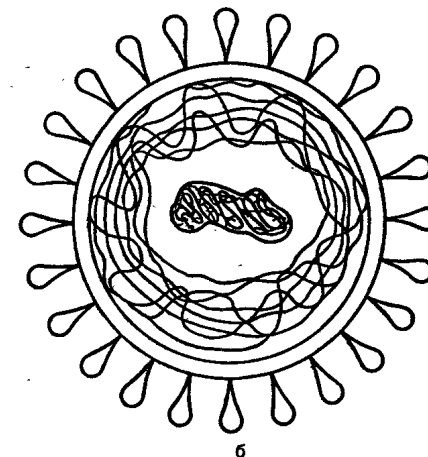
Иммунитет. После перенесенной инфекции обнаруживаются комплементсвязывающие, вируснейтрализующие, преципитирующие антитела, антигеммагглютинин, достигающие максимального уровня к 10—15-му дню заболевания. Наряду с антителами имеют значение и местные механизмы устойчивости.

Эпидемиология. Коронавирусные инфекции носят сезонный характер и распространены в основном в осенне-зимний период, однако спорадические случаи встречаются в течение всего года. Источником инфекции является больной человек, путь передачи воздушно-капельный. Заболевание высоко контагиозно, часты внутрисемейные и внутрибольничные вспышки.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является отделяемое носоглотки, из которого вирус выделяют на органных культурах трахеи и бронхов эмбри-

Рис. 42. Вирионы корона-вируса.

а — электронно-микроскопическое изображение; б — схема строения вириона.



она человека. Однако в связи с трудностью культивирования вируса основным методом является серологическая диагностика. Определение прироста антител в парных сыворотках крови больных проводят в РСК, РН в органных культурах, РТГА и РНГА. В реакциях используют эталонные диагностикумы, полученные из штаммов, адаптированных к росту в культурах ткани или обладающих геммагглютинирующей активностью (для постановки РТГА).

Профилактика не разработана.

Глава 10. СЕМЕЙСТВО ПАРАМИКСОВИРУСОВ (PARAMYXOVIRIDAE)

Семейство Paramyxoviridae (от лат. para — около и мукха — слизь) состоит из трех родов: Paramyxovirus — вирусы парагриппа человека (ВПГЧ) типов 1—5, свинки, Сендай, ньюкаслской болезни; Morbillivirus — вирусы кори, собачьей чумы, чумы коров и Pneumovirus — респираторно-синцитиальный вирус. В качестве типичного представителя семейства будет описан вирус Сендай.

Морфология. Вирусы имеют сферическую форму с диаметром 150—200 нм. Это наиболее крупные из РНК-содержащих вирусов. Внутренний компонент представлен нуклеокапсидом, имеющим спиральную симметрию. Длина нуклеокапсида 1 мкм, диаметр 12—18 нм. Шаг спирали нуклеокапсида 5—7 нм, на каждом витке спирали нахо-

дятся 11—13 субъединиц, образованных нуклеокапсидным белком (NP). Всего в нуклеокапсиде содержится 2400—2800 белковых субъединиц. Нуклеокапсид окружен липопротеидной оболочкой, которая покрыта шипиками, образованными двумя гликопротеидами вируса, HN (гемогглютинин и нейраминидаза) и F (белок слияния). Шипики имеют меньшую длину, чем шипики вируса гриппа (около 8 нм). Вирионы характеризуются значительной хрупкостью, и в препаратах наряду с цельными частицами всегда содержатся разрушенные частицы и спирали нуклеокапсида (см. рис. 4,а).

Химический состав и физико-химические свойства. Вирион содержит РНК, белки, липиды и углеводы. РНК составляет от 0,5 до 3% от сухой массы вириона. В составе вирионов обнаруживаются в основном «минус-нити», с которыми связана генетическая информация, однако, встречаются и вирионы, содержащие «плюс-нити». В вирионах содержится 5—7 белков молекулярной массой от $35 \cdot 10^3$ до $200 \cdot 10^3$, составляющие до 70% от сухой массы вирусной частицы. Липиды составляют 20—25% от сухой массы, они находятся в составе липопротеидной оболочки. Углеводы составляют около 6% по массе, они находятся в составе гликопротеидов.

Молекулярная масса вирионов $500 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 1000S, плавучая плотность в сахарозе 1,18—1,2 г/см³, в хлориде цезия 1,24 г/см³. Коэффициент седиментации нуклеокапсида 200S, плавучая плотность в хлориде цезия 1,31 г/см³.

Геном. Геном вируса представлен однонитчатой «минус-нитевой» РНК. РНК не обладает инфекционной активностью. Ее молекулярная масса $5,2 \cdot 10^6$ — $5,6 \cdot 10^6$, среди РНК-содержащих вирусов это наиболее крупные размеры генома. Геном имеет 6 генов, расположенных в следующем порядке: 3'-NP-P/C-M-F-HN-L-5'. Ген P/C кодирует два уникальных белка: структурный Р и неструктурный С.

Белки, антигены. РНК тесно связана с белком NP. Помимо белка NP с РНК ассоциированы два других белка. Один из них является РНК-полимеразой, представляющей собой самый высокомолекулярный L-белок (от англ. large — большой) в вирусной частице. Другой, Р-белок, также участвует в синтезе РНК, и, по-видимому, является субъединицей РНК-полимеразы.

Остальные 3 белка связаны с липопротеидной оболочкой. Два из них являются гликопротеидами. Это белок HN,

который обладает функциями гемогглютинина и нейраминидазы, и белок слияния, F-белок.

F-белок синтезируется в виде белка-предшественника F₀, который нарезается в клетке на белки F₁ и F₂. N-конец белка F₁, образующийся при нарезании белка-предшественника F₀, имеет последовательность из 10—15 незаряженных аминокислот. Эта гидрофобная последовательность обуславливает слияние вирусной и клеточной мембран при проникновении вируса в клетку. F-белок способен вызывать слияние мембран при нейтральных значениях pH.

Вирус имеет один или два поверхностных антигена и внутренний антиген, представленный белком нуклеокапсида. В вирионах нет общего антигена единого для всего семейства или рода.

С внутренней стороны в липопротеидную мембрану встроен мембранный или матриксный белок, который стабилизирует вирусную частицу и является медиатором сборки. Помимо структурных белков, есть по крайней мере один неструктурный с молекулярной массой около $22 \cdot 10^3$.

Ферменты. В составе вируса находятся РНК-полимераза (транскриптаза) и два фермента, модифицирующих концы транскриптов и РНК: метилтрансфераза и полиаденилаттрансфераза. Другими ферментами являются нейраминидаза и протеинкиназа.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Парамиксовирусы относятся к наименее устойчивым вирусам. Они чувствительны к эфиру и детергентам, прогреванию, быстро инактивируясь при температуре 50°С, чувствительны к трипсину и к фосфолипазам. В замороженном виде при 60°С длительно сохраняют инфекционную активность.

Репродукция. Адсорбция вирусной частицы на клетке осуществляется в результате взаимодействия гликопротеида HN со специфическими рецепторами клетки, которыми являются гликопротеиды и ганглиозиды. Вирус проникает в цитоплазму путем слияния вирусной мембраны с плазматической мембраной клетки или стенкой эндодцитарной вакуоли. Репродукция происходит в цитоплазме.

Формирование нуклеокапсида происходит за счет специфического узнавания белками определенных участков на молекуле генома и белок-белкового узнавания, приводящего к самосборке структуры. Нуклеокапсид подходит

к тем участкам плазматической мембраны, на которых с наружной стороны уже встроены вирусные гликопротеиды, а с внутренней стороны М-белок.

ВИРУСЫ ПАРАГРИППА ЧЕЛОВЕКА (ВПГЧ)

Вирусы были выделены в 1956—1958 гг. в США путем заражения культур клеток почки обезьяны смывами из носоглотки у детей с гриппоподобными заболеваниями. Вирусы выявляли по РГ_{адс} и первоначально они были названы гемадсорбирующими вирусами. Вирусы отличаются между собой по ряду признаков, но имеют типичные для парамиксовирусов фундаментальные свойства. Вирусы относительно нестойки, быстро инактивируются в кислой среде и при нагревании, разрушаются эфиром, хлороформом, детергентами. При температуре 70°C могут храниться несколько месяцев, добавление до 50% раствора глицерина значительно повышает их стабильность при хранении. При лиофилизации вирусы сохраняют инфекционную активность в течение нескольких лет при температуре 4°C.

Все пять типов обладают гемагглютинирующей активностью, различающейся по спектру эритроцитов и интенсивности. Вирусы типов 1 и 2 агглютинируют эритроциты не только морских свинок, мышей, овец и человека, но и кур, в то время как вирус типа 3 не агглютинирует эритроциты кур, а вирус типа 4 агглютинирует только эритроциты морской свинки. Гемагглютинация лучше происходит при температуре 4 и 20°C, чем при температуре 37°C. У всех типов обнаружена нейраминидаза. Гемагглютинирующие антитела и нейраминидаза являются типоспецифическими белками, в то время как внутренние белки имеют общие антигенные детерминанты.

Вирусы размножаются в основном в первично трипси-низированных клеточных культурах. Наиболее чувствительны культуры почек макаков резусов, менее чувствительны культуры клеток почек эмбриона человека и морской свинки. Еще менее чувствительны перевиваемые культуры клеток человеческого происхождения (Hela, KB, HEp-2) и почек обезьян (Vero, BSC-1), в которых размножается только вирус типа 2. При размножении в культуре клеток все вирусы вызывают гемадсорбцию, которую выявляют обычно в РГ_{адс} с 0,5% взвесью эритроцитов морской свинки. Характер ЦПД зависит от типа вируса. Вирусы типов 1 и 4 вызывают появление отдельных зер-

нистых клеток, отпадающих от стекла, что приводит к разрежению клеточного пласта. Вирусы типов 2 и 3 вызывают образование симпластов. Находящиеся в симпласте клетки утрачивают способность к митозу, погибают и отпадают от стекла. Возникают отверстия в однослойной культуре ткани, и она приобретает вид «швейцарского сыра». Штаммы, вызывающие образование симпластов, способны формировать бляшки под агаровым покрытием. Все типы вирусов вызывают образование в цитоплазме ацидофильных включений.

Из лабораторных животных к вирусам частично восприимчивы хомяки, белые мыши, белые крысы, молодые морские свинки. Инфекция у животных протекает без выраженных клинических симптомов, но сопровождается накоплением вируса в легких и появлением антител.

ВПГЧ являются распространенными возбудителями острых респираторных заболеваний, которые у взрослых протекают нередко с явлениями ларингита, а у детей — более тяжело, у них часто развивается интоксикация. Вирусы типов 1 и 2 вызывают круп, типа 3 — бронхолит и очаговую пневмонию. Инфекции, вызванные ВПГЧ-3, протекают наиболее тяжело, особенно у детей первого года жизни, и по летальности занимают второе место после инфекций, вызванных респираторно-синтициальным вирусом. Инфекции, обусловленные ВПГЧ-4, встречаются реже и протекают легче.

Вирусы вызывают локальные вспышки, чаще в осенне-зимне-весенний период. Они передаются воздушно-капельным путем, выделяются больным во внешнюю среду в первые 3—10 дней после начала заболевания. Инкубационный период заболеваний длится 3—6 дней, встречаются на всем земном шаре, но удельный вес их среди острых респираторных заболеваний в странах умеренного климата выше, чем в странах экваториальной зоны. Иммуитет связан с образованием антител класса IgG, так и класса IgA.

Лабораторная диагностика осуществляется путем выявления специфического антигена в клетках эпителия слизистой оболочки носовых ходов и носоглотки в ИФ и ИФА, выделения вируса и определения прироста антител в парных сыворотках переболевших в РТГ_{адс} и РН в культуре клеток.

Вирус парагриппа типа 1. Некоторые штаммы адаптированы к куриному эмбриону. В культуре клеток почек обезьян вирус оказывает слабое ЦПД и выявляется толь-

ко в РГ_{адс}. Вирус вызывает у детей ларингиты с явлениями ложного крупа, насморк, фарингиты, бронхиты, а также пневмонии. У взрослых обычно отмечаются легкие респираторные заболевания, сопровождающиеся насморком.

К этому же типу относится вирус Сендай, имеющий общий антиген с вирусом парагриппа. Вирус Сендай, патогенен для животных (мышей, свиней и др.), но непатогенен для человека. В отличие от других вирусов, парагриппа вирус Сендай хорошо размножается в куриных эмбрионах, а в культуре ткани оказывает четкое ЦПД.

Вирус парагриппа типа 2. К этой группе относится вирус, вызывающий круп (group-associated virus, СА-вирус). Он хорошо размножается в разных культурах клеток — почек обезьян, легких и амниона человека, а также HeLa, вызывая характерный цитопатический эффект, заключающийся в слиянии клеток и образовании синцития. Вирус агглютинирует эритроциты цыплят и человека группы 0, лучше при температуре 4°С, чем при температуре 37°С.

Вирус имеет общий антиген с вирусом паротита.

Вирус парагриппа типа 3 размножается в первичных и некоторых перевиваемых культурах клеток почки обезьяны с образованием симпластов. Вызывает тяжелые респираторные заболевания с поражением дыхательных путей. Вирусы выделяют из смывов носоглотки путем заражения культуры клеток почки обезьяны и человека и обнаруживают по РГ_{адс} и ЦПД. Сходный вирус вызывает респираторное заболевание у крупного рогатого скота.

Вирусы парагриппа типов 4 и 5 не оказывают ЦПД и выявляются только по РГ_{адс}. К типу 5 относится SV5, широко используемый как модель, типичный представитель парамиксовирусов.

ВИРУС ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА

Эпидемический паротит (свинка) является острой инфекцией, характеризующейся поражением одной или обеих околоушных слюнных желез и возможным поражением ряда других органов.

Вирус имеет типичную для парамиксовирусов морфологию и биологические свойства. Он хорошо размножается в куриных эмбрионах при заражении их в амниотическую полость. Пассажи на куриных эмбрионах снижают пато-

генность для человека и это свойство используется при создании живой вакцины. Вирус культивируется в ряде клеточных культур с образованием многоядерных гигантских клеток. Он вызывает агглютинацию эритроцитов кур, морских свинок, лошадей, баранов, человека группы О, наименьшей чувствительностью обладают эритроциты кур.

К вирусу чувствительны обезьяны, у которых развивается заболевание, сходное с заболеванием у человека.

Патогенез. Наиболее восприимчивы дети от 5 до 15 лет. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Вирус перемещается из полости рта по протоку околоушной железы (стенонов проток), где происходит его репродукция. Возможно, первичная репродукция вируса происходит в эпителии слизистой оболочки верхних дыхательных путей, затем вирус поступает в кровь и разносится по всему организму, попадая в яичники, яички, поджелудочную и щитовидную железы, мозг. В неосложненных случаях происходит местное поражение тканей околоушных желез. Примерно у 20% мальчиков старше 13 лет развивается орхит, который может обусловить половую стерилизацию (стерильность). При тяжелых формах орхитов яички отекают, при пунктации обнаруживается геморрагическая жидкость, происходит дегенерация эпителия семенных канальцев. Поражения ЦНС проявляются в воспалительных реакциях, повреждении нейроглии, кровоизлиянием, демиелинизацией.

Клиника. Инкубационный период длится 18—21 день. Болезнь начинается с воспаления околоушной железы, одной или обеих, и других слюнных желез. Воспаление длится около недели и сопровождается умеренным подъемом температуры. Наиболее частыми осложнениями являются орхит, менингит, менингоэнцефалит, более редкие осложнения — полиартрит, панкреатит, нефрит, тиреоидит.

Иммунитет. Перенесенная инфекция оставляет стойкий иммунитет. Иммунитет, связанный с передачей антител от матери к плоду, эффективен в течение первых 6 месяцев жизни ребенка.

Существует только один антигенный тип вируса.

Эпидемиология. Эпидемиологический паротит распространен по всему миру. Хотя инфекция наиболее часто регистрируется у детей в возрасте от 5 до 15 лет, однако могут болеть и взрослые. Смертельные случаи встречаются

ся крайне редко, даже при наличии осложнений и поражений ЦНС.

Заражение происходит воздушно-капельным путем и через предметы, загрязненные слюной и мочой. Человек заразен в течение всего инкубационного периода и первой недели заболевания. Заболевание часто протекает бессимптомно и выявляется по приросту антител. Лица с бессимптомной инфекцией являются источником инфекции.

Лабораторная диагностика. Материалом для выделения вируса служит слюна больных, взятая в первые 3 дня болезни. При менингите и менингоэнцефалите, кроме слюны, исследуют цереброспинальную жидкость, которую берут не позже 6 дней после начала заболевания. Вирус можно выделить из мочи и в более поздние сроки. Заражают 7—8-дневные куриные эмбрионы и инкубируют при температуре 35° С 6—7 дней. Наличие вируса в амниотической жидкости определяют в РГА с куриными эритроцитами. После ряда пассажей вирус появляется в аллантоисе. Идентификацию вируса проводят в РТГА и РСК.

Для выделения вируса используют также культуры клеток почек обезьяны, эмбриона человека, морской свинки или HeLa. Через 48—72 ч после заражения в культуре клеток появляются многоядерные гигантские клетки и симпласты. В клетках обнаруживаются цитоплазматические включения, выявляется РГ_{адс}. В дальнейшем происходит полное разрушение клеток. В культуральной среде появляются гемагглютинины. Идентификацию вируса проводят в реакциях иммунофлюоресценции, нейтрализации, торможения гемадсорбции, гемагглютинации, связывания комплемента. В культурах клеток вирус паротита выделяется в большем проценте случаев, чем в куриных эмбрионах.

Серологическая диагностика проводится путем установления прироста антител в парных сыворотках больных в РТГА или РСК. В качестве антигена используют амниотическую или аллантоисную жидкость зараженных куриных эмбрионов или экстракт зараженных культур клеток или стандартный диагностикум. Сыворотки больных освобождают от неспецифических ингибиторов посредством обработки каолином и 50% эритроцитарной массой.

Профилактика. Поскольку эпидемический паротит является сравнительно легким заболеванием, профилакти-

ка его не является такой необходимостью, как при полиомиелите, дифтерии и других тяжелых детских инфекциях. Применение живой вакцины показано для детей старше 1 года, а также для подростков и взрослых, не болевших ранее эпидемическим паротитом. Вакцина вводится подкожно, однократно, обычно вместе с коревой вакциной.

ВИРУС НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ

Вирус ньюкаслской болезни высоко патогенен для кур, вызывая пневмонию и энцефалит у цыплят и респираторное заболевание у взрослых кур. Благодаря размножению в высоких титрах в куриных эмбрионах вирус широко используется как удобная лабораторная модель. У человека этот вирус вызывает конъюнктивит. Инфекция является профессиональной болезнью работников лабораторий и служащих птицефабрик, ухаживающих за заболевшими животными.

Заболевание длится 10—14 дней и сопровождается образованием антител, которые выявляются в РТГА, РСК и РН на куриных эмбрионах и в культуре клеток.

ВИРУС КОРИ

К роду Morbillivirus относится вирус кори, а также вирусы чумы собак и рогатого скота. Впервые вирус был выделен в 1954 г. Дж. Эндерсом с соавт. и Пибсом в культуре клеток почек обезьян. Морфология вируса кори типична для парамиксовирусов. Диаметр вирионов 120—250 нм, спирали нуклеокапсида — 17 нм, шаг спирали — 4,5 нм. Вирус имеет липопротеидную оболочку, в которую встроены с наружной стороны гликопротеиды — гемагглютинин, F-белок. Отличием от других парамиксовирусов является отсутствие нейраминидазы. В составе вируса находятся шесть белков с молекулярными массами от $37 \cdot 10^3$ до $200 \cdot 10^3$: помимо двух гликопротеидов, белки нуклеокапсида Р и NP, РНК-полимераза (L-белок) и М-белок. Геном представлен однонитчатой «минус-нитевой» РНК.

Вирус содержит несколько антигенов. Антигены наружной оболочки могут быть отделены от антигенов сердцевины при разрушении очищенного вируса жирорастворителями или детергентами. Вирус имеет общие антигенные детерминанты с вирусом чумы собак и рогатого скота. У людей, переболевших корью, появляются

антитела к указанным вирусам, и, наоборот, у животных после перенесенного заболевания появляются коревые антитела. С помощью моноклональных антител обнаружено несколько серовариантов вируса кори.

Вирус чувствителен к эфиру и детергентам, быстро инактивируется при pH 2,0—4,0, при температуре 56°С инактивируется в течение 30 мин. В высохших каплях слизи при температуре 12—15°С он может сохраняться несколько дней.

Вирус обладает гемагглютинирующей, гемолитической и симпластообразующей активностью; агглютинирует эритроциты обезьян, но не агглютинирует эритроциты кур, морских свинок и других видов животных.

Из лабораторных животных к вирусу кори восприимчивы только обезьяны, которые дают типичную клиническую картину коревой инфекции.

Наиболее чувствительными клеточными культурами являются первичные культуры почек обезьяны и эмбриона человека. Вирус может быть адаптирован и к клеткам почки собак, телят, клеткам амниона человека и к перевиваемым культурам клеток человеческого (HeLa, KB, FL) и обезьяньего (Vero, MS, BSC1) происхождения. Он оказывает на клетки характерный цитопатический эффект с образованием гигантских многоядерных клеток-симпластов, включающих до 100 ядер, и синцитиев. В зараженных клетках формируются включения — ацидофильные в цитоплазме, базофильные в ядре. Цитоплазматические включения содержат помимо белков вирусного РНП, неструктурный белок С. Ядерные включения в основном содержат белок С. В зараженных культурах появляется гемадсорбция.

Вирусы кори, выделенные в разных географических зонах, антигенно сходны.

Патогенез. Вирус проникает в верхние дыхательные пути и размножается в клетках эпителия слизистой оболочки, носоглотки, трахеи и бронхов. Он попадает в кровь и вызывает поражения эндотелия сосудов. В результате экссудации сыворотки в эндотелий капилляров эпидермиса и локального некроза клеток эндотелия появляется сыпь. В полости рта обнаруживаются пятна Коплика — Филатова — везикулы, образовавшиеся в результате некроза эндотелиальных клеток слизистой оболочки полости рта. Происходит генерализованная гиперплазия лимфоидной ткани, в лимфатических узлах, миндалинах, аденоидах, селезенке обнаруживаются много-

ядерные гигантские клетки. Они обнаруживаются в кожных поражениях и пятнах Коплика — Филатова.

Клиника. Инкубационный период составляет около 10 дней до момента повышения температуры и 14 дней до появления сыпи. В продромальном периоде инфекции напоминает острое респираторное заболевание и протекает с симптомами поражения верхних дыхательных путей (ринит, фарингит, конъюнктивит). Диагностическим признаком являются пятна Коплика — Филатова на слизистой оболочке щек. Сыпь папулезного характера сначала появляется на коже головы (в области лба и за ушами), а затем распространяется по всему туловищу и конечностям. Температура держится 7—8 дней. Осложнением кори является пневмония, в раннем периоде заболевания отек гортани, круп. Редким осложнением (примерно 1 на 2000 случаев) является энцефаломиелит, который обычно возникает у детей старше 8—10 лет.

Иммунитет. После перенесенного заболевания остается прочный (пожизненный) иммунитет. Вирус кори подавляет активность Т-лимфоцитов и вызывает ослабление защитных реакций организма.

Эпидемиология. Корь является эндемичной инфекцией. Определяющим фактором, обуславливающим распространение инфекции, является состояние коллективного иммунитета населения. Вспышки кори возникают при появлении прослойки восприимчивых детей. При попадании вируса в изолированные коллективы, где циркуляции вируса не было, корью заболевают люди всех возрастов. Классическим примером является занос кори на Фарерские острова в 1846 г., когда корью переболело все население, кроме лиц пожилого возраста, заставших последнюю эпидемию кори. В подобных обстоятельствах корь протекает тяжело и смертность достигает 25%.

В основном вспышки кори регистрируются в конце зимы и весной. Вирус выделяется главным образом в продромальном периоде при дыхании и кашле с каплями слизи.

Лабораторная диагностика. Обычно корь легко диагностируется по клинической картине и наличию пятен Коплика — Филатова, имеющих примерно у 95% больных. Быстрая диагностика кори основана на обнаружении методом ИФ специфического антигена в клетках эпидермиса кожи при взятии соскоба из участка сыпи, диагностическим признаком является также обнаружение специфического антигена и многоядерных

клеток в отделяемом носоглотки. Широко применяется метод обнаружения антител класса IgM в ИФА с использованием анти-IgM сыворотки. У 97% больных менее чем через 1 нед после начала заболевания обнаруживают IgM, которые сохраняются в течение 60 дней.

Выделение вируса из смывов носоглотки и крови возможно в продормальном периоде и в течение первых суток после появления сыпи. Для выделения вируса используют культуру клеток почек эмбриона человека и перевиваемые культуры L-41, Vero и клеток амниона человека (штамм FL). Культуры почек обезьян также чувствительны к вирусу кори, но реже применяются для выделения вируса в связи с возможной контаминацией обезьяньим кореподобным вирусом. Через 72—96 ч вирус кори вызывает в культуре клеток образование гигантских многоядерных клеток и синцитиев с цитоплазматическими включениями, позже образуются внутриядерные включения, которые не содержат антиген и не флуоресцируют. Включения гомогенны и окружены светлым ореолом. Идентификацию выделенного вируса проводят с помощью ИФ, РТГА, РН в культуре ткани. Антиген обнаруживают через 36—48 ч после заражения культуры ткани, сначала в околядерной области цитоплазмы, затем в составе цитоплазматических включений, а потом диффузно распределяется во всей цитоплазме.

Серологическая диагностика проводится в РН в культуре клеток, РСК и РТГА. В клетках Нер-1, Нер-2, KB, амниона человека ставят РН, используя вирус, адаптированный к данной культуре и вызывающий в ней выраженные цитопатические изменения. В РСК в качестве антигена применяют экстракт зараженных культур после трехкратного замораживания и оттаивания. РТГА ставят с 0,5% взвесью эритроцитов обезьян при комнатной температуре.

Все три реакции имеют одинаковую чувствительность.

Профилактика. Профилактика основана на иммунизации живой вакциной, приготовленной из аттенуированных штаммов вируса.

В нашей стране для получения вакцины используют культуру клеток фибробластов эмбрионов японских перепелов. При охвате вакцинацией 90—95% детей резко снижается заболеваемость и прекращается циркуляция вируса.

Однако вакцинированные могут тоже заболеть корью в результате ряда причин: во-первых, в результате вакци-

нации вакциной, потерявшей иммуногенность; во-вторых, в результате отсутствия иммунитета (иммунитет формируется у 95—97% вакцинированных). Благодаря вакцинации в ряде стран корь практически ликвидирована (например, в Чехословакии).

В очагах кори детям до 2 лет и ослабленным детям старших возрастов вводят противокоревой иммуноглобулин.

Подострый склерозирующий панэнцефалит. Это медленная инфекция с летальным исходом, связанная с поражением ЦНС. Симптомами ее являются ступор, двигательные расстройства, слабоумие. О сходстве с возбудителем заболевания вируса кори свидетельствовали противокоревые антитела в крови и цереброспинальной жидкости, наличие в клетках мозга характерных включений, состоящих из скоплений вирусного рибонуклеопротеида, выявление специфического коревого антигена в ИФ. Окончательно установить этиологию этого заболевания удалось путем выделения вируса кори из мозга и лимфатических узлов погибших людей при сокультивировании с культурой клеток HeLa. Болезнь развивается в результате заноса вируса кори после перенесенной острой инфекции в клетки ЦНС; клетки являются непермиссивными для вируса и в них происходит abortивный цикл репродукции, не сопровождающийся сборкой вирусной частицы. Отсутствие сборки обусловлено отсутствием синтеза М-белка или резким уменьшением его количества (у больных людей антитела к М-белку не обнаруживаются). Следствием этого является накопление и персистирование в зараженных клетках больших количеств рибонуклеопротеидов и постепенное разрушение клеток. Возможную роль в возникновении персистентной инфекции играет снижение клеточного иммунитета, приводящее к отсутствию распознавания Т-лимфоцитами клеток с антигенно измененной структурой поверхности.

РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНЫЙ ВИРУС (РС-ВИРУС)

Свое название вирус получил в результате специфического ЦПД в культуре клеток, ведущего к образованию симпластов и синцитиев. Этот вирус классифицируется как отдельный род (Pneumovirus), куда входят вирусы пневмонии мышей.

Сходны, но не идентичны с РС-вирусами человека РС-вирусы рогатого скота. Эти вирусы в естественных условиях поражают молодняк крупного рогатого скота, вызывая у них тяжелые респираторные заболевания, часто осложняющиеся пневмониями. Вирусы размножаются в культуре клеток почек эмбрионов крупного рогатого скота.

Первый штамм РС-вирусов был выделен в 1956 г. от шимпанзе с респираторным заболеванием и был назван «вирус насморка обезьян». Затем Р. Ченок с соавт. в 1957 г. выделили сходные штаммы от больных детей и показали, что вирус может вызывать респираторное заболевание у человека.

Вирус имеет сферическую форму, но отличается от других парамиксовирусов большей полиморфностью, диаметр частиц в среднем 120—200 нм. На поверхности вириона имеются шипики большей длины, чем у других представителей семейства (12—16 нм), которые по форме напоминают бутылки. Нуклеокапсид имеет меньший диаметр, чем у других парамиксовирусов (10—13,5 нм). Шаг спирали — 6,5—7 нм.

Вирионы имеют плавучую плотность в хлориде цезия 1,23 г/см³. Геном имеет типичное для парамиксовирусов строение и представлен однонитчатой «минус-нитевой» РНК с молекулярной массой $5 \cdot 10^6$ — $5,6 \cdot 10^6$. В зараженных клетках образуется 10 классов иРНК, кодирующих более 10 белков. Семь белков являются структурными; в составе нуклеокапсида находятся белки N, P и L (вирусная РНК-полимераза), в составе липопротеидной оболочки два гликопротеида, G и F (белок слияния), а на внутренней поверхности оболочки белок M и белок K с молекулярной массой $22 \cdot 10^3$. Два белка с молекулярной массой $11 \cdot 10^3$ и $14 \cdot 10^3$ являются неструктурными.

В отличие от других парамиксовирусов, у РС-вирусов не выявлено ни гемагглютиниана, ни нейраминидазы. Вирус исключительно лабилен и разрушается при замораживании и оттаивании, а также при обработке эфиром и детергентами. Он хорошо размножается в перевиваемых клеточных линиях HeLa, Нер-2, KB, BSC-1, FL и др. с образованием синцития, в ряде культур формирует бляшки.

Вирус патогенен для человека и обезьян. Наибольшую опасность вирус представляет для детей первых 6 мес жизни, у которых он вызывает тяжелые поражения нижних отделов дыхательных путей (бронхиты, бронхо-

литы, пневмонии). К 2 годам примерно у половины, а к 3 годам у $3/4$ детского населения появляются вируснейтрализующие антитела. Частота РС-вирусных инфекций среди острых респираторных заболеваний колеблется от 3 до 16%. Вспышки инфекции возникают в осенне-зимний период. Известны 2 серотипа вируса.

Вирус попадает в организм воздушно-капельным путем. Инкубационный период 3—5 дней. Размножение происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей, и патологический процесс быстро распространяется на нижние дыхательные пути. У переболевших появляются антитела в сыворотке и отделяемом слизистой оболочки носа, представленные иммуноглобулинами класса А. Секреторные антитела являются важным фактором иммунитета при РС-инфекции.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является отделяемое носоглотки, которое берут сухими марлевыми тампонами с задней стенки глотки. У погибших детей исследуют ткань легких, трахеи и бронхов. Материал не замораживают в связи с высокой лабильностью вируса и используют как можно раньше после взятия.

Быстрая диагностика заболевания заключается в выявлении специфического антигена в отделяемом носоглотки с помощью ИФ. У детей, погибших от пневмонии или бронхоолита, в эпителии слизистой оболочки бронхов обнаруживаются многоядерные клетки и синцитий. Специфический антиген выявляют в цитоплазме эпителия слизистой оболочки носоглотки в первые 2 дня после заболевания и в течение 1—1,5 нед болезни. В период вспышек положительная ИФ наблюдается более чем в 50% случаев.

Вирус выделяют в культурах клеток HeLa, Нер-2, KB, FL, в первичных и перевиваемых клетках почек эмбриона человека и морских свинок. Через 24—48 ч после заражения появляются гигантские многоядерные клетки и синцитий, содержащие цитоплазматические включения, через 4—5 дней клетки полностью разрушаются. Вирус выделяют за сутки до появления симптомов заболевания и в течение 10—14 дней в период болезни.

Для идентификации вируса используют ИФ, РН в культуре клеток и РСК.

Серологическая диагностика проводится в РСК и РН в культуре клеток. Более чувствительной является РН, что позволяет диагностировать РС-инфекцию в 70—80%

случаев. Однако у детей первых 6 мес жизни имеются материнские антитела в титре до 1:320, и поэтому прирост антител у них может не обнаруживаться. Поэтому у таких детей диагностика основана на обнаружении специфического антигена в эпителии слизистой оболочки носоглотки с помощью ИФ и ИФА.

Специфическая профилактика не проводится.

ГЛАВА 11. СЕМЕЙСТВО ОРТОМИКСОВИРУСОВ (ORTHOMYXOVIRIDAE)

Название происходит от греч. *orthos* — правильный и *муха* — слизь и было предложено для этого семейства в связи с сродством его представителей к мушкетеру. К миксовирусам были отнесены вирусы гриппа, кори, паротита, парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, которые позже были выделены в отдельное семейство парамиксовирусов.

КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ ГРИППА

Все представители семейства ортомиксовирусов являются вирусами гриппа. Они классифицируются на вирусы гриппа типов А, В и С по антигену РНП, который не дает перекрестных межтиповых серологических реакций¹. Характерной особенностью вирусов гриппа типа А является изменение антигенных свойств обоих поверхностных белков (гликопротеидов) гемагглютинина и нейраминидазы. Многочисленные антигенные варианты вирусов гриппа с различными типами гемагглютинина и нейраминидазы выделяют от домашних и диких животных. Наличие различных антигенных вариантов потребовало унифицированной классификации вирусов на основе антигенных свойств гемагглютинина и нейраминидазы.

С 1980 г. по предложению ВОЗ введена новая классификация вирусов гриппа типа А, основанная на обозначении антигенного подтипа гемагглютинина и нейраминидазы. Гемагглютинирующие антигены всех штаммов вируса гриппа сгруппированы в 13 подтипов Н1 — Н13, а нейраминидазные антигены — в 10 подтипов N1 — N10.

¹ Поскольку вирус гриппа типа С отличается от вирусов гриппа типов А и В по ряду фундаментальных свойств, он выделен в отдельный род.

У вируса гриппа типа В, хотя и существуют антигенные варианты, однако их не так много и они не нуждаются в классификации. В отличие от вирусов типа А, циркулирующих как у людей, так и у животных, вирусы гриппа типа В выделены только от человека.

По рекомендации ВОЗ система номенклатуры вирусов гриппа состоит из 2 частей: обозначение штаммов и описание антигенов гемагглютинина и нейраминидазы. Обозначение штаммов включает: 1) тип (А, В и С); 2) естественный хозяин, если это не человек; 3) географическое происхождение штамма; 4) порядковый номер штамма; 5) год выделения штамма. Описание антигенов НА и NA для вируса типа А следует за обозначением штамма и заключается в круглые скобки, например А/утка/СССР/695/76 (Н3N2).

Типовым представителем ортомиксовирусов является вирус гриппа типа А.

ВИРУСЫ ГРИППА ТИПА А

Вирус гриппа человека выделен в 1933 г. Смитом, Эндрюсом и Лейдлоу путем заражения хорьков смывами носоглотки больного гриппом Вильсона Смита (отсюда название первого штамма WS).

Морфология. Вирус имеет сферическую форму, диаметр вирусной частицы 80—120 нм (см. рис. 7, а). В препаратах свежевыделенных от больного вирусов встречаются нитевидные формы значительной длины. Вирус содержит липопротеидную оболочку, покрытую шипиками длиной около 10 нм. Шипики образованы двумя гликопротеидами — гемагглютинином и нейраминидазой. Шип гемагглютинина образован тремя молекулами белка, шип нейраминидазы образован четырьмя молекулами белка (рис. 43).

Внутренним компонентом вирионов является нуклеокапсид спиральной симметрии с диаметром около 9 нм. Он уложен в виде двойной спирали с диаметром 50—60 нм с односпиральной петлей на конце.

В соответствии с 8 фрагментами генома имеется 8 фрагментов нуклеокапсида. В составе вирионов между фрагментами существует слабая связь.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирус содержит по массе 1—2% РНК, 50—70% белков, 18—37% липидов, 5—9% углеводов. Липиды содержатся в липопротеидной оболочке, углеводы — в составе глико-

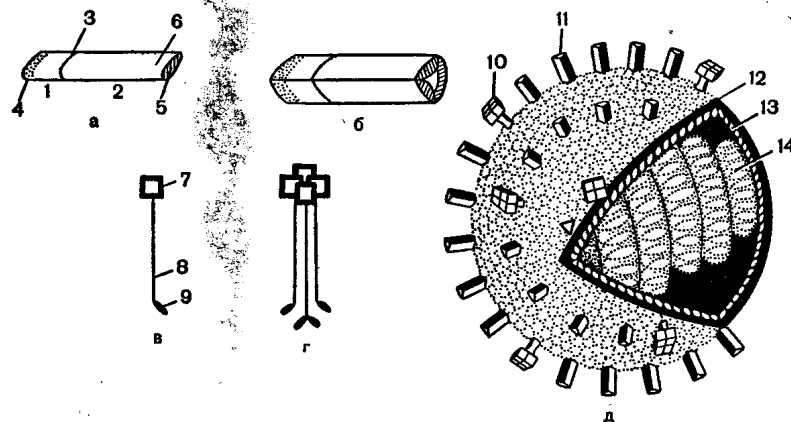


Рис. 43. Строение вириона гриппа (схема).

а — мономер гемагглютинина: 1 — малая субъединица гемагглютинина; 2 — большая субъединица гемагглютинина; 3 — место нарезания гемагглютинина-предшественника; 4 — С-конец малой гемагглютинирующей субъединицы, погруженный в липиды; 5 — N-конец большой гемагглютинирующей субъединицы, взаимодействующий с рецепторами клетки; 6 — антигенная детерминанта; б — тример гемагглютинина; в — мономер нейраминидазы; 7 — гидрофильный участок нейраминидазы; 8 — стержень нейраминидазы; 9 — гидрофобный участок нейраминидазы; г — тетрамер нейраминидазы; 10 — нейраминидаза в составе вириона; 11 — гемагглютинин в составе вириона; 12 — липидный бислой наружной оболочки вириона; 13 — слой матричного белка; 14 — рибонуклеопротеид.

протеидов. И липиды и углеводы имеют клеточное происхождение.

Молекулярная масса вирусной частицы $250 \cdot 10^6$, плавающая плотность в сахарозе $1,19 \text{ г/см}^3$. Фрагменты нуклеокапсида имеют длину от 50 до 130 нм; плавающая плотность нуклеокапсида в хлориде цезия $1,34\text{--}1,35 \text{ г/см}^3$.

Геном. Геном представлен 8 фрагментами однонитчатой линейной «минус-нитевой» РНК. Молекулярная масса отдельных фрагментов от $0,2 \cdot 10^6$ до $1 \cdot 10^6$, общая молекулярная масса $5 \cdot 10^6$. Каждый фрагмент, за исключением 7-го и 8-го, кодирует один белок, фрагменты 7 и 8 кодируют по два белка с уникальными последовательностями аминокислот, благодаря сплайсингу и сдвигу рамки при трансляции.

Определена первичная структура всех генов вируса гриппа.

Белки, антигены. В составе вируса гриппа содержится 7 белков.

Белки P_1 , P_2 , P_3 названы по первой букве слова «полимераза», поскольку предполагалось, что все три являют-

ся субъединицами РНК-полимеразы. На самом деле, РНК-полимеразой является белок P_1 . Белок P_3 обладает свойствами эндонуклеазы, «откусывая» «шапочку» у клеточных и РНК вместе с 10—13 прилегающими нуклеотидами и перебрасывая ее на 5'-конец вирусного транскрипта. Функции белка P_2 неизвестны. Белки P_1 и P_3 обладают основными свойствами, а белок P_2 — кислыми, поэтому их еще называют PB_1 (P_1), PB_2 (P_3) и PA (P_2). Все три белка находятся в составе нуклеокапсида и образуют комплекс, intimately связанный с геном.

Мономер гемагглютинина имеет форму палочки длиной 14 нм и диаметром 4 нм, которая одним концом (С-конец легкой цепи) погружена в липидный бислой (рис. 44). Субъединица гемагглютинина представляет собой тример.

Гемагглютинин синтезируется в виде предшественника, который нарезается протеолитическими ферментами на две субъединицы, тяжелую цепь (HA_1) и легкую (HA_2) с молекулярными массами примерно 50 000 и 25 000, связанные дисульфидными связями.

С помощью рентгеноструктурного анализа кристаллизованного HA , сделанного Д. Скейлом с соавт., предложена его пространственная модель. Согласно этой модели в тримере HA обнаруживаются два структурных участка — стебель и глобула. Глобула содержит антигенный и рецепторный участки (см. рис. 44). Она состоит только из HA_1 , а стебель — из обеих субъединиц (HA_1 и HA_2).

Обнаружено четыре предполагаемые зоны антигенов А, В, С, D. Зона антигена А является петлей, которая образуется между тримерами. Эти зоны соответствуют четырем антигенным детерминантам. Все они связаны с тяжелой цепью гемагглютинина. Две из них являются последовательными, а две образуются при взаимодействии мономеров. Третья обусловлена третичной структурой, четвертая — четвертичной структурой и формируется путем взаимодействия трех мономеров (см. рис. 44). Наиболее активными антигенными детерминантами являются 1-я и 2-я.

Гемагглютинин является основным специфическим антигеном вируса, определяющим, наряду с нейраминидазой, подтип вируса и вызывающий образование протективных антител. Свойство гемагглютинина к антигенной изменчивости обусловлено двумя генетическими процессами — дрейфом и шифтом. В результате дрейфа происходят незначительные изменения гена HA , обусловленные точечными мутациями, а антигенные свойства

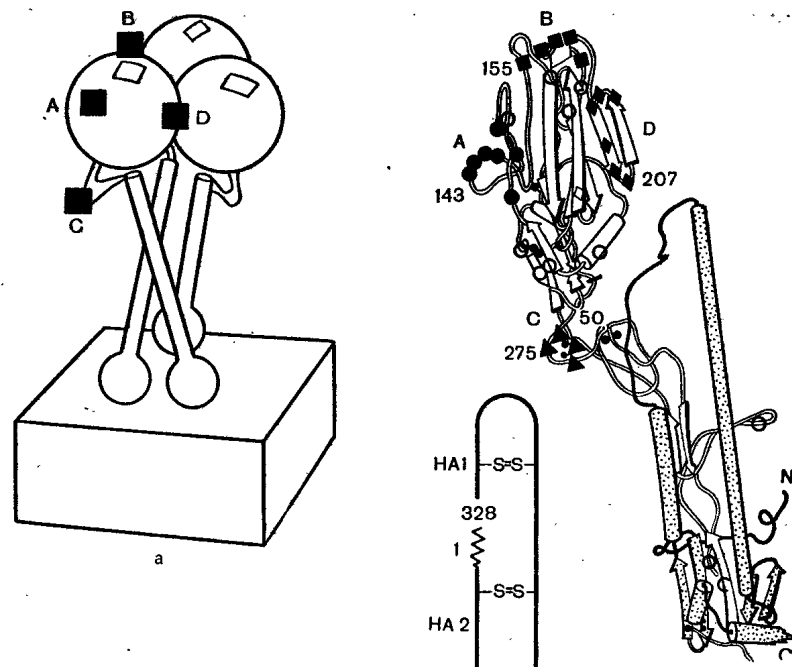


Рис. 44. Гемагглютинин вируса гриппа.
а — тример с четырьмя антигенными детерминантами (черные квадратики) и участком взаимодействия с клеточным рецептором (белый квадратик — рецепторный карман); б — структура мономера по данным рентгеноструктурного анализа. Цифры обозначают порядковый номер аминокислот, кружки, квадраты и треугольники — 4 антигенные детерминанты (А, В, С и D), 1 — место нарезания предшественника (N-конец малой субъединицы), S-S-дисульфидные связи.

меняются незначительно, но при продолжительном периоде циркуляции вируса под влиянием коллективного иммунитета селекционируются варианты, значительно отличающиеся по антигенным свойствам от прототипного штамма. Шифт возникает в результате полной смены гена и обусловлен их пересортировкой при одновременной репродукции в клетке двух вирусов гриппа.

Вирус агглютинирует эритроциты кур, морских свинок, человека и многих других видов животных. При низких значениях pH (5,0—5,5) вирус вызывает гемолиз эритроцитов.

Нейраминидаза является ферментом, катализирующим отщепление сиаловой кислоты от субстрата. Мономер нейраминидазы под электронным микроскопом имеет вид

барабанной палочки и состоит из головки, обращенной кнаружи, размером $4 \times 4 \times 4$ нм и ножки длиной 10 нм. Соединение двух мономеров происходит за счет дисульфидных связей, а двух димеров в тетрамере — за счет межмолекулярных связей. Активные центры и антигенные детерминанты находятся на головках мономеров.

Нейраминидаза может изменяться независимо от гемагглютинина, в основе антигенной изменчивости также лежат процессы дрейфа и шифта. Антитела против нейраминидазы не оказывают такого защитного действия, как антитела против гемагглютинина, однако, они частично нейтрализуют вирус и ослабляют инфекционный процесс.

Нуклеопротеид (NP) — основной внутренний белок вируса, формирующий субъединицы капсида. Он intimately связан с геном в течение всего периода репродукции вируса, но не препятствует экспрессии генома. Этот белок является типоспецифическим антигеном, общим для всех вирусов типа А. Антитела к NP не оказывают защитного действия и применяются с целью диагностики инфекции.

Матриксный белок — самый низкомолекулярный белок в составе вириона, локализованный на внутренней поверхности липопротеидной мембраны вируса. М₁-белок играет роль медиатора при сборке вирусной частицы. М₁-белок является стабилизирующим фактором, при его отсутствии или уменьшении концентрации вирусная частица становится хрупкой и быстро распадается.

Матриксный белок, как и NP, является типоспецифическим антигеном, общим для всех вирусов типа А. Белок М₂, который кодируется тем же седьмым геном, является неструктурным и локализован в клеточной оболочке.

Белки NS₁ и NS₂ — неструктурные вирусные белки, которые хотя и кодируются одним (восьмым) геном, имеют уникальные последовательности аминокислот благодаря трансляции со сдвигом рамки. Белок NS₁ синтезируется на самых ранних этапах репродукции. В ядре и цитоплазме он накапливается в больших количествах и образует включения.

Чувствительность к физическим и химическим факторам. Вирус гриппа относительно стабилен и может сохраняться при температуре 4°С в течение недели. Инфекционная активность сохраняется продолжительное время при хранении при температуре —70°С. Прогревание при температуре 50—60°С уничтожает его активность

в течение нескольких минут. Вирусы чувствительны к эфиру, детергентам. При низких значениях pH (3,0 и ниже) инфекционная активность теряется.

Репродукция. Вирус адсорбируется на клеточных рецепторах, содержащих сиаловую кислоту (гликопротеидах или ганглиозидах). Проникновение вируса в клетку осуществляется обычно по механизму рецепторного эндоцитоза с последующим слиянием вирусной мембраны со стенкой вакуоли и выходом нуклеокапсида в цитоплазму, а затем в ядро. Слияние происходит при низких значениях pH, которые создаются в эндоцитарной вакуоли — рецептосоме. Транскрипция и репликация генома происходят в ядре в составе нуклеокапсида.

Затравкой для транскрипции является КЭП, «шапочка», которая вместе с 10—13 нуклеотидами отрезается от клеточных иРНК, находящихся в ядре (отсюда необходимость ядерной локализации транскрипции), и перебрасывается на 5'-конец вирусного транскрипта.

На ранней стадии с наибольшей скоростью синтезируются иРНК для белков NS и NP, на поздней стадии — иРНК для белков HA, NA, M. Соответственно белки NS и NP являются ранними, а HA, NA и M — поздними. Белки P синтезируются на протяжении инфекционного цикла с одинаковой скоростью.

Нуклеокапсиды транспортируются из ядра в цитоплазму и затем к клеточной оболочке к тем ее модифицированным участкам, на которых снаружи находятся вирусные гликопротеиды, а со стороны цитоплазмы — M₁-белок. Вирус выходит из клетки путем почкования.

Патогенез и клиника. Вирус гриппа попадает в организм через дыхательные пути вместе с каплями влаги и частицами пыли. Чем меньше величина капель и частиц, тем глубже проникает вирус в дыхательные пути. Благодаря короткому инфекционному циклу вируса (6—8 ч) при попадании в верхние дыхательные пути одной вирусной частицы уже через 8 ч количество инфекционного потомства достигает 10^3 , а к концу первых суток — 10^{27} . Эти расчеты объясняют столь короткий инкубационный период при гриппе — 1—2 сут. Репродукция вируса происходит в клетках эпителия слизистой оболочки дыхательных путей.

Может развиваться первичная пневмония с некрозом эпителия бронхиол. Пораженные клетки отторгаются, а продукты их распада всасываются, попадают в кровь, вызывая интоксикацию организма и лихорадочное состоя-

ние. Вирус проникает в кровь и разносится по всему организму. Активация вирусом всей системы протеолиза и повреждение клеток эндотелия капилляров приводит к повышенной проницаемости сосудов, кровоизлияниям и дополнительному повреждению ткани. Возникают патологические изменения в почках, мозге. В результате повышенной проницаемости сосудов может возникнуть отек мозга с летальным исходом. Это случай так называемого молниеносного гриппа, когда смерть наступает на 2—3 сут. Вирус гриппа, попадая в кровь, вызывает угнетение кроветворения и иммунной системы, развивается лейкопения, может присоединиться интеркурентное заболевание, наблюдаются осложнения, вызванные бактериями и другими вирусами — затяжные риниты, гнойные синуситы, отиты, вторичные вирусные бронхиты и пневмонии.

Однако описанное беспрепятственное распространение вируса в организме имеет место далеко не во всех случаях и может быть приостановлено при включении в процесс факторов неспецифического и специфического иммунитета, таких как неспецифические ингибиторы, находящиеся в крови, имеющиеся у больных антитела, интерферон. В результате развитие вирусной инфекции замедляется или прерывается, а через несколько суток появляются специфические антитела класса IgM, которые «защищают» организм. Антитела класса IgG появляются лишь спустя 2 нед после начала заболевания и их роль состоит в защите против повторного заражения данным серовариантом вируса гриппа.

Для клинического течения гриппа характерно быстрое развитие инфекции с высокой температурой, общей интоксикацией, воспалительными процессами в дыхательных путях. Температура достигает 38—39°С и более. Общая интоксикация выражается в головной боли, боли в глазных яблоках, резком угнетении. Развиваются симптомы местного поражения дыхательных путей — насморк, кашель, боли за грудиной. Поражение эндотелия стенок кровеносных сосудов приводит к точечным кровоизлияниям в верхних дыхательных путях, трахее, бронхах. Если развивается первичная гриппозная пневмония, она имеет геморрагический характер, и мокрота содержит прожилки крови.

Иммунитет. Пассивный иммунитет, передаваемый от матери, сохраняется у детей на протяжении первых месяцев жизни. После перенесенного заболевания возникает стойкий иммунитет.

Повторные заболевания гриппом обусловлены не кратковременностью иммунитета, а появлением новых серовариантов вируса гриппа, против которых у населения нет иммунитета.

В иммунитете против гриппа большую роль играют антитела класса IgA, накапливающиеся в секрете слизистой оболочки полости носа.

Эпидемиология. Эпидемиология гриппа своеобразна и не имеет аналогов среди других инфекционных заболеваний. Грипп передается воздушно-капельным путем. Больной или носитель (часть зараженных переболевает гриппом в иннапарантной или стертой форме) выделяют вирус вместе со слизью носоглотки и верхних дыхательных путей не только при кашле и чиханье, но и при разговоре. Так как инкубационный период болезни очень короток и не превышает 1—2 дней, то возникшая эпидемия распространяется довольно быстро, охватывая все новые и новые восприимчивые контингенты населения. Дальнейшее развитие эпидемии регулируется иммунитетом, который развивается после болезни через 1—1½ нед, и поэтому по мере нарастания иммунной прослойки эпидемия гриппа идет на убыль. В условиях даже большого города на это уходит около месяца, а при нынешних широких связях между странами и быстрых транспортных средствах эпидемия гриппа в течение немногих месяцев охватывают население многих стран, нередко — все полушарие или даже всю планету. Такие обширные эпидемии называются пандемиями.

Причиной повторных эпидемий гриппа и повторных заболеваний является уникальная изменчивость белков вирусов гриппа (гемагглютенина и нейраминидазы) в результате шифта и дрейфа. Люди, болевшие ранее гриппом, полностью восприимчивы к новому сероварианту вируса, к которому нет коллективного иммунитета, он начинает безудержно распространяться среди населения всего земного шара, вызывая пандемию гриппа.

Первая достоверно документированная пандемия гриппа (ретроспективно мы знаем, что это был грипп типа А) возникла в 1889 г. Предполагается, что она началась в Китае, а затем в течение ближайших 1½—2 лет распространилась на все страны мира.

Следующая пандемия гриппа возникла через 29 лет — в 1918 г. За два года она распространилась во все страны мира и от нее погибло около 20 млн. человек. Никогда до этого и после этого грипп не протекал так тяжело.

На основании иммунологических исследований было установлено, что пандемия была вызвана вирусом, циркуляция которого к началу 30-х годов прекратилась среди людей и вирус был выделен от свиней. Эта пандемия началась в Китае, но он получил название «испанского» гриппа, так как первые упоминания о тяжелой эпидемии появились в Испании. Вирус, вызвавший эту эпидемию, в настоящее время обозначается H1N1. После 1918 г. эпидемии гриппа типа А повторялись через 2—3 года, а гриппа типа В — через 4—6 лет. В 1947—1949 годах возникла пандемия гриппа типа А, которая медленно распространялась и в течение 3 лет прошла во всех странах мира. Следующая пандемия получила название азиатской, а вызвавший ее вирус назвали вирусом азиатского гриппа. Эта пандемия, как и две предшествовавшие, началась в Китае (первый вирус, однако, был выделен в Сингапуре) в 1957 г. и к концу года охватила весь мир, вызвав заболевание от 1,5 до 2 млрд. человек. Пандемия была вызвана новым серовариантом вируса гриппа с антигенной формулой H2N2 (вирус азиатского гриппа). Одновременно перестал циркулировать вирус H1N1.

В дальнейшем эпидемии гриппа стали наблюдаться почти ежегодно, отличаясь степенью интенсивности — в зимние месяцы в северном полушарии, в летние месяцы — в южном полушарии. Новая пандемия разразилась через 11 лет, в 1968 г. она также началась в Китае и была вызвана вирусом, получившим название «гонконгского» по месту его выделения. Пандемия развивалась стремительно и поразила не менее 1 млрд. человек. Пандемию вызвал новый серовариант — гонконгский вирус гриппа с антигенной формулой H3N2, и одновременно перестал циркулировать среди людей азиатский вирус гриппа H2N2.

В 1977 г. произошло необычайное событие — «возвратился» вирус H1N1 после 20-летнего отсутствия. И на этот раз эпидемия началась в Китае. Заболевали почти исключительно лица моложе 20 лет, т. е. родившиеся после 1957 г., когда прекратилась циркуляция этого вируса среди населения. Другой особенностью явилось то, что предшествующий вирус (H3N2) не исчез, а также продолжал циркулировать и были выделены штаммы-рекомбинанты, содержавшие гены обоих вирусов. Вирус, вызвавший пандемию, получил название А/СССР/77, так как он впервые был выделен советскими учеными и немедленно передан ВОЗ. Позже выяснилось, что сходные

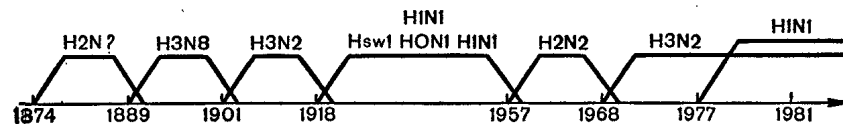


Рис. 45. История пандемий гриппа.

вирусы были выделены летом 1977 г. в Китае. История пандемий показана на рис. 45.

Начав циркулировать среди населения, новый вариант вируса не остается стабильным: его гликопротеиды НА и NA из года в год претерпевают антигенный дрейф, который приводит к тому, что через 2—3 года, а иногда и ранее выработанный иммунитет обеспечивает лишь частичную защиту от заболевания. Коллективный иммунитет (иммунологический пресс) является тем фактором, в результате которого селекционируются новые антигенные варианты, т. е. является движущей силой антигенного дрейфа.

По основному вопросу — источнику появления новых вариантов вируса гриппа в результате шифта — существуют две основные концепции. Согласно одной из них варианты, исчезнувшие из человеческой популяции, на самом деле продолжают циркулировать среди населения. Фактов, подтверждающих это предположение, нет. Другая гипотеза объясняет появление новых антигенных вариантов возвращением в человеческую популяцию вирусов, циркулирующих у животных. Во время эпидемии человек массивно выделяет вирус гриппа в биосферу и эпидемии и пандемии гриппа обычно сопровождаются эпизоотией среди домашних и диких животных, особенно птиц. Установлены экологические и эволюционные связи между вирусами человека и животных, и (благодаря секвенированию гена гемагглютинина) природа шифтов, которые привели к появлению азиатского и гонконгского серо-вариантов вирусов. Азиатский вирус сохранил четыре гена своего предшественника H1N1 — гены P₁, P₂, P₃ и NP, и получил новые четыре гена от предполагаемого партнера — гены HA, NA, M и NS. У гонконгского вируса H3N2 остались неизменными семь генов предшественника и только один ген HA был заменен в ходе рекомбинации. Возможными источниками этого гена были названы два вируса: вирус H_{av}7Neq2, выделенный от уток на Украине, и вирус Neq2Neq2, выделенный от лошадей в Майами (США).

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является отделяемое носоглотки, которое берут в первые 3 дня болезни ватными или марлевыми тампонами с задней стенки глотки, и мазки-отпечатки слизистой оболочки носовой полости. В летальных случаях используют кусочки пораженной легочной ткани, соскоб слизистой оболочки трахеи и бронхов.

Быстрая диагностика основана на выявлении вирусного антигена в эпителии слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Наиболее широко используют метод ИФ. Антиген выявляют в мазках-отпечатках или эпителии, полученных из отделяемого носоглотки с помощью прямого и непрямого методов, используя коммерческие флюоресцирующие иммуноглобулины. Специфический антиген обнаруживается в цитоплазме в виде ярко светящихся конгломератов. Серологический вариант вируса гриппа (типов А, В или С) можно определить с помощью ИФ. Разработаны методы быстрой диагностики с помощью непрямой иммуноферментной реакции, основанные на идентификации типоспецифических антигенов (М и NP) в смывах носоглотки больных.

Выделение вируса. В связи со сменой серо-вариантов вируса гриппа желательно выделение его при вспышках и эпидемиях. Основным методом выделения вируса гриппа из смывов носоглотки является заражение 10—11-дневных куриных эмбрионов в амнион.

Идентификацию вируса проводят в РТГА или в РСК.

В сыворотках животных содержится большое количество неспецифических ингибиторов гемагглютинации, как термолабильных, которые разрушаются при прогревании сывороток при температуре 58°С, так и термостабильных. Вирусы гриппа могут быть как чувствительными, так и устойчивыми к ингибиторам. В первом случае иммунные сыворотки для удаления ингибиторов обрабатывают углекислотой, перйодатом калия или фильтратом холерного вибриона. Вирусы гриппа агглютинируют эритроциты с разной интенсивностью (авидностью) и в зависимости от этого их делят на авидные и неавидные штаммы. Для неавидных штаммов лучше использовать эритроциты человека группы 0. Для выделения вируса используют также культуры клеток эмбриона человека (почек и легких), почек обезьяны, МДСК и др. Идентификацию вируса проводят в РТГА, ИФ.

Серологическая диагностика заключается в обнаружении прироста антител в парных сыворотках

больных. Используют РСК и РТГА, в качестве антигенов используют стандартные диагностикумы. Во второй сыворотке больного может быть обнаружен прирост антител сразу к двум или большему количеству используемых антигенов. В этом случае возбудителем заболевания считают тот штамм, к которому во второй сыворотке выявлен наивысший титр антител. Серологическую диагностику осуществляют также с помощью РН и ИФ в культуре клеток, реакции преципитации в геле, РРГ, ИФА. В РН используют наиболее чувствительные к вирусу культуры клеток почек собаки (MDCK) или быка (MDBK), а также клетки почек человека и обезьяны.

Профилактика и лечение. Применяются как убитые, так и живые вакцины. Те и другие имеют свои преимущества и недостатки. Получение вакцинных штаммов основано на следующих принципах. Заранее приготавливается вирус-носитель, который обладает всеми необходимыми свойствами и хорошо размножается в лабораторных условиях (куриных эмбрионах). Используя технику рекомбинации, от «актуального» вируса вирус-носителю пересаживают только два гена — НА и NA, определяющих иммунологические свойства вируса. Для получения убитой вакцины вирус выращивают обычно на куриных эмбрионах, затем очищают от примесей, концентрируют и инактивируют формальдегидом или другими химическими и физическими воздействиями, например, ультрафиолетовым облучением. При правильном подборе вакцинных штаммов вакцины снижают заболеваемость среди привитых в $2^{1/2}$ —3 раза по сравнению с непривитыми. В качестве вируса-носителя для живых вакцин перспективно использование «холодовых» мутантов, которые неспособны к репродукции при температуре 37°C , но хорошо размножаются при более низких температурах, свойственных слизистой оболочке носоглотки (32 — 34°C). При этом создаются условия для репродукции вакцинного штамма в эпителии носоглотки, а не легочных альвеол. Для детей младшего возраста, а также лиц пожилого возраста, страдающих хроническими заболеваниями, разрабатываются вакцины со сниженной реактогенностью. Такие вакцины получают путем расщепления вирионов и выделения гемагглютинина и нейраминидазы (субъединичные вакцины). Для лечения и профилактики гриппа применяют химиопрепараты — амантадин и ремантадин. Последний является менее токсичным препаратом, его назначают внутрь в дозе 150—300 мг

в сутки в течение 2—3 дней. Лечение следует начинать как можно раньше после начала заболевания. Для лечения и профилактики гриппа используют интраназальное введение интерферона.

ВИРУСЫ ГРИППА ТИПА В

Структура вирусных частиц сходна со структурой вируса гриппа типа А. Геном представлен 8 фрагментами. Белки (7 структурных и 2 неструктурных) имеют молекулярную массу от $21 \cdot 10^6$ до $106 \cdot 10^6$.

В лабораторных условиях вирусы гриппа типа В размножаются в куриных эмбрионах медленнее, чем вирусы типа А (72 ч вместо 48 ч), для них требуется пониженная температура инкубации (33 — 35°C). Вирусы типа В агглютинируют эритроциты кур, морских свинок, человека. Хотя официального разделения на сероварианты у вирусов гриппа типа В не проведено, однако по антигенным свойствам гемагглютинина и нейраминидазы можно выделить 5 серовариантов. Как и при гриппе типа А, имеется определенная связь между изменением антигенной структуры штаммов и активацией эпидемического процесса. Появление новых антигенных вариантов также является причиной вспышек, а утратившие эпидемическое значение варианты вытесняются из циркуляции. Однако эти процессы выражены менее четко, чем при гриппе типа А. Вирусы гриппа типа В не вызывают пандемии и являются причиной локальных вспышек и эпидемий, иногда охватывающих одну или несколько стран, и спорадических случаев. Вспышки гриппа типа В могут совпадать с таковыми гриппа типа А или предшествовать ему.

Вирусы гриппа типа В циркулируют только в человеческой популяции, клиническая картина при этом заболевании такая же, как и при гриппе типа А, и дифференциальный диагноз осуществляется лабораторными методами. Специфическая профилактика та же, что и при гриппе типа А. Ремантадин при гриппе типа В неэффективен.

ВИРУС ГРИППА ТИПА С

Вирус гриппа типа С имеет такую же морфологию и размеры как вирусы типа А, но отличается от вирусов гриппа типов А и В не только по антигенным, но и по ряду фундаментальных свойств. Геном представлен семью фрагментами, молекулярная масса которых в сумме такая же, как и у вирусов гриппа типа А и В. В составе вириона

обнаружено 6 белков, 3 из которых гликозилированы. Нейраминидаза в составе вириона не обнаружена. В отличие от вирусов типа А и В, вирус С не агглютинирует эритроциты морской свинки, а при адсорбции на эритроцитах кур связывается с другим рецептором, который не взаимодействует с вирусами типа А и В. Вирус быстро элирует с эритроцитов при комнатной температуре, поэтому реакцию гемагглютинации ставят при температуре 4—6° С.

Вирус размножается в куриных эмбрионах при заражении в амнион. Эмбрионы инкубируют при температуре 33° С в течение 2—3 дней. Из клеточных культур наиболее чувствительны клетки легких куриных эмбрионов и почек обезьян.

Антигенная структура вируса не подвержена таким изменениям, как у вирусов типа А.

Вирус циркулирует в человеческой популяции, однако он был также выделен и от свиней. Он не вызывает пандемий и эпидемий и является причиной спорадических заболеваний, чаще у детей, чем у взрослых. Заболевания, вызванные вирусом гриппа типа С, часто совпадают с эпидемией гриппа типа А. Клиническая картина такая же, как при легких и умеренно тяжелых формах гриппа А. Диагностика основана на выявлении антигена в отделяемом носоглотки в ИФ, выделении вируса в куриных эмбрионах, определении прироста антител в РТГА. Вакцинация не применяется.

Глава 12. СЕМЕЙСТВО РАБДОВИРУСОВ (RABDOVIRIDAE)

Рабдовирусы (от греч. *rhabdōs* — прут) составляют большую группу вирусов, поражающих теплокровных животных, насекомых (которые являются переносчиками) и растения. Сходные вирусы выделены также от рыб, беспозвоночных (крабы, насекомые) и простейших (амебы). В патологии человека играют роль рабдовирусы теплокровных, передающиеся насекомыми (род *Vesiculovirus*) и не имеющие переносчиков (род *Lyssavirus*)

ВИРУС ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА

Вирус относится к роду *Vesiculovirus*.

Морфология. Вирионы имеют форму пули размерами 170 · 70 нм (см. рис. 7, б). У сердцевинки такая же форма;

РНП имеет спиральный тип симметрии, при разворачивании образует лентообразную структуру шириной 20 нм и длиной 700 нм (см. рис. 4, б). Внешняя оболочка образована липидным бислоем, в который частично погружены палочкообразные шипики длиной 10 нм и диаметром 3 нм.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат РНК (до 2%), липиды (до 20%), остальное приходится на белки, включая гликопротеиды. Вирионы имеют коэффициент седиментации 625S, плотность в сахарозе 1,19—1,20 г/мл.

Геном представлен однострочной линейной молекулой «минус-нитевой» РНК с молекулярной массой $3,8 \cdot 10^6$, состоящей примерно из 10 000 нуклеотидов, и коэффициентом седиментации 40S. РНК не инфекционна, РНП, в составе которого находится транскриптаза, обладает инфекционными свойствами. Геном имеет 5 генов, расположенных в следующем порядке: 3'-N-NS-M-G-L-5'.

Белки. Вирус содержит 5 белков, кодируемых пятью соответствующими генами. Белок N образует белковые субъединицы нуклеокапсида, белки L и NS находятся в составе нуклеокапсида и представляют собой РНК-полимеразу. Гликопротеид G находится в составе липопротеидной оболочки и образует шипики на ее наружной поверхности. Матриксный белок выстилает липопротеидную оболочку с внутренней стороны.

Протективным антигеном и антигеном, определяющим серотипы, является гликопротеид. Известно несколько серотипов вируса: Индиана, Аргентина, Бразилия (Алагоас), Кокал, Нью-Джерси, Чандипура, Пирри.

Белок N является группоспецифическим антигеном.

Ферменты. В составе вириона, помимо РНК-полимеразы, содержится ряд ферментов. Среди них находится протеинкиназа, ферменты, обеспечивающие созревание и РНК-гуанил- и метилтрансфераза, полиаденилаттрансфераза и другие ферменты. Часть ферментов может иметь клеточное происхождение.

Репродукция. Вирус репродуцируется в цитоплазме. Вирусный геном функционирует в составе нуклеокапсида в ассоциации с белками N, NS и L. Устранение одного из них делает транскрипцию невозможной.

Местом формирования вирионов является плазматическая мембрана, куда независимо друг от друга транспортируются гликопротеид, матриксный белок и нуклеокапсид. Сборка вирионов и выход из клетки осуществляются посредством почкования через плазматическую мембрану.

Вирус вызывает прогрессирующее и необратимое уменьшение скорости синтеза белка в зараженной клетке за счет блокирования инициации белкового синтеза.

Эпидемиология. Вирус везикулярного стоматита и многие другие, относящиеся к этому роду, передаются комарами рода *Aedes*. Вирус размножается в организме насекомых.

Лабораторная диагностика. Лабораторная диагностика основана на выделении вируса из жидкости везикул и крови больных путем заражения мышей-сосунков и культуры ткани. Идентификация вирусов и серологическая диагностика осуществляются в РСК, реакциях иммунной диффузии, РРГ, ИФ, а также РИА и ИФА.

Профилактика обычно не проводится.

ВИРУС БЕШЕНСТВА

Вирус бешенства относится к роду *Lyssavirus* (от греч. *lyssa* — водобоязнь). Его фундаментальные свойства не отличаются от таковых у вируса везикулярного стоматита.

Для вируса бешенства характерна так называемая, адаптационная изменчивость, которая была использована Л. Пастером для получения вакцины против бешенства. В его исторических опытах (1882) уличный вирус бешенства пассировался интрацеребрально на кроликах. По мере пассирования интрацеребральный инкубационный период, характерный для инфекции, вызванной уличным вирусом бешенства, постепенно сокращался, пока не стал равным 5 дням. Этот вирус был назван фиксированным (*virus fixe*) и при интрацеребральном введении он вызывал 100% гибель кроликов. Вместе с тем он потерял патогенные свойства для собаки и человека. Поэтому фиксированный вирус, после дополнительной обработки (высушивание мозга кролика, приводившее к инактивации вируса) был использован в качестве вакцины для лечебно-профилактических прививок.

Патогенез и клиника. После укуса больного животного вирус размножается в мышечной ткани в месте укуса, а затем, достигнув нервных окончаний чувствительных периферических нервов, распространяется центростремительно, достигая двигательных нейронов. Происходит распространение вируса в нервно-мозговой ткани, демиелинизация белого вещества, дегенерация аксонов и миелиновых оболочек. В спинном мозге более всего поражаются задние рога. В цитоплазме пораженных нервных клеток образуются

специфические цитоплазматические включения — тельца Бабеша — Негри, которые являются диагностическим признаком болезни. Включения ацидофильны, четко контурированы, имеют сферическую форму с диаметром от 0,25 до 25 мкм, чаще 2—10 мкм. Эти включения обнаруживают в клетках аммонова рога, они содержат вирусный антиген. Размножение вируса происходит в слюнных железах. В связи с этими особенностями патогенеза инкубационный период при бешенстве продолжительнее, и тем продолжительнее, чем дальше от головного и спинного мозга находится место укуса. Наиболее короткий инкубационный период (2—3 нед) бывает при укусах в голову и лицо, наиболее длинный (более 1½ мес) — при укусе в конечности (кисти рук, стопы ног). При укусах в область головы и лица заболевание наступает почти в 90% случаев, нижних конечностей — в 20% случаев. В среднем заболевают 30—35% людей, укушенных животными, больными бешенством. При укусах через одежду возможность заражения уменьшается.

У зараженных животных можно выделить три периода заболевания: продромальный, период возбуждения и паралитический. В продромальном периоде повышается температура, изменяется поведение животных, они становятся раздражительными, легко возбудимыми. Период возбуждения длится 3—7 дней. В этот период животные агрессивны и наиболее опасны. Появляются затрудненное дыхание, судороги. Паралитический период характеризуется параличами, комой и быстро наступающей гибелью.

Заболевание у человека начинается с продромального периода, который длится 2—4 дня и проявляется недомоганием, головной болью, тошнотой, рвотой, повышением температуры. Во входных воротах инфекции нарушается чувствительность. Повышается активность симпатической нервной системы: отмечаются слезотечение, расширение зрачков, потливость, обильное слюноотделение, при глотании — болезненные спазмы. У больного появляется чувство страха, особенно при виде воды (отсюда старое название болезни — водобоязнь). Появляются агрессивность и буйство, конвульсивные судороги, в финальной стадии — параличи, упадок сердечной деятельности и наступает смерть, обычно через 3—5 дней после начала заболевания.

Иммунитет. Существует только один антигенный тип вируса бешенства. Обычно заболевание имеет летальный исход и поэтому иммунитет после перенесенной инфек-

ции не изучен. У лабораторных животных появляются антитела, достигающие максимального уровня на 20—30-й день заболевания. После вакцинации людей убитой антирабической вакциной появляются антитела, сохраняющиеся в течение года. Ревакцинация приводит к резкому повышению титров антител.

Эпидемиология. Бешенство является болезнью плотоядных и основными резервуарами возбудителя являются волки, шакалы, лисы, собаки. Бешенством могут болеть все виды теплокровных. Циркуляцию вируса в природе обеспечивают хищные животные, которые передают вирус друг другу при укусах. Человек является случайным звеном в природном очаге и не принимает участие в циркуляции вируса в природе.

Источником инфекции для человека могут быть больные дикие и домашние животные. В последнее время ими стали лисы (до 50%) и кошки (30%). Передача инфекции бродячими собаками резко уменьшилась благодаря вакцинации и уменьшению количества бродячих собак.

Вирус бешенства находится в слюне больных животных и попадает в организм при ослюнении кожи, имеющей царапины и ссадины. Животные могут быть заразными за 10 дней до появления у них признаков заболевания.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является мозг животных и погибших людей. Помимо мозга, вирус содержится в ткани подчелюстных слюнных желез, но в меньшем количестве, чем в мозге. Кусочки мозга берут с соблюдением необходимых мер предосторожности из разных отделов, помещают в посуду со стерильным глицерином и во льду доставляют в лабораторию. Для приготовления гистологических препаратов кусочки мозга помещают в фиксирующие жидкости.

Быстрая диагностика основана на обнаружении телец Бабеша — Негри в ткани мозга и специфического антигена в ИФ. Тельца Бабеша — Негри могут быть обнаружены в окрашенных мазках, мазках-отпечатках мозговой ткани, гистологических срезах. При окраске по Селлеру телец Бабеша — Негри окрашиваются в пурпурно-красный цвет, а цитоплазма, ядра и ядрышки — в синий цвет. В одной клетке может быть одно или несколько включений. Они окружены оболочкой и имеют внутреннюю структуру в виде базофильной зернистости. Тельца обнаруживаются за 3—4 дня до появления клинических симптомов, количество и величина их увеличиваются в течение болезни. При коротком инкубационном периоде бо-

лезни (2—3 нед) тельца малочисленны и даже могут отсутствовать. Их обнаруживают у 70% погибших людей. Максимальное количество телец находится в клетках гиппокампа, а также в продолговатом и спинном мозге.

Специфический антиген в мазках-отпечатках и гистологических срезах мозга и подчелюстных желез погибших людей и животных может быть выявлен в ИФ в прямом и непрямом варианте с применением коммерческого антирабического лошадиного γ -глобулина.

Биологическая проба на животных. Наличие вируса в слюне больных людей и в ткани мозга погибших можно определить путем внутримозгового заражения белых мышей. У зараженных мышей развивается паралич конечностей и наступает гибель. Мозг исследуют на наличие телец Бабеша — Негри и специфического антигена в ИФ, а при отрицательном результате ставят биологическую пробу на мышах. Если исследование мозга животного дает отрицательные результаты, укушенный человек не нуждается в специфическом лечении. Однако при укусе или оцарапывании летучей мышью специфическое лечение должно быть начато немедленно, так как у половины летучих мышей вирус содержится только в слюнных железах и не содержится в мозге.

Серологические исследования. Их проводят для определения поствакцинального иммунитета. Антитела к вирусу бешенства выявляют в РН, РСК или ИФ, а также РИА и ИФА.

Профилактика. Истребление животных, являющихся резервуаром вируса в природе (волки, шакалы, лисы), в настоящее время ограничено, так как полное истребление любого биологического вида приводит к нарушению экологического равновесия. Так как для человека источниками инфекции часто являются собаки, то мерами профилактики является упорядочение содержания собак и иммунизация их антирабической вакциной.

Для предупреждения бешенства должна проводиться немедленная и тщательная обработка раневой поверхности и царапин в месте укуса. В качестве специфической лечебной профилактики применяют многократные прививки антирабической вакциной и введение антирабического иммуноглобулина. В Советском Союзе применяют убитую антирабическую вакцину типа Ферми, полученную из мозга зараженных овец, и вакцину из мозга новорожденных белых крыс. Выпускается убитая культуральная вакцина, которая менее реактогенна по сравнению с вакцинами,

приготовленными из мозга животных. При применении таких вакцин после 8—13 прививок иногда появляются поствакцинальные осложнения — энцефалиты, энцефаломиелиты, которые могут иметь летальный исход. Осложнения связаны с недостаточной инаktivацией вируса и с аллергическим действием миелина в вакцинах из мозга. Прививки назначаются лицам, укушенным больными или подозрительными на бешенство животными, при ослеплении поврежденных кожных покровов, а также при повреждении кожи в процессе вскрытия трупов погибших от бешенства. При множественных укусах в область головы, лица, шеи, пальцев рук за сутки до начала вакцинации вводится антирабический иммуноглобулин, полученный при гипериммунизации лошадей. Он удлиняет период инкубации и тем самым обуславливает возможность формирования поствакцинального иммунитета.

Среди других мероприятий большое значение имеет иммунизация домашних животных, истребление бродячих собак и кошек, ограничение популяции диких животных и в первую очередь лис — основного теплокровного хозяина вируса на территории Европейской части СССР.

Другие вирусы рода бешенства. Помимо вируса бешенства, существуют и другие вирусы, имеющие с ним антигенное родство. В полярных районах среди песцов и оленей встречается вирус бешенства арктический, так называемый вирус дикования, сходный с вирусом бешенства. Имеются и другие вирусы, серологически родственные ему. К ним относятся вирусы Дювенхаге, лагосский вирус летучих мышей, Мокола, выделенный в Нигерии от землероек, вирус Котонкан, выделенный от мокрецов в Нигерии, и вирус Ободиан, выделенный от комаров в Судане. Эти вирусы являются как бы мостом между вирусами, передающимися насекомыми, и вирусом бешенства, передающимся без участия кровососущих насекомых. Патогенность их для человека неизвестна.

ВИРУСЫ МАРБУРГ И ЭБОЛА

Эти вирусы несколько напоминают рабдовирусы, однако к ним не относятся.

Вирус Марбург был выделен во время лабораторных вспышек в ФРГ и Югославии в 1967 г. у лиц, работавших с тканями зеленых марышек, привезенных из Африки, он передавался далее от человека к человеку. Марбургская болезнь характеризуется повышенной температурой, боле-

вым синдромом, рвотой и поносом, а в дальнейшем — поражением печени и почек. Летальность достигает 30%. Вирус был выделен на морских свинках и при заражении разных клеточных культур.

В 1976 г. в Судане и Заире возникли тяжелые эпидемии геморрагической лихорадки, вызванные вирусом Эбола. Часто наблюдались заражения медицинского персонала. Источники вируса в природе не известны.

Оба вируса серологически родственны, но не тождественны. Работа с этими вирусами должна проводиться при соблюдении строжайшего режима. Профилактика не разработана.

В настоящее время эти вирусы выделены в новое семейство *Filoviridae* (нитевые вирусы).

Глава 13. СЕМЕЙСТВО БУНЬЯВИРУСОВ (*BUNYAVIRIDAE*)

Весьма обширная группа или даже супергруппа, выделенная в семейство *Bunyaviridae* (от названия места *Bunyamvera* в Уганде, где был выделен вирус), содержит более 260 вирусов, которые разделены на 4 рода: *Bunyavirus* (145 вирусов), *Phlebovirus* (60 вирусов), *Nairovirus* (35 вирусов) и *Uukuvirus* (22 вируса). Среди них многие патогенны для человека: вирусы Буньямвера, Бвамба, Калифорнийского энцефалита, Тягиня, большинство вирусов москитных лихорадок, лихорадки долины Рифт, Крымской геморрагической лихорадки и аналогичной лихорадки Конго, вирус Укуниими. Большинство этих вирусов вызывают лихорадочные заболевания, некоторые — геморрагические лихорадки (Крымская, Конго) и энцефалиты (Калифорнийский). В качестве представителей семейства будут рассмотрены вирусы Буньямвера (род Буньявирус).

ВИРУСЫ БУНЬЯМВЕРА

Морфология. Виреоны имеют сферическую или овальную форму (рис. 46) с диаметром 90—100 нм. Диаметр сердцевин 70 нм. Сердцевина содержит РНП со спиральным типом симметрии, состоящей из трех циркулярных фрагментов, каждый из которых содержит фрагмент кольцевой однонитчатой РНК. Толщина нити РНП 2,5 нм, длина около 1000 нм. Он окружен липопротеидной оболоч-

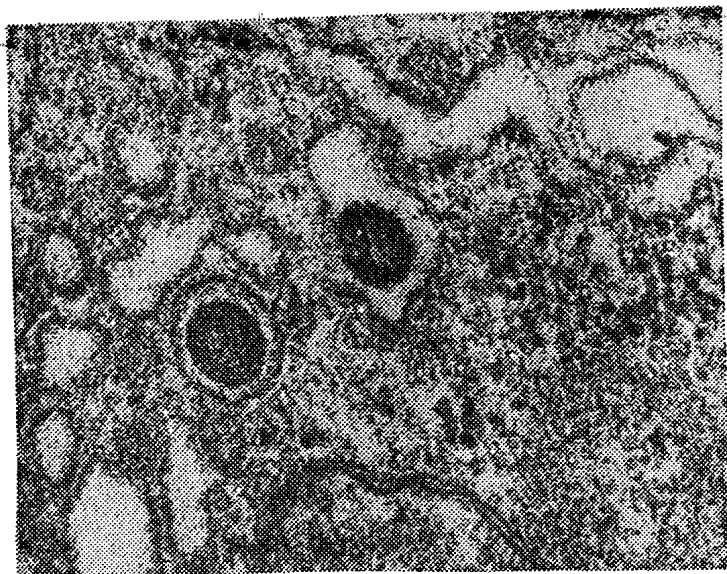


Рис. 46. Вирионы буньявирусов во внутриклеточных вакуолях электронно-микроскопическое изображение).

кой, на поверхности которой имеются палочкообразные шипики, образованные гликопротеидами.

Химический состав и физико-химические свойства. РНК составляет 1—2% от сухой массы вириона, липиды — до 30%, углеводы — 7%, остальная масса приходится на белки. Липиды находятся в составе липопротеидной оболочки, углеводы — в составе гликопротеидов.

Молекулярная масса вирионов $300 \cdot 10^6$ — $400 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 350—470 S, плотность вирионов в хлориде цезия $1,2 \text{ г/см}^3$. Коэффициент седиментации фрагментов РНП 140, 105 и 80 S, плотность в хлориде цезия $1,31$ — $1,32 \text{ г/см}^3$.

Геном представлен тремя фрагментами однонитчатой РНК с молекулярной массой $2,7 \cdot 10^6$ — $3,1 \cdot 10^6$ (L, long), $1,8 \cdot 10^6$ — $2,4 \cdot 10^6$ (M, medium) и $0,28 \cdot 10^6$ — $0,5 \cdot 10^6$ (S, short). Каждый вид РНК образует кольцевую форму, в которой 5'- и 3'- концы связаны не ковалентно, а водородными связями. Фрагмент L кодирует L-белок, фрагмент M — оба поверхностных гликопротеида, фрагмент S — белок N (нуклеокапсида). Геном имеет негативную полярность, поэтому РНК не обладает инфекционной активностью и не связывается с рибосомами. Коэффициенты

седиментации фрагментов РНК: L-фрагмент — 23—28S, M-фрагмент — 24—26S, S-фрагмент 14—16S.

Белки, антигены. С нуклеокапсидом связан белок нуклеопротеида (N) и транскриптаза (L). Два гликопротеида (G1 и G2) локализуются в наружной оболочке. Гликопротеиды являются протективными антигенами, обладают гемагглютинирующими свойствами, белок N является носителем группоспецифических свойств. Имеется два неструктурных белка. Род Bunyavirus подразделяется на 16 серологических групп с числом вирусов в каждой группе от 2 до 25, кроме того, имеются негруппированные вирусы.

Ферменты. В составе вирионов имеется РНК-зависимая РНК-полимераза (транскриптаза).

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирусы чувствительны к эфиру и детергентам, быстро инактивируются при прогревании при температуре 56°C , сохраняют инфекционную активность при замораживании (лучше при температуре 70°C).

Репродукция. Вирусы проникают в клетку путем эндцитоза с последующим слиянием вирусной мембраны со стенкой вакуоли. Репродукция вируса происходит в цитоплазме. Первичная транскрипция осуществляется с помощью эндогенной транскриптазы с образованием трех видов иРНК. Каждая из них кодирует соответствующий полипептид — L, N и предшественник белков G1 и G2.

Созревание вирионов осуществляется в два этапа. Сначала происходит сборка РНП, затем они одеваются внешней оболочкой, проходя через стенки везикул в области аппарата Гольджи. Вирусные частицы транспортируются на клеточную поверхность.

Буньявирусы патогенны для мышей-сосунков и хомяков и размножаются в клеточных культурах разного происхождения. Вирусам, входящим в состав одной и той же группы (в частности, группы Bunyamvera, California) присущ феномен пересортировки генов — обмен одноименными фрагментами РНК (РНП). Патогенность связана преимущественно с N-белком, но также может быть снижена при мутациях L-белка.

Патогенез и клиника. Для человека патогенны вирусы Буньямвера, Вьемия, Гуароа, Джермистон, Илеша (группа Буньямвера), Бвамба (группа Бвамба), Апеу, Итаки, Карапару, Мадрид, Маритура, Мурутуку, Орибоко, Осса, Рестан (группа С), Гуама, Кату (группа Гуама), вирус Калифорнийского энцефалита, Ла-Кросс, Тягиня (группа

Калифорния), Оропуш, Шуни (группа Симбу). Все они вызывают лихорадки, вирусы Буньявера и Калифорния — энцефалит. Заболевания начинаются остро, при энцефалите внезапно появляется сильная головная боль в области лба, повышается температура, может быть рвота, судороги. Прогноз благоприятный, летальные случаи редки.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается стойкий иммунитет.

Эпидемиология. Буньявирусы распространены на всех материках, заболевания, вызванные ими, имеют природную очаговость. Большинство буньявирусов передается комарами — первичными и основными переносчиками. Они способны к трансвариальной передаче. Кроме комаров, переносчиками являются и другие кровососущие членистоногие, в том числе клещи и слепни. В Европейской части СССР и Средней Азии основными переносчиками являются иксодовые клещи. Заболевание имеет выраженную сезонность и встречается в основном в летние месяцы (июнь — сентябрь). Заражение людей происходит через укусы инфицированных клещей, а также при контакте с больными людьми в результате попадания на поврежденную кожу и слизистые оболочки выделений, содержащих вирус.

Калифорнийский энцефалит встречается в сельских местностях, сезон — конец лета и начало осени (июль — сентябрь). Помимо Калифорнии, болезнь встречается и в других штатах США, бассейнах рек Миссисипи и Огайо, иногда возникают крупные вспышки. Меры профилактики — защита от комаров (репелленты, маски, пологи).

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является кровь, взятая в остром периоде заболевания, в летальных случаях — внутренние органы (мозг, печень, почки, легкие, селезенка). Выделение вируса проводят путем заражения мышей-сосунков в мозг. Слепые пассажи проводить не следует, так как при этом повышается возможность выделения спонтанных мышинных вирусов. Идентификацию вирусов проводят с эталонными сыворотками в РН на мышцах-сосунках и в культуре ткани по феномену интерференции; менее чувствительные, но более доступные реакции — РСК, РТГА, реакция прямой гемагглютинации.

Эти же реакции используют для серологической диагностики с применением эталонных диагностикумов.

Профилактика основана на защите от комаров, клещей и других кровососущих насекомых.

Ниже изложены основные особенности инфекций, вызываемых другими представителями этого семейства.

ВИРУСЫ ФЛЕБОТОМНОЙ ЛИХОРАДКИ

Патогенез и клиника. У человека и животных вирусы этой группы вызывают лихорадки или инаппарантную инфекцию. Для человека патогенны вирусы флеботомных лихорадок — сицилийской, тосканской и неаполитанской, а также вирусы Аленквер, Кандиру, Пунта Тору, лихорадка долины Рифт, Чагрес.

При укусе зараженным москитом появляется папула. Инкубационный период 3—6 дней. Флеботомная лихорадка развивается внезапно с температурой, болевым синдромом, конъюнктивитом, тошнотой и болями в животе. Течение благоприятное, смертельных случаев не бывает.

Лихорадкой долины Рифт (энзоотический гепатит) болеют овцы, но может заболеть и человек. Клинически протекает как лихорадка денге с внезапным началом, температурой, болевым синдромом, двугорбой температурной кривой. Болезнь протекает доброкачественно, но иногда бывает летальный исход.

Иммунитет. Иммунитет длится несколько лет и является типоспецифическим. Комплементсвязывающие антитела появляются не у всех переболевших, антигеммагглютинины обнаруживаются в большинстве случаев.

Эпидемиология. Все болезни, вызываемые этой группой вирусов, имеют природную очаговость и передаются москитами рода *Phlebotomus*. Домашние животные и человек вторично вовлекаются в эпизоотический процесс. Однако в населенных местах (нередко — курортных зонах) болезнь может передаваться от человека человеку москитами. Период вирусемии у человека короток и охватывает последний день инкубации и 1—3 дня с момента начала заболевания.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является кровь больного, полученная не позже 48 ч после начала заболевания, вирус можно выделить от москитов. Выделение вируса проводят путем заражения мышей-сосунков, а также культуры клеток (фибробласты куриного эмбриона и почки эмбриона человека). Идентификацию вируса проводят в РН на мышцах-сосунках или в культуре клеток в РСК, РТГА. Серологическая диаг-

ностика при исследовании парных сывороток больных с эталонным диагностикумом проводится в РН на мышасосунках или в культуре клеток в РТГА.

Профилактика. В населенных местностях — истребление москитов, в дикой природе — защита от их нападения (репелленты, сетки, пологи). В СССР флeботомная лихорадка раньше была распространена в курортной зоне Крыма и Кавказского побережья Черного моря. Очаги ее ликвидированы благодаря систематическому истреблению москитов.

ВИРУСЫ КРЫМСКО-КОНГОЛЕЗСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ (НАЙРОВИВИРУСЫ)

Все вирусы (не менее 27) образуют шесть серологических групп, в которые входят от двух до восьми вирусов.

Патогенез и клиника. Человек заражается при укусах инфицированными клещами. Возможно заражение, особенно медицинского персонала в результате попадания крови больных на поврежденную кожу. Инфекция сопровождается вирусемией, при некоторых заболеваниях, вызванных вирусами этой группы, развиваются тяжелые геморрагические синдромы.

Болезнь развивается внезапно, с высокой температурой и геморрагическим синдромом — сыпями и энантемами, кровавой рвотой, кровоизлияниями во внутренние органы. Летальность довольно высока. Вызывающие лихорадки вирусы настолько близки иммунологически, что их считают разными штаммами одного и того же вируса, существующими в разных экологических условиях (Крым, Центральная Африка) и болезнь называют крымско-конголезской геморрагической лихорадкой (ССНФ).

Из других вирусов этого рода для человека патогенны вирусы Найроби, Ганджи, Дутбе.

Иммунитет после перенесенной инфекции стойкий, типоспецифический.

Эпидемиология. Заболевания, вызываемые вирусами этой группы, имеют природную очаговость и передаются клещами, а вторично могут включаться комары. В связи с тем, что пастбищные клещи проявляют активность в весенне-летний период, в эти месяцы наблюдается рост заболеваемости. Человек заражается в природных очагах в результате нарушения экологического равновесия. Так, крымская геморрагическая лихорадка давно существует на

этом полуострове и вирус циркулирует от клещей к зайцам и от зайцев к клещам, однако в довоенные годы заболевания крымской геморрагической лихорадкой не регистрировались. На освобожденной от немецкой оккупации территории Крыма в результате экологических сдвигов, связанных с войной, возникли вспышки тяжелой формы геморрагической лихорадки в войсках и среди гражданского населения. Стабилизация жизни в послевоенный период привела к прекращению заболеваний среди людей. Очаги крымской геморрагической лихорадки обнаружены также в степной зоне Украины, Средней Азии, а из зарубежных стран — в Болгарии.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются кровь, взятая в острой стадии болезни, от погибших — внутренние органы, собранные клещи. Выделение вируса проводят путем внутримозгового заражения мышасосунков и сосунков белых крыс. Вирус идентифицируют в РСК, ИФ, РН с использованием эталонных сывороток. Серологическую диагностику проводят в этих же реакциях с использованием эталонных диагностикумов.

Профилактика. Защита от нападения клещей осуществляется с помощью репеллентов и рациональной спецодежды, истреблением клещей инсектицидами на стоянках, зонах отдыха. В очагах инфекции проводят вакцинацию убитой вакциной, приготовленной из мозга зараженных сосунков белых мышас и крыс. При подозрении на заражение вводят специфический γ -глобулин.

ВИРУС УКУНИЕМИ

Морфология. Вирионы имеют сферическую форму, диаметр 89—114 нм (чаще всего 95 нм). Три фракции РНП имеют коэффициенты седиментации 140S, 105S и 80S. Толщина оболочки вируса 10—12 нм, длина шипиков над поверхностью липидов 8—9 нм. Они представляют собой полые цилиндры диаметром 10—12 нм с центральной полостью 5 нм. Вирусная частица представляет собой икосаэдр с 20 гранями, состоящий из гексоновых (на гранях) и пентоновых (на вершинах) укладок гликопротеидов. Другие фундаментальные свойства являются типичными для всего семейства.

Патогенез и клиника. У человека вирус Укуниемии вызывает лихорадку с доброкачественным течением. Возможна инapparантная инфекция.

Иммунитет прочный типоспецифический.

Эпидемиология. Вирусы циркулируют, сменяя теплокровных хозяев на клещей, вторичными переносчиками могут быть комары. Теплокровными хозяевами являются птицы, членистоногими переносчиками — клещи *Ixodes ricinus*, комары *Culex modestus*. Ареал природных очагов — Финляндия, Норвегия, Чехословакия, Польша, Венгрия.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является кровь, взятая в острой стадии заболевания. Диагностика основана на выделении вируса от новорожденных мышей или в культурах тканей (ВНК-21, куриные фибробласты). Серологическая диагностика осуществляется в РСК, РПГА, РН и др. иммунологических реакциях.

Профилактика. При работе в природных очагах или посещении их (сбор ягод, грибов) защита от нападения клещей и комаров заключается в использовании репелентов, ношении рациональной спецодежды, уничтожении клещей на стоянках.

ДРУГИЕ БУНЬЯВИРУСЫ

Среди неклассифицированных в пределах названных четырех родов встречаются буньявирусы, патогенные для человека: Бханджа, Тамды, Татагине, Тогото (Азия, Африка). Они выделены от человека в период заболевания. Переносчиками являются клещи, за исключением вируса Татагине, передаваемого комарами.

Глава 14. СЕМЕЙСТВО АРЕНАВИРУСОВ (ARENAVIRIDAE)

Ареnavирусы (от лат. *arena* — песок) являются группой сравнительно немногочисленных вирусов (12 членов). Характерным морфологическим признаком представителей семейства служит наличие внутри вирусных частиц электронно-плотных мелких гранул; эта особенность нашла отражение в названии семейства (от лат. *agapetus* — песчинка). Семейство содержит один род — *Agapavirus*, представители которого связаны сходными свойствами и содержат общий групповой антиген. Три вируса (Ласса, Хунин и Мачупо) патогенны для человека и обуславливают тяжелые геморрагические лихорадки, дающие

высокую летальность. Типичный представитель семейства — вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), который вызывает у человека серозный менингит.

Резервуаром вирусов в природе являются разные виды грызунов.

ВИРУС ЛИМФОЦИТАРНОГО ХОРИОМЕНИНГИТА

Резервуаром вируса в природе являются разные виды грызунов. Вирус выделен в 1935 г. из цереброспинальной жидкости больных серозным менингитом.

Морфология. Виреоны имеют сферическую форму, овальную или полиморфную. Диаметр их 60—80 нм. Сердцевина вирионов содержит два фрагмента РНП со спиральной укладкой, плотно упакована и окружена липопротеидной оболочкой, в которую погружены булавовидные шипики длиной 10 нм. Под оболочкой находятся 10—15 электронно-плотных гранул диаметром по 20—25 нм. Это — клеточные рибосомы.

Химический состав и физико-химические свойства. В состав вирионов входят РНК (вирусспецифические и клеточные), белки, липиды, углеводы (в составе гликопротеидов). Виреоны имеют коэффициент седиментации 325—500 S, плотность в сахарозе 1,17—1,18 г/мл, хлориде цезия — 1,1—1,2 г/мл. Фрагменты РНП имеют коэффициенты седиментации 123—148 S и 83 S, плотность в хлориде цезия 1,32 г/мл.

Геном. В составе вируса содержится пять видов РНК с коэффициентами седиментации 31S, 28S, 22S, 18S и 4—6S. Геном вируса представлен двумя фракциями РНК с коэффициентами седиментации 31S и 22S, в то время как остальные РНК (с коэффициентами седиментации 28S, 18S и 4—6S) являются компонентами находящихся в вирионах рибосом (рибосомальные РНК). Обе вирионные РНК (L—long и S—short) имеют молекулярные массы соответственно $2,1 \cdot 10^6$ — $3,2 \cdot 10^6$ и $1,1 \cdot 10^6$ — $1,6 \cdot 10^6$. Вторичная структура РНК сложна, может образовывать кольцевые формы благодаря водородным связям и шпильки; S-фрагмент кодирует белок NP, а L-фрагмент — гликопротеиды. Один фрагмент имеет негативную, другой позитивную полярность («амбисенс» вирус).

Белки, антигены. В составе вирионов имеется 5 белков. Один из них NP, с молекулярной массой $63 \cdot 10^3$, ассоциирован с вирионной РНК. С ним связаны группоспецифические антигенные свойства, общие для всех вирусов

семейства аренавирусов. Четыре гликозилированных белка имеют молекулярные массы $85 \cdot 10^3$; $60 \cdot 10^3$; $44 \cdot 10^3$ и $35 \cdot 10^3$. Они образуют поверхностные шипики на липопротеидной оболочке, с ними связаны типоспецифические антигенные свойства и способность агглютинировать эритроциты. В составе вирионов имеется эндогенная РНК-зависимая РНК-полимераза (транскриптаза). Кроме того, вместе с рибосомами в вирионы могут попадать клеточные поли (У)- и поли (А)-трансферазы. В зараженных клетках обнаруживается неструктурный гликопротеид с молекулярной массой $74 \cdot 10^3$ (по-видимому, предшественник структурных гликопротеидов). В вирионах содержится 1530 молекул белка нуклеопротеида (NP), 390 молекул GP1 и 440 молекул GP2.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирус чувствителен к эфиру и детергентам, быстро теряет инфекционную активность при прогревании при температуре 50°C , при $\text{pH} < 5,5$ и $\text{pH} > 8,5$, чувствителен к ультрафиолетовому облучению. Он длительно сохраняет инфекционную активность при температуре -70°C и при лиофилизации.

Репродукция. Вирусный геном функционирует в клетках в составе рибонуклеопротеина. Оба фрагмента РНП транскрибируются вирионной РНК-полимеразой с образованием двух иРНК. Образующиеся полипептиды являются предшественниками структурных и неструктурных белков и подвергаются протеолитическому нарезанию, в результате которого образуются зрелые функциональные белки. S-фрагмент кодирует белок нуклеопротеида, а L-фрагмент — гликопротеиды. Синтез вирусных компонентов происходит в цитоплазме, в составе «фабрик», которые связаны с ядерными мембранами. «Фабрики» содержат клеточный матрикс, рибосомы, вирусные структуры и при окрашивании клеток видны в виде телец-включений.

Сборка вирионов происходит на мембранах эндоплазматической сети и на плазматической мембране, куда встраиваются вновь синтезированные гликопротеиды. Сформированный в «фабриках» рибонуклеопротеид транспортируется к мембранам, взаимодействует с участками, модифицированными вирусными гликопротеидами, и происходит почкование вирусной частицы либо в цистерны эндоплазматической сети с последующим транспортом на клеточную поверхность либо через плазматическую мембрану в омывающую клетки среду.

Вирус размножается в клеточных культурах, получен-

ных из тканей эмбриона мышей, кур, в клетках амниона человека, L, Vero, ВНК-21, KB и других с четким ЦПД и образованием цитоплазматических включений. В культуре фибробластов куриного эмбриона образует бляшки. Вирус высоко патогенен для белых мышей, морских свинок, обезьян при заражении в мозг. У них развивается серозный менингит, появляются тремор и судороги. На 10—20-й день многие животные гибнут. У цыплят, кроликов и хомяков наблюдается иннаппарантная инфекция.

Возможна пересортировка генов у разных штаммов одного и того же вируса. В зараженных клетках образуются дефектные интерферирующие ДИ-частицы, содержащие делеции в одном или обоих фрагментах вирусного генома.

Патогенез, клиника. У взрослых мышей, которые являются резервуаром вируса, заболевание характеризуется судорожным синдромом и гибелью в течение 6—8 дней, причем в основе патогенеза лежат иммунопатологические реакции. Спустя 5—6 мес после внутриутробного заражения или заражения новорожденных мышей часто развивается медленная инфекция, характеризующаяся хроническим гломерулонефритом и некрозом печени. Вирус выделяется с экскретами мышей и инфицирует окружающую среду. Заражение животных может наступить при вдыхании инфицированной пыли. Люди заражаются лимфоцитарным хориоменингитом аэрогенным путем при вдыхании высохших выделений мышей. Входными воротами инфекции являются дыхательные пути или пищеварительный тракт. Вирус размножается в регионарных лимфатических узлах, затем попадает в кровь и ЦНС.

Заболевание часто протекает как гриппоподобное с подъемом температуры, головной болью, миалгией, реже — как асептический менингит, иногда возникает менингоэнцефалит. Болезнь, как правило, протекает благоприятно и заканчивается полным выздоровлением.

Вирус проходит через плаценту и при заболевании беременных женщин может вызвать врожденные уродства плода (гидроцефалию и хориоретинит).

Иммунитет. У переболевших людей развивается стойкий иммунитет. Через 1—2 нед после развития менингеальных явлений появляются группоспецифические антитела, выявляющиеся в ИФА и ИФ. Комплементсвязывающие и вируснейтрализующие антитела обнаруживаются через 3 нед и позже. Вырабатываются также IgA-антитела.

Эпидемиология. Вирус распространен на всех материках (возможно, за исключением Африки и Австралии). Заболевание является типичным антропозоонозом. Основной хозяин — серые домовые мыши. Сотрудники лабораторий и питомников могут заразиться при контакте с сирийскими хомяками и при работе с зараженными культурами клеток. Основной путь передачи возбудителя инфекции — аэрозольный, возможен пищевой, а также при попадании вируса на поврежденную кожу.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются кровь и цереброспинальная жидкость, взятые в первые дни заболевания. Выделение вируса проводят путем внутримозгового заражения белых мышей 3—4-недельного возраста или культур клеток. Идентифицируют вирус в РСК или РН, а также в реакции ИФ с использованием эталонных сывороток. С помощью ИФ антиген можно обнаружить в культурах клеток и срезах мозга зараженных мышей до появления у них симптомов заболевания.

Серологическая диагностика проводится в РСК, РН, реакции ИФ, РОПГА. Антиген готовят из мозга зараженных мышей, хомяков или из культуральной жидкости зараженных клеточных культур. Возможно применение твердофазных методов (иммуноферментного и радиоиммунного).

Профилактика основана на истреблении мышей.

ВИРУС ЛАССА

Вирус был выделен в 1969 г. из крови больных лихорадкой из числа медицинского персонала госпиталя в местечке Ласса (Нигерия). Заболевания в большинстве случаев закончились летально.

Естественными хозяевами вируса являются многососковые крысы, *Mastomys natalensis*, которые передают вирус через мочу. Болезнь эндемична для Западной Африки. Вирус патогенен для белых мышей, морских свинок, белкообразных обезьян.

Человек заражается аэрозольным или пищевым путем, а также через объекты внешней среды, загрязненные экскретами больного. Возможно проникновение вируса через поврежденную кожу. Кроме названного основного резервуара могут быть инфицированы крысы (*Rattus rattus*) и мыши (*Mus minutoides*).

Инкубационный период длится 7—10 дней. Болезнь

может протекать как в виде инаппарантной инфекции, так и молниеносных форм с летальным исходом. Начало острое с температурой, ознобом, мышечными болями, головной болью. Нарастают интоксикация, кровоизлияния, нарушения со стороны ЦНС, шок. На 2-й неделе наступает смерть. Летальность иногда достигает 70%. При благоприятном течении болезни выздоровление наступает медленно.

Лабораторная диагностика основана на выделении вируса и серологических данных. Вирус можно легко выделить из крови, смывов носоглотки, мочи, плевральной жидкости, взятых в течение двух недель от начала заболевания. С этой целью обычно используют перевиваемую линию клеток Vero, в которой вирус вызывает цитопатический эффект и образование бляшек. Идентификацию вируса проводят методом непрямой ИФ зараженных клеток, в РН, используя эталонные сыворотки и сыворотки реконвалесцентов. Парные сыворотки переболевших исследуют методом непрямой ИФ, антиген готовят из культуральной жидкости зараженных клеток Vero. Применяют также РСК, РН, ИФА и РИА. Вирус Ласса относится к особо опасным вирусам, и работа с ним требует специального режима.

Для лечения применяется плазма реконвалесцентов. Специфическая профилактика не разработана. Основная профилактика — борьба с грызунами.

ВИРУСЫ КОМПЛЕКСА ТАКАРИБЕ

Комплекс Такарибе включает восемь серологически близких вирусов. Из них вирусы Мачупо и Хунин являются возбудителями геморрагических лихорадок, вирусы Пичинде и Такарибе вызывают лабораторные лихорадочные заболевания с легким течением, патогенность для человека остальных четырех вирусов не установлена. Ниже будут описаны возбудители геморрагических лихорадок: вирусы Мачупо и Хунин.

Вирус Мачупо — возбудитель боливийской геморрагической лихорадки. Естественным резервуаром вируса в природе являются грызуны *Calomys callosus*, обитающие в пампасах верхнего течения Амазонки. Здоровым вирус передается от больных животных через выделения.

Человек заражается пищевым или аэрозольным путями. Инкубационный период длится 7—14 дней. Заболевание начинается лихорадкой, болевым синдромом, а через

неделю развивается геморрагический диатез: сыпь, внутренние кровотечения, гематурия. Летальность высокая, связана с множественными кровоизлияниями во внутренние органы. Болезнь весьма контагиозна, описаны неоднократные заражения человека от человека (члены семьи, медицинский персонал и др.).

Работа с вирусом Мачупо требует строжайшего режима. Вирус выделяют из крови, мочи, смывов носоглотки путем заражения новорожденных хомяков. Для культивирования используют культуры клеток Vero, в которых наблюдается цитопатический эффект и образование бляшек. Серологическую диагностику осуществляют в РСК, а также с помощью метода непрямой ИФ.

Вирус Хуни — возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки, серологически близок к вирусу Мачупо. Оба вируса не дифференцируются в РСК и различаются только в РН.

Основным резервуаром вирусов Хуни в природе являются грызуны *Calomys musculinus* и *Calomys laucha*, населяющие пампасы и земли густонаселенных районов Аргентины. Вирус передается грызунам через выделения.

Человек заражается преимущественно пищевым путем. После инкубационного периода (8—14 дней) появляется высокая температура, болевой синдром, гиперемия конъюнктивы. В конце недели развивается геморрагический диатез — петехиальная сыпь, внутренние кровотечения и кровоизлияния, поражаются почки, сердце, нервная система. Летальность достигает 15—20%. Болезнь длится 8—10 дней, после чего наступает выздоровление. Описана интранатальная и стертая инфекции. Болезнь, как правило, не передается от человека человеку.

Поскольку известны заражения лабораторных работников, работа с вирусом требует соблюдения строгого режима.

Вирус выделяют из крови больных и из мочи путем внутримозгового заражения новорожденных мышей, морских свинок или хомяков. Хомяков можно заражать также внутрибрюшинно, а морских свинок и подкожно. Из культур клеток наиболее чувствительны клетки HeLa и Vero, на которых вирус размножается с ЦПД. Для серологической диагностики применяют РСК и РН.

Специфическая профилактика обеих геморрагических лихорадок (боливийской и аргентинской) не разработана. Основные меры профилактики сводятся к истреблению грызунов.

Глава 15. СЕМЕЙСТВО РЕТРОВИРУСОВ (RETROVIRIDAE)

Ретровирусы содержат в своем составе уникальный фермент — обратную транскриптазу, с помощью которой синтезируется ДНК на матрице вирионной РНК. Обратный синтез играет важную роль в репродукции вирусов, обуславливая интеграцию ДНК-провируса с клеточным геномом. Основные представители этой группы относятся к онкодерогическим вирусам (подсемейство Oncovirinae), две другие группы составляют пенящие вирусы (Spumvirinae) и возбудители некоторых медленных инфекций — Lentivirinae. В настоящее время известны выделенные от человека вирусы этого обширного семейства, относящиеся к первым двум подсемействам — вирусы Т-клеточной лейкемии, и пенящий вирус человека, роль которого в патологии человека не установлена. Онковирусы животных не вызывают заболеваний человека, однако именно на них были изучены основные свойства главных возбудителей лейкозов и рака.

ПОДСЕМЕЙСТВО ONCOVIRINAE

Вирусы этого подсемейства вызывают большой интерес в связи с тремя их особенностями: 1) они являются возбудителями рака и лейкозов у животных и представляют собой модель для изучения канцерогенеза; 2) для них характерен уникальный способ репликации, включающий стадию ДНК-провируса, интегрированного с клеточным геномом; 3) вирусы могут передаваться вертикально, подобно обычным клеточным генам.

Подсемейство онковирусов на основании морфологических характеристик разделяют на четыре группы (рода), обозначая их буквами латинского алфавита: онковирусы типа С, В, D и отдельно онковирус бычьего лейкоза. Наиболее распространены и наибольшее значение имеют онковирусы типа С. Они распространены среди рыб, пресмыкающихся, птиц и млекопитающих, включая человека. Онковирусы типа В обнаружены у мышей и морских свинок, типа D — у обезьян и мангустов. Вирус бычьего лейкоза пока не имеет аналогов среди других животных. В культурах клеток, продуцирующих онковирусы, обнаруживаются онковирусы типа А, которые большинство исследователей считают предшественниками (незрелыми формами) других онковирусов.

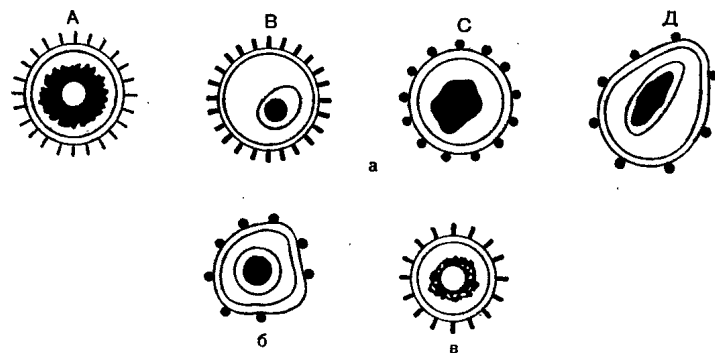


Рис. 47. Строение вирионов ретровирусов (схема).
а — онковирусы типов А, В, С, Д; б — лентивирусы; в — спумавирусы.

Морфология. Вирионы всех видов онковирусов имеют общие черты строения (рис. 47): Внутри вириона находится нуклеопротеид, со спиральным типом симметрии, диаметр его 12—17 нм, длина до 1 мкм. Нуклеопротеид окружен белковой мембраной и заключен в капсид, имеющий симметрию икосаэдра. Все эти структуры образуют сердцевину вирионов диаметром 70—80 нм. Сердцевина окружена липопротеидной оболочкой, в которую погружены с наружной стороны гликопротеиды вируса, образующие шипики в форме барабанных палочек диаметром 7 нм или сферических частиц.

Вирионы типа А, В, С, Д различаются морфологически. У вирионов типа А сердцевина кольцевидная с внутренней электронно-оптически пустой полостью. У вирионов типа В сердцевина смещена к периферии, капсид неплотно примыкает к нуклеопротеиду, на поверхности отчетливо просматриваются длинные булавовидные отростки. Вирионы типа С имеют плотную центрально расположенную сферическую или овальную сердцевину, отростки более короткие или пуговчатые. У вирионов типа Д сердцевина овальной формы, капсид неплотно примыкает к нуклеопротеиду, вместо шипиков обнаруживаются пуговчатые образования; онковирусы бычьего лейкоза сходны с онковирусами типа С, но сердцевина может быть эпицентральной, а сами вирионы часто бывают полиморфны.

Химический состав и физико-химические свойства. Вирионы содержат 1—2% РНК, 60% белков, 35% липидов, 3,5% углеводов от сухой массы. Липиды находятся в составе липопротеидной оболочки и имеют клеточное происхождение, углеводы входят в состав гликопротеидов.

Плотность вирионов в сахарозе 1,16—1,18 г/см³, плотность сердцевины, полученных при обработке вирионов детергентами, 1,22—1,29 г/см³.

Геном. Геном онковирусов представляет собой димер двух идентичных однонитчатых РНК, соединенных на 5'-концах водородными связями, таким образом, геном диплоидный. Каждая молекула РНК имеет коэффициент седиментации в сахарозе 35 S (весь геном — 60—70 S), молекулярная масса около $3 \cdot 10^6$. В состав вирионов входит низкомолекулярная РНК (коэффициент седиментации 4—7 S), представляющая собой клеточную транспортную РНК. На 5'-конце 35 S РНК находится «шапочка», на 3'-конце — полиаденилатовая последовательность. Геномная РНК имеет позитивную полярность и способна функционировать как иРНК. Геном содержит четыре гена, расположенных следующим образом: от 5'-конца к 3'-концу gag (group-specific antigen), pol (polymerase, обратная транскриптаза), env (envelope proteins), четвертым геном является src-онкоген, т. е. ген, вызывающий злокачественную трансформацию клеток. Гены онковирусов птиц содержат соответственно 2500, 3000, 2200, 1800 нуклеотидов. Затем следует некодирующая область «С», содержащая 800—1000 нуклеотидов, за ней поли (А) — около 200 нуклеотидов. Ген src имеет клеточное происхождение и его утрата не влияет на способность вируса к размножению, в то время как утрата любого другого гена делает вирус дефектным.

Белки, антигены. В составе вириона находится 11—13 белков. Часть их локализована в сердцевине, а главный внутренний белок р27—р30 — в мембране, окружающей РНП. В составе липопротеидной оболочки находятся 2—5 гликопротеидов, из которых более крупный образует головку шипика и является главным белком оболочки, а более мелкие и негликозилированные белки образуют отросток, погруженный в слой липидов.

Среди белков различают группоспецифические, подгрупповые и типоспецифические антигены. Подгрупповые и типоспецифические антигены связаны с наружными гликопротеидами и выявляются в РН, РСК, ИФ, иммунодиффузии. Группоспецифические антигены связаны с белками сердцевины и являются продуктами гена gag. Они обнаруживаются с помощью РСК, ИФ, иммунодиффузии. Главный внутренний белок р27—р30 является основным группоспецифическим антигеном, общим для всех вирусов в каждой группе животных.

Устойчивость к физическим и химическим агентам. Вирусы чувствительны к эфиру, детергентам, относительно устойчивы к ультрафиолетовому облучению, быстро инактивируются при температуре 56° С, в кислой среде (рН 4,5), чувствительны к формалину. Вирусы хорошо сохраняются при температуре — 70° С.

Репродукция. Адсорбция на специфических клеточных рецепторах обусловливается главным гликопротеидом оболочки. Вирус проникает в клетку путем эндоцитоза с последующим слиянием вирусной оболочки со стенкой вакуоли, в результате нуклеокапсид высвобождается в цитоплазму и в его составе начинает функционировать вирионная (эндогенная) РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза, ревертаза). Наличие обратной транскрипции принципиально отличает онковирусы от всех прочих вирусов. Этот процесс состоит из трех этапов: синтеза ДНК, комплементарной вирионной РНК; энзимного разрушения матрицы РНК и синтеза второй нити ДНК на матрице основной нити ДНК. Все эти три функции выполняет обратная транскриптаза. Затравкой для транскрипции является молекула клеточной транспортной РНК, обычно триптофановая тРНК, которая содержится в сердцевине. Концы образованного ДНК-транскрипта имеют прямые повторы, благодаря которым линейные молекулы двунитчатых ДНК-транскриптов становятся кольцевыми и интегрируют с ДНК клеточных хромосом.

Транскрипция участков хромосом, соответствующих генам онковируса, осуществляется обычным путем с помощью РНК-полимеразы II, при этом транскрибируется одна из нитей ДНК и продуктом транскрипции являются РНК с коэффициентом седиментации 35 S, идентичная вирионной РНК, а также более короткие нити РНК, соответствующие отдельным генам. Продуктами трансляции являются полипептиды-предшественники, которые затем протеолитически нарезаются, а часть их гликозилируется.

Формирование нуклеопротеидов и сердцевин происходит в основном в результате процессов самосборки. Наружные гликопротеиды встраиваются в клеточную мембрану и в этих участках происходит сборка вирионов, выделяющихся из клетки почкованием.

Существуют две большие группы онковирусов: эндогенные и экзогенные. Эндогенные (ксенотропные) вирусы в виде ДНК-провирусов существуют во всех клетках особей данного биологического вида, передаваясь вертикально. Эти вирусы способны заражать только клетки другого

биологического вида. Экзогенные вирусы распространяются горизонтально по типу обычных возбудителей инфекции. Переходной формой являются экотропные вирусы, которые, будучи эндогенными, могут распространяться горизонтально и заражать близкие биологические виды.

Вирусы Т-клеточной лейкемии человека (HTLV). Вирусы отличаются от онковирусов типа С животных по основному внутреннему антигену р24 и по биологическим и биохимическим свойствам. Известны два типа вируса.

Оба типа вызывают Т-клеточную лейкемию — заболевание, эндемичное для Японии и районов Карибского моря. Вирусы были выделены В. Галло и соавт. в 1981 г. из лимфоцитов больных Т-клеточной лейкемией с поражением кожи.

Вирус, вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Вирус был выделен Монтанье в 1983 г., а также В. Галло и др. в 1984 г. из культуры Т-лимфоцитов, полученных от больных. Он имеет общие антигены с вирусами HTLV 1 и 2 и обозначен как LAV/HTLV 3, но отличается от них по ряду биологических и биохимических свойств. Первые случаи заболевания обнаружены в Нью-Йорке в 1979 г., в настоящее время болезнь регистрируется и в ряде европейских стран. Вирус передается парентерально и половым путем. К группам высокого риска в США относятся гомосексуалы и проститутки в связи с иммунодепрессивным действием спермы, наркоманы, лица, страдающие гемофилией, лица с повторными переливаниями крови. Заболевание характеризуется глубоким и необратимым угнетением клеточного иммунитета, нарушением функции иммунокомпетентных клеток. У больных отношение Т-хелперов к Т-супрессорам не превышает 0,5. На этом фоне возникают поражения различных органов и тканей: саркома Капоши, пневмония, вызванная *C. pneumocystae*, являющиеся основными причинами летальных исходов, идеопатическая множественная геморрагическая саркома. Возможна персистенция вируса в организме, такие носители не проявляют симптомов заболевания, но являются источником инфекции.

У больных и лиц из групп высокого риска обнаружены вирусспецифические антитела. Диагноз ставят по обнаружению антигена в лимфоцитах крови и антител.

Онковирусы типа D

Онковирусы типа D были выделены из перевиваемых культур клеток человека (HeLa, Нер-2, J-96 и др.). Впоследствии было показано, что все эти культуры в свое время были контаминированы клетками HeLa и имеют характерные для них маркерные хромосомы и изофермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу. Поэтому исходной культурой, продуцирующей этот вирус, являются клетки HeLa.

Вирус очень сходен с обезьяньим вирусом Мезон—Пфайзера, выделенным из опухолей грудных желез животных, однако, имеет и ряд отличий и является либо вирусом человека, либо вариантом обезьяньего вируса Мезон—Пфайзера.

КАНЦЕРОГЕНЕЗ

При онковирусной инфекции происходит не разрушение клетки, а онкогенная ее трансформация, которая обусловлена онкогеном. Онкоген имеет клеточное происхождение и захватывается онковирусами в процессе интеграции и вырезания ДНК-провируса. Таким образом роль вируса в онкогенезе заключается в транспорте клеточного онкогена в такие участки генома, где он выходит из-под контроля клетки. Это ускользание из-под контроля является исходным моментом для превращения нормальной клетки в опухолевую. Онкоген не только не требуется для репродукции онковирусов, но часто вирусы, содержащие этот ген, бывают дефектными и неспособными к репродукции. В то же время дефектность по онкогену лишает онковирусы способности индуцировать опухоли. Онкогены высококонсервативны: одинаковые последовательности онкогенов обнаружены у дрозофилы, птиц и млекопитающих, включая человека.

В настоящее время известно более 20 онкогенов и определена их локализация в хромосомах человека. Разные и даже одни и те же онковирусы могут содержать разные онкогены. Один и тот же онкоген может вызвать трансформацию разных тканей и характер опухоли определяется видом ткани. В некоторых опухолевых клетках человека и животных обнаружено по два онкогена.

Теория клеточного происхождения онкогена объясняет полиэтиологическую природу онкогенеза, возникающего при действии различных факторов — вирусных, химиче-

ских, радиационных и других. В основе онкогенеза лежат одни и те же механизмы: онкоген → онкобелок → трансформация клетки → туморогенез. Активирующие факторы вызывают появление или активацию предсуществующих в геноме участков ДНК, которые начинают функционировать как онкогены.

Любая нормальная клетка содержит латентные раковые гены, получившие название протоонкогены. Существуют две гипотезы, объясняющие превращение протоонкогена в онкоген, одна из которых основана на качественных, а другая — на количественных изменениях протоонкогенов. Активация онкогена может произойти в результате точечной мутации в протоонкогене, например, при замене гуанозина на тимидин. Модифицированный белок отличается от исходного лишь одной аминокислотой: в нем глицин заменен валином. Вторая гипотеза исходит из количественных изменений протоонкогенов. В том случае, если протоонкоген оказался сопряженным с сильным промотором — участком гена, связывающим полимеразу — начинается амплификация (усиленная транскрипция) протоонкогена. Чрезмерная экспрессия протоонкогена включает следующие стадии канцерогенеза: амплификация гена может возникать либо в результате его перемещения либо в результате встраивания в соседней области сильного промотора. Промоторы могут быть вирусной природы. При вырезании интегрированного провируса вирусный ген может захватить протоонкоген и вместе с ним интегрировать в другую область клеточного генома, где происходит амплификация онкогена благодаря вирусному промотору или соседнему сильному клеточному промотору. Таким путем протоонкоген переносится из строго регулируемых областей клеточного генома в другие области. Возможно, для амплификации протоонкогена требуется специфическая точечная мутация. Такое предположение объединяет обе гипотезы в одну стройную теорию.

Транслокация протоонкогена может осуществляться без вирусов, благодаря особым генетическим структурам — транспозонам. Транспозоны были открыты в середине 70-х годов у бактерий, а затем у эукариот и представляют собой генетические элементы, перемещающиеся в геноме («прыгающие гены» или «мобильные диспергированные гены»). Характерная структура транспозонов, наличие длинных концевых повторов, приводящих к образованию кольцевых форм, объясняет их способность интегрировать с клеточным геномом. Транспозоны явля-

ются функционально важными для клетки структурами, которые, перемещаясь внутри генома, могут переносить в нужные области гены из заблокированных участков генома. Транспозоны участвуют в процессах клеточной дифференцировки, эмбриогенеза, пролиферации, регенерации. Захват и перенос ими под сильные промоторы протоонкогенов может иметь катастрофические последствия для клетки, нарушая строго сбалансированный рост клетки и превращая нормальную клетку в раковую. Злокачественная трансформация клетки является своего рода ошибкой в деятельности транспозонов. Имеется большое сходство в структуре транспозонов и онкогенных вирусов, которые приняли на себя функцию транспозонов в эукариотической клетке и стали факторами канцерогенеза.

Канцерогенез, несомненно, является сложным многоступенчатым процессом, и описанные процессы являются лишь отдельными стадиями превращения нормальной клетки в опухолевую.

Глава 16. СЕМЕЙСТВО ПИКОРНАВИРУСОВ (PICORNAVIRIDAE)

Название семейства происходит от слов *pico RNA* — «маленькая РНК». Семейство включает в себя самые мелкие и наиболее просто устроенные вирусы (среди патогенных для человека), содержащие «плюс-нитевую» линейную РНК. В семействе выделено 4 рода, представители которых различаются по чувствительности к низким значениям pH, плавучей плотности вирионов в хлориде цезия и клиническому проявлению инфекций — роды Энтеровирус, Риновирус, Кардиовирус и Афтовирус. Энтеровирусы устойчивы при pH 3,0, они не разрушаются в желудке и проникают в тонкий кишечник, в слизистой оболочке которого происходит их репродукция. Эти вирусы вызывают заболевания у людей, проявляющиеся разными клиническими симптомами. Остальные пикорнавирусы чувствительны к кислотам. Риновирусы репродуцируются в слизистой оболочке верхних дыхательных путей и обуславливают инфекции дыхательных путей. Кардиовирусы редко вызывают заболевания у людей, инфекции протекают по типу природно-очаговых лихорадок. Вирусы выделены от грызунов. К этому роду относится группа вирусов энцефаломиокардита, патогенных для мышей. Афтовирусы вызывают у животных, имеющих когти, поражения сли-

зистых оболочек с образованием везикул; к этому роду относится вирус ящура. Роды, виды и типы пикорнавирусов перечислены в табл. 26. Между видами нет перекрестного иммунитета.

Таблица 26. Классификация пикорнавирусов

Род	Представители	Количество типов
Энтеровирусы	Вирус полиомиелита человека	3
	Вирусы Коксаки человека, группа А	23
	Вирусы Коксаки человека, группа В	6
	Вирусы ЕСНО человека	31
	Энтеровирусы человека (типы 68—71)	4
	Вирус гепатита А (тип 72)	2
	Энтеровирусы животных	34
Риновирусы	Риновирусы человека	113
	Риновирусы крупного рогатого скота	2
Кардиовирусы	Вирус энцефаломиокардита,	1
	Вирус Менго	1
Афтовирусы	Вирус ящура	Более 7
	Вирусы беспозвоночных	Более 30
	Неклассифицированные	5

ЭНТЕРОВИРУСЫ

С 1969 г. все вновь открытые типы энтеровирусов обозначаются порядковыми номерами. Например, вирусы полиомиелита обозначают как энтеровирусы типов 1—3, вирус гепатита А — как энтеровирус типа 72.

Вирусы полиомиелита человека

Морфология. Вирусы имеют диаметр 17—30 нм. В центре вирусной частицы находится РНК, которая окружена капсидом икосаэдральной симметрии, построенным из 60 субъединиц. Вирус не имеет оболочки. По внешнему виду вирусная частица напоминает ягоду малины.

Химический состав и физико-химические свойства. Около 30% сухой массы вирусной частицы приходится на РНК, остальные 70% — на белок. В составе вируса нет ни липидов, ни углеводов. Молекулярная масса вириона $8 \cdot 10^6$ — $9 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 140—165 S. Плавучая плотность вирусной частицы в хлориде цезия при фиксации глютаральдегидом 1,43—1,45 г/см³, без фиксации 1,33—1,34 г/см³.

Геном. Геном представлен одонитчатой «плюс-ните-

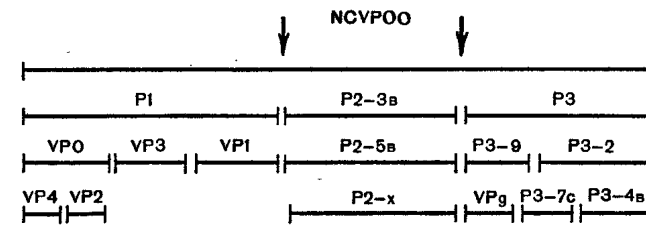
вой» РНК, с молекулярной массой $2,4 \cdot 10^6$ — $2,7 \cdot 10^6$. Молекула РНК инфекционна и в зараженной клетке функционирует как иРНК. Однако в противоположность большинству эукариотических иРНК, РНК вируса полиомиелита не содержит структуру «шапочки»: на 5'-конце вместо «шапочки» имеется ковалентно связанный с РНК геномный белок VPg с молекулярной массой 40 000—70 000. Удаление этого белка не лишает вирусную РНК инфекционной активности. Вновь синтезированные в зараженной клетке вирусные иРНК не содержат белок VPg, он появляется только в составе молекул геномных РНК, входящих в состав вирусного потомства. Предполагается регуляторная роль геномного белка в процессе созревания вируса. На 3'-конце геномной РНК, как и у других иРНК эукариот, содержится поли(А)последовательность, состоящая из 15—50 полиадениловых остатков. Удаление поли(А) снижает инфекционную активность РНК.

Белки, антигены. Капсид состоит из 4 белков — VP1, VP2, VP3 и VP4 с молекулярными массами $32 \cdot 10^3$ — $35 \cdot 10^3$, $28 \cdot 10^3$ — $31 \cdot 10^3$, $24 \cdot 10^3$ — $26 \cdot 10^3$ и $6 \cdot 10^3$ — $7 \cdot 10^3$ соответственно. Белки представлены в капсиде в эквимоларных соотношениях по 60 молекул каждого белка на вирион, при этом каждая из 60 субъединиц содержит по одной молекуле каждого из 4 белков. На поверхности вириона находится в основном белок VP1 и в меньшем количестве белки VP2 и VP3. Белок VP4 на поверхности вириона не обнаруживается и находится в тесной ассоциации с вирусной РНК.

По антигенным свойствам вирусы полиомиелита делят на 3 типа. Общим для всех трех типов является комплекссвязывающий антиген.

Устойчивость к физическим и химическим агентам. Вирус устойчив к эфиру и детергентам, низким значениям pH (pH 3,0). В канализационных водах и фекалиях при температуре 0° С вирус сохраняет инфекционную активность около месяца. В молоке, масле, сметане, мороженом вирус выдерживает прогревание при температуре на 5° С выше, чем в воде. Прогревание при температуре 50° С инактивирует вирус в течение 30 мин, а при кипячении он погибает за несколько секунд. При температуре —20° С в питательных средах вирус сохраняется годами. Его термостойкость резко повышается в присутствии дивалентных ионов. Вирус быстро погибает при действии УФ-лучей и высушивании. Мочевина инактивирует вирус, гуанидин полностью разрушает капсид. Хлор даже в низких кон-

Схема 6. Протеолитическое нарезание предшественников белков вируса полиомиелита.



центрациях инактивирует вирус. К обычным дезинфектантам вирус устойчив.

Репродукция. Цикл репродукции вирусов полиомиелита непродолжительный — 5—7 ч. Они прикрепляются к специфическим клеточным рецепторам на плазматической мембране, которые обуславливают чувствительность клеток к вирусной инфекции. Гены, кодирующие эти рецепторы, находятся в 19-й хромосоме. С клеточными рецепторами взаимодействует белок VP4, а также, возможно, белок VP1. Вирус проникает в клетку путем эндоцитоза, последующее проникновение через стенку эндоцитарной вакуоли происходит только в условиях низкого значения pH. Вирус может проникнуть в клетку и через плазматическую мембрану при снижении pH на клеточной поверхности. В процессе раздевания освобождается вирусная РНК и связывается с рибосомами. Формируются вирусные полирибосомы, которые отличаются от клеточных крупными размерами в соответствии с большой длиной иРНК и содержат около 40 монорибосом. Стратегия вирусного генома направлена на создание гигантского полипротеина-предшественника с молекулярной массой около 250 000, который затем нарезается сначала вирусным, а впоследствии клеточными ферментами на зрелые белки (схема 6). Нарезание является точным и специфическим процессом. Первый акт нарезания осуществляется в двух местах с помощью вирусной протеазы P3—7C, в результате чего образуются три продукта, из которых один является предшественником для структурных, а второй — для неструктурных белков. Третий продукт подвергается дальнейшему разрушению. Неструктурными белками являются протеазы и РНК-полимераза; последняя выделена в очищенном виде и является одной из наиболее хорошо изученных вирусных полимераз. Весь процесс репродукции вируса происходит в цитоплазме в ассоциации с гладкими мембранами в «фабри-

ках». Здесь формируется репликативный предшественник, обнаруживаются вновь синтезированные информационные и геномные РНК, которые отличаются друг от друга отсутствием белка VPg на 5'-конце иРНК. В этих же «фабриках» происходит процесс сборки вирусных частиц. При сборке вначале формируется комплекс, содержащий по одной молекуле белков VP1 и VP3 и одну молекулу белка VP0 с коэффициентом седиментации 5 S. Комплексы собираются в структуры с коэффициентом седиментации 14 S, а затем в структуры (прокапсид) с коэффициентом седиментации 73 S. Завершающий этап сборки состоит во встраивании РНК в прокапсид и нарезании белка VP0 на белки VP2 и VP4. В цитоплазме зараженных клеток вирусные частицы образуют паракристаллические структуры (см. рис. 6, в). Выход вирионов из клетки происходит в результате ее лизиса.

В зараженной клетке вирус вызывает подавление синтеза клеточных РНК и белка. В основе этого феномена лежит взаимодействие вирусных структурных белков с компонентами иницирующего комплекса, в результате чего рибосома не узнает «шапочку» на клеточных иРНК.

Патогенез. Входными воротами инфекции являются слизистые оболочки полости рта. Первичная репродукция вируса происходит в слизистой оболочке полости рта, глотки и тонкого кишечника, лимфатических узлах и пейеровых бляшках. Еще до проявления клинических симптомов вирус обнаруживается в носоглотке и фекалиях, при появлении симптомов вирус не обнаруживается в носоглотке, но продолжает обнаруживаться в фекалиях. Из лимфатической системы вирус попадает в кровь и гематогенным путем проникает в ЦНС, распространяясь вдоль аксонов периферических нервов и далее вдоль волокон нижних двигательных нейронов. В процессе внутриклеточной репродукции вирусы повреждают или полностью разрушают эти клетки, вызывая поражение спинного и головного мозга. Наиболее чувствительны клетки передних рогов спинного мозга, деструкция которых вызывает развитие параличей. Утратившие свою функцию пораженные клетки ЦНС могут в дальнейшем полностью восстановиться. Помимо поражения ЦНС, могут развиваться миокардит, гиперплазия лимфатической ткани, изъязвление лимфатических фолликулов.

Из лабораторных животных к вирусу полиомиелита наиболее восприимчивы приматы. Обезьяны могут быть заражены перорально, интраназально, подкожно, введен-

ем вируса в мозг. Экспериментальная инфекция сопровождается появлением менингеальных симптомов и параличей конечностей. Возможна адаптация вируса и к другим видам животных, особенно при внутримозговом введении — хомякам и белым мышам. Пассажи на грызунах сопровождаются постепенной потерей патогенности для обезьян и человека.

Клиника. Полиомиелит является одним из самых древних заболеваний человека. Как свидетельствуют археологические материалы, человек болел полиомиелитом за несколько тысячелетий до нашей эры. Первое описание вспышки полиомиелита на острове Фасоссе было сделано Гиппократом.

Инфекция, вызванная вирусом полиомиелита, может проявиться в следующих клинических формах: 1) иннаппарантная инфекция, без клинически выраженных симптомов; 2) легкие клинические формы болезни без параличей; 3) асептический менингит; 4) паралитический полиомиелит. Нередко заболевание имеет двухволновое течение, когда одна форма болезни переходит в другую, при этом после легкой формы может наступить улучшение, а затем развиться тяжелая форма полиомиелита. Обычно диагноз на ранних стадиях заболевания устанавливают лишь в 1% случаев. Инкубационный период продолжается обычно 7—14 дней, но может колебаться от 3 до 35 дней.

Все три типа вируса полиомиелита одинаково распространены среди населения нашей страны и антитела к ним обнаруживаются в одинаковых соотношениях. Однако у больных с паралитическими формами чаще обнаруживались антитела к вирусу полиомиелита типа 1. Иннаппарантная форма чаще вызывается вирусом полиомиелита типа 2.

Иммунитет. Вируснейтрализующие антитела появляются вскоре после заражения, иногда до появления симптомов болезни. Однако даже высокая концентрация антител в сыворотке больных не предотвращает возникновение параличей после того, как вирус проник в ЦНС.

Антитела сохраняются в течение всей жизни. У переболевших развивается стойкий гуморальный иммунитет и резистентность клеток слизистой оболочки кишечника к гомологичному типу вируса. Перекрестный иммунитет слабо выражен и встречается в основном между 2-м и 3-м типами. Материнский иммунитет сохраняется в течение 3—5 нед жизни.

Эпидемиология. Полиомиелит распространен по всему земному шару. В тропических странах заболевание регистрируется в течение всего года, а в странах с умеренным климатом — чаще летом и осенью.

Источником инфекции является человек. Больной полиомиелитом выделяет вирус как в течение всего периода заболевания, так и в период полного выздоровления и еще длительное время спустя. Инфекция часто возникает в результате бытового контакта в семье. Высокая резистентность вируса к факторам внешней среды способствует длительному выживанию его в канализационных водах, фекалиях, некоторых пищевых продуктах. Вирус, накапливающийся в первые дни заболевания в слизистой оболочке верхних дыхательных путей, может, попадая в воздух при кашле, чихании, обуславливать воздушно-капельный механизм передачи, хотя доминирующее значение имеет фекально-оральный. Возможен также перенос вируса навозными и домашними мухами. Заболевание чаще возникает у детей, чем у взрослых, в связи с появлением у последних приобретенного иммунитета. В то же время при попадании вируса в изолированные популяции взрослые и дети болеют с одинаковой частотой. Часто возникают инаппарантные инфекции, которые обуславливают развитие иммунитета. В странах с умеренным климатом эпидемии возникают в связи с появлением нового поколения высоковосприимчивых детей. В странах с теплым климатом и плохими санитарно-гигиеническими условиями вирусы полиомиелита длительно персистируют и вируснейтрализующие антитела обнаруживают уже в раннем детском возрасте. Установлена прямая корреляция между неблагоприятными социально-экономическими условиями и ранним появлением антител.

Лабораторная диагностика. Лабораторная диагностика основана на выделении вируса и определении нарастания антител в парных сыворотках переболевших. Материалом для исследования являются фекалии больных, взятые в течение первой, хуже — второй недели заболевания, и отделяемое носоглотки, взятое в первые три дня болезни. При летальных исходах исследуют головной и спинной мозг и мозжечок, мышцы, миндалины, лимфатические узлы, стенки кишечника. В отличие от вирусов Коксаки и ЕСНО, из цереброспинальной жидкости вирус полиомиелита выделяется редко. Кусочки органов помещают в глицерин и хранят при температуре 4° С. Вирус выделяют в первичной культуре клеток почек обезьян, можно ис-

пользовать культуру клеток почек эмбриона человека и перевиваемые клетки амниона человека, а также клетки HeLa, которые, однако менее чувствительны к вирусу. Вирус обнаруживают по ЦПД и идентифицируют с помощью смесей типоспецифических сывороток в РН в культуре клеток.

Для проведения серологических исследований берут парные сыворотки, первую сыворотку как можно раньше после начала заболевания, вторую — через 3—4 нед. Сыворотки исследуют в РСК и в РН с эталонными штаммами вируса.

Профилактика. Специфическая профилактика полиомиелита осуществляется с помощью живых и убитых вакцин. Первым специфическим эффективным средством борьбы с полиомиелитом явилась формализированная вакцина, предложенная американским вирусологом Дж. Солком и примененная в США в 1954 г. Убитая вакцина высокоиммуногенна и вызывает образование IgM- и IgG антител. Циркулирующие антитела препятствуют проникновению вируса в ЦНС, но не препятствуют репродукции вируса в клетках слизистой оболочки кишечника. В то же время живая вакцина, полученная из аттенуированных штаммов, помимо IgG- и IgM-, индуцирует образование секреторных IgA-антител в слизистой оболочке пищеварительного тракта, особенно тонкого кишечника, и тем самым препятствует циркуляции диких штаммов вируса полиомиелита. Поэтому в настоящее время более широко применяется живая вакцина.

Технология производства живой вакцины была разработана советскими вирусологами А. А. Смородинцевым и М. П. Чумаковым в сотрудничестве с американскими вирусологами при использовании аттенуированных штаммов вируса полиомиелита, полученных А. Сэбином. Вакцинные штаммы утрачивают способность к репродукции в клетках ЦНС. Они отличаются от дикого штамма по ряду нуклеотидов и аминокислот, большая часть замен концентрируется в концевых участках VP1. Вакцинный вирус выращивают в культуре клеток почек обезьян и вводят перорально. В организме вакцинированных эти штаммы вызывают появление антител, которые защищают ЦНС от последующего заражения диким штаммом, и обуславливают резистентность клеток слизистой оболочки кишечника к дикому вирусу. Циркуляция вакцинных штаммов среди населения приводит к созданию коллективного иммунитета.

В 1959 г. в отдельных республиках, а с 1960 г. на всей территории СССР и в ряде социалистических стран были проведены массовые прививки населения в возрасте от 2 мес до 20 лет живой полиомиелитной вакциной, состоящей из трех типов вакцинного вируса полиомиелита (1, 2 и 3). Это привело к резкому снижению заболеваемости в нашей стране и к ликвидации паралитических форм полиомиелита. Применение живой вакцины требует постоянного контроля на отсутствие у нее нейротропности для предупреждения поствакцинальных осложнений. В ряде стран используется комбинированное применение живой и убитой вакцины.

Позднее было обнаружено, что вместе с живой вакциной детям был введен SV40, обладающий онкогенными свойствами. Однако анализ статистических данных показал, что вакцинация не сопровождалась ростом злокачественных новообразований.

Иммунный сывороточный человеческий γ -глобулин при своевременном введении предупреждает развитие паралитической формы, но не устраняет возникновение инаппарантной инфекции. При появлении клинических симптомов болезни введение γ -глобулина не эффективно.

Вирусы Коксаки

Вирусы Коксаки вызывают у людей различные клинические формы болезни — асептический менингит, герпангину, миокардит, перикардиты, респираторные заболевания (табл. 27), возможно, диабет. Вирусы делят на 2 группы — А и В.

Некоторые типы вирусов Коксаки А и все типы вирусов Коксаки В размножаются в культуре клеток эмбриона человека, почек обезьян и других культурах, оказывая выраженное ЦПД. Все типы могут быть выделены при заражении сосунков белых мышей, у которых возникает паралитическая форма инфекции.

Единственным хозяином вируса в природе является человек. Широко распространено носительство возбудителя инфекции, которое может продолжаться месяцами. Основной механизм передачи фекально-оральный, вирус может распространяться и воздушно-капельным путем. Благодаря относительно высокой резистентности вируса во внешней среде он некоторое время выживает в канализационных водах, на предметах обихода, в пищевых продуктах.

Т а б л и ц а 27. Заболевания, вызванные энтеровирусами

Заболевание	Этиологический агент			
	Коксаки А (типы)	Коксаки В (типы)	ЕСНО (типы)	энтеровирусы типов 68—71
Серозный менингит	1—11, 14, 16—18, 22, 24	1—6	1—7, 9, 11—23, 25, 27, 30, 31	71
Полимиелитоподобное заболевание	2, 4, 7, 9, 10	1—5	1—4, 6, 7, 9, 11, 13, 14, 16, 18, 30, 31	71
Полиневрит	2, 5, 6, 9	1—5	6, 22	71
Энцефалит	2, 5, 6, 7, 9		2—4, 6, 7, 9, 11, 14, 18, 19, 30, 33	
Мозжечковая атакия	4, 9		9	
Экзантема	2, 4—6, 9, 16	1, 3—5	1—7, 9, 11, 12, 14, 18, 19, 20, 16, 25	71
Герпангина	1—6, 8, 10, 22			70
Конъюнктивит	9, 10, 16	5	1, 4, 6, 9, 16, 20	
Плевродиния	4, 6, 10	1—5	1, 6, 9	71
Миокардит новорожденных	4, 9, 16	1—5	6, 9, 22	
Перикардит	1	1—5	1, 9, 19	71
Заболевание верхних дыхательных путей	4, 9, 10, 21, 24	2, 3, 5, 6	1—3, 5, 6, 8, 11, 19, 20, 28, 22, 25	
Пневмония	9, 16	4, 5	1, 4, 6, 9, 16, 20	71
Диареи			5—9, 14, 18, 19, 22—24	
Гастроэнтерит			8, 11, 20, 28	

После перенесенной манифестной или инаппарантной инфекции развивается стойкий типоспецифический иммунитет.

Вирусы ЕСНО

От вирусов полиомиелита они отличаются тем, что не вызывают у обезьян экспериментальной инфекции, а от вирусов Коксаки — отсутствием патогенности для новорожденных мышей. В настоящее время известно более 30 серотипов, хотя не все могут вызывать заболевания у людей. Вирусы ЕСНО являются возбудителями асептических менингитов, лихорадочных заболеваний с сыпью и без сыпи, респираторных заболеваний (см. табл. 27).

Вирус широко циркулирует среди населения. Механизм передачи фекально-оральный, возможен и воздушно-капельный. После перенесенного заболевания возникает стойкий иммунитет к типу вируса, вызвавшему заболевание.

Лабораторная диагностика энтеровирусных заболеваний основана на выделении вируса из клинического материала и данных серологического обследования парных сывороток. Вирус выделяют из смывов носоглотки, крови, фекалий, материала ректальных тампонов, а при асептических менингитах — из цереброспинальной жидкости. Фекалии больных берут в первую и вторую недели заболевания, отделяемое носоглотки — в первые 3 дня болезни. Вирус выделяют в культуре клеток и на мышцах-сосунках, поскольку одни энтеровирусы выделяются только в культуре клеток, а другие — только при заражении мышечных сосунков.

Выделение вирусов проводят одновременно в первичной культуре клеток почек обезьян и перевиваемых клетках амниона человека. Все типы вирусов ЕСНО вызывают цитопатические изменения, в то время как вирусы Коксаки А с трудом выделяются в культурах клеток, а ЦПД в культуре клеток почек обезьян вызывает только вирус А9. Типирование вирусов проводят в РН в культуре клеток, типирование вирусов, обладающих гемагглютинирующей активностью, проводят в РТГА с эритроцитами человека группы 0, используют также непрямой метод ИФ.

Новорожденным мышам 1—4-дневного возраста исследуемый материал вводят комбинированно внутрибрюшинно и подкожно, при отсутствии реакции проводят

следующий пассаж, после двух слепых пассажей результат считают отрицательным. Большие дозы вирусов Коксаки вызывают гибель мышечных сосунков через 1—3 дня, малые дозы вызывают характерную клиническую форму болезни, сопровождающуюся изменениями в основном поперечно-полосатых мышц. Выделенный вирус идентифицируют в РН в культуре клеток и на мышцах-сосунках с помощью набора типоспецифических сывороток.

Серологическое обследование парных сывороток проводят в РСК и РН в культуре клеток и на мышцах-сосунках с использованием эталонных препаратов энтеровирусов.

Поскольку иммунитет при инфекциях ЕСНО и Коксаки является типоспецифическим, создание вакцин из многих типов вирусов является нереальным, и основные меры профилактики связаны с противоэпидемическими мероприятиями.

Помимо вирусов Коксаки и ЕСНО, есть еще 4 типа энтеровирусов (типы 68—71), которые хорошо культивируются в культуре клеток почек обезьяны. Два из них (68, 69) являются возбудителями респираторных и кишечных заболеваний, тип 70 — геморрагического конъюнктивита, а энтеровирусы типа 71 были выделены от больных менингитами и энцефалитами.

Вирус гепатита А

Существуют и другие названия гепатита А: эпидемический гепатит, инфекционный гепатит, болезнь Боткина, энтеровирус типа 72.

Морфология, химический состав, физико-химические свойства. Вирус обладает признаками, сходными с другими энтеровирусами. Диаметр его 27—32 нм, тип симметрии кубический, капсид состоит из 60 белковых молекул. Вирус не содержит липиды и углеводы.

Геном представлен однонитчатой «плюс-нитевой» РНК с коэффициентом седиментации 32—35 S и молекулярной массой $2,25 \cdot 10^6$ — $2,8 \cdot 10^6$, РНК содержит на 3'-конце поли(А)последовательности, инфекционна.

Белки и антигены. В составе вируса 4 белка: VP1, VP2, VP3 и VP4 с молекулярными массами соответственно $30 \cdot 10^3$ — $33 \cdot 10^3$, $24 \cdot 10^3$ — $27 \cdot 10^3$, $21 \cdot 10^3$ — $7 \cdot 10^3$ — $14 \cdot 10^3$. Известен один вирусспецифический антиген, связанный с четырьмя капсидными белками. Существуют

два серотипа вируса, которые не дают перекрестного иммунитета.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирус относительно устойчив к физическим и химическим факторам: низким значениям pH (3,0), прогреванию при температуре 60° С в течение 12 ч (в этом его основное отличие от других пикорнавирусов), но инактивируется при прогревании до температуры 100° С в течение 5 мин. Ультрафиолетовое облучение инактивирует вирус в течение 1 мин, формалин (1:4000) — в течение 3 дней при температуре 37° С; хлор (1:100 000) — в течение 30 мин. Инфекционная активность вируса может сохраняться годами при температуре — 20° С. Вирус устойчив к эфиру и детергентам.

Репродукция. Репродукция не изучена, но, по-видимому, сходна с репродукцией пикорнавирусов. Сложность изучения вируса гепатита А заключается в отсутствии экспериментальных моделей и трудности в адаптировании вируса к культурам клеток. В лабораторных условиях вирус удавалось накопить лишь в эксплантатах ткани печени и первичной культуре клеток почки эмбриона обезьяны резус. В настоящее время имеются аттенуированные штаммы вируса, культивируемые на перевиваемых культурах. Однако, основным источником выделения и накопления вируса являются фекалии больных людей и фекалии и экстракты печени экспериментально зараженных обезьян — мармозетов и шимпанзе.

В то время как фундаментальные свойства вируса гепатита А и других энтеровирусов сходны, имеется ряд отличий по биологическим свойствам, основными из которых являются: 1) отсутствие доказательств первичного размножения вируса гепатита А в кишечнике; 2) строгий тропизм его к паренхиматозным клеткам печени; 3) большая устойчивость к прогреванию: энтеровирусы устойчивы к прогреванию при температуре 50° С, в то время как вирус гепатита А не утрачивает инфекционную активность при прогревании при температуре 60° С в течение 12 ч; 4) значительно более длительный цикл репродукции.

Патогенез. Вирус попадает в пищеварительный тракт с водой и пищей, не подвергающейся термической обработке (молоко, соки, салаты и т. д.). Первичное размножение вируса происходит в слизистой оболочке кишечника и вирус выделяется с фекалиями в инкубационном периоде болезни приблизительно за 1—2 нед до

появления желтухи. В то же время вирус обнаруживается в крови. Появление признаков поражения печени (желтуха, повышение уровня ферментов в сыворотке крови больных) сопровождается снижением количества вируса в фекалиях и крови. В этот период вирусный антиген выявляется в цитоплазме гепатоцитов.

Клиника. Заболевание начинается остро, с подъемом температуры, иногда ознобом. Температура достигает максимума в первые два дня. Продромальный период напоминает гриппоподобные заболевания и сопровождается головной болью, слабостью, ломотой во всем теле, а иногда катаральными явлениями (кашель, насморк). Через 4—5 дней эти явления исчезают, температура снижается и развиваются симптомы, характерные для желудочно-кишечных заболеваний — потеря аппетита, тошнота, иногда рвота, боль в области правого подреберья. Почти одновременно моча становится темной, а кал — светлым. Часто гепатит А протекает без желтухи; безжелтушный гепатит, как правило, бывает у детей; у взрослых отмечаются более тяжелые формы и в 50% случаев он сопровождается желтухой. Гепатит А обычно оканчивается полным выздоровлением, летальность крайне низкая. Хронические формы не возникают.

Гепатит А, гепатит В и гепатит ни А, ни В невозможно надежно дифференцировать по клиническому течению. Вирусологические, эпидемиологические и клинические данные при гепатитах А и В приведены в табл. 11.

Иммунитет к заболеванию пожизненный и связанный с иммуноглобулинами класса IgG. С появлением клинических симптомов у больных обнаруживаются IgM и определяются в течение 4—6 мес, являясь надежным диагностическим признаком свежеперенесенной инфекции.

Эпидемиология. Гепатит А является кишечной инфекцией с фекально-оральным способом передачи. Источниками инфекции являются больные в манифестной и инаппарантной форме. Вирус выделяется с фекалиями больных в течение последней недели инкубационного периода и в преджелтушном периоде, и в это время больные наиболее опасны для окружающих. В крови вирус определяется через две недели после заражения и исчезает в первые дни болезни.

Основные пути передачи: фекально-оральный, а также через воду, пищу, предметы обихода, горшки, игрушки, особенно в детских учреждениях. Описаны крупные водные эпидемии в связи с фекальным загрязнением

открытых водоемов и водопроводов. Водные эпидемии могут возникнуть вне зависимости от сезона, интенсивность их определяется массивностью заражения водисточников (колодцы, водопровод и т. д.). В связи со стойкостью возбудителя обычное хлорирование воды не всегда инактивирует вирус. Описаны также вспышки, связанные с передачей возбудителя через пищевые продукты, чаще всего через молоко. Болезнь имеет выраженную сезонность, запаздывающую по сравнению с другими кишечными инфекциями вследствие довольно продолжительного инкубационного периода, поэтому максимальный подъем заболеваемости наблюдается в августе — сентябре. Поражаются преимущественно дети от 4 до 15 лет. Коллективный иммунитет у взрослых вырабатывается как за счет перенесенных заболеваний, так и в результате инаппарантной инфекции. Антитела к вирусу у людей старше 50 лет обнаруживаются в 70—75% случаев.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются фекалии больных, в которых определяют вирусные частицы с помощью ИЭМ и вирусный антиген с помощью ИФА и РИА. При ИЭМ в качестве иммунной сыворотки используют сыворотку реконвалесцентов. Вирус можно обнаружить в конце инкубационного и в продромальном периодах, однако, он исчезает вскоре после появления желтухи. Серологическая диагностика основана на определении прироста антител классов IgG и IgM в парных сыворотках больных с использованием тех же методов — ИЭМ, ИФА и РИА. В качестве антигена используют препараты вируса, выделенного из фекалий больных, после очистки и концентрации. Очистку вируса проводят с помощью дифференциального центрифугирования, центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия, хроматографии на колонках с сефарозой 2 В и др.

Основным диагностическим признаком текущей или свежеперенесенной инфекции являются антитела класса IgM. Антитела класса IgG выявляются позже, после выздоровления больного, определяются в течение длительного времени и свидетельствуют о перенесенном заболевании.

Профилактика. Профилактика основана на активном выявлении больных с желтушными и безжелтушными формами, ранней изоляции их, систематическом наблюдении за эпидемическим очагом, широкой системе санитарно-гигиенических мероприятий. Применяется профи-

лактическое введение иммуноглобулина лицам, имевшим контакт с больными, и детям в период отсутствия эпидемии. Ведется работа над получением живой вакцины из аттенуированных штаммов вируса. Однако, производство вакцины лимитируется необходимостью ее контроля на дорогостоящих животных, — шимпанзе и мармозетах. Поэтому основное внимание уделяется получению генноинженерной вакцины.

РИНОВИРУСЫ

Риновирусы являются возбудителями легких респираторных заболеваний человека, так называемого заразного насморка, которые обычно протекают без температуры. Они вызывают заболевания только у человека и шимпанзе.

Диаметр вириона 20—30 нм, фундаментальные свойства вируса сходны со свойствами энтеровирусов. Характерным признаком, отличающим их от энтеровирусов человека, является потеря инфекционной активности в кислой среде (рН 3,0—5,0). Вирусы можно хранить на протяжении многих лет при температуре —70° С, но лишь непродолжительное время — при температуре 4° С.

Вирусы размножают в культуре фибробластов легких эмбрионов человека и в органных культурах эпителия трахеи человека и хорьков. Оптимальными условиями являются инкубация при температуре 33° С, слабо кислая среда (рН 6,8—7,0), роллерное культивирование. В таких условиях культивирования проявляется цитопатический эффект. Ряд риновирусов культивируется в клетках почек обезьян или человека, возможна адаптация вируса к культуре клеток почек телят.

Известно 113 серотипов риновирусов, между отдельными серотипами выявлены перекрестные серологические реакции. Передача вируса от человека к человеку осуществляется воздушно-капельным путем. Зараженный человек выделяет вирус еще до появления симптомов заболевания и особенно интенсивно в первые дни болезни. Инкубационный период длится 2—4, заболевание — 5—7 дней. Оно сопровождается насморком, кашлем, головной болью, общей слабостью. Особенно часто болеют дети. Возможны осложнения — отиты, трахеобронхиты, воспаление легких. Заболевание оставляет непродолжительный иммунитет, наблюдается и повторное заражение тем же серотипом. Резистентность к инфекции определяется

не сывороточными, а, по-видимому, специфическими антителами (IgA) носоглотки.

Лабораторная диагностика основана на выделении вируса в культуре ткани почек эмбриона человека или обезьяны. Для быстрой диагностики используется метод ИФ. «Заразный» насморк широко распространен во всех частях света. В странах с умеренным климатом максимальная заболеваемость регистрируется осенью и зимой.

Методы специфического лечения и профилактики отсутствуют.

Глава 17. СЕМЕЙСТВО КАЛИЦИВИРУСОВ (CALICIVIRIDAE)

В семейство (название происходит от лат. calix — чаша) входят вирусы, патогенные для животных, однако возможным представителем семейства является вирус Норфолк и другие, обнаруживаемые в фекалиях больных гастроэнтеритом людей, а также свиней и телят.

По фундаментальным свойствам вирусы сходны с пикорнавирусами, и лишь недавно были выделены в самостоятельное семейство.

У вирусных частиц сферическая форма, диаметр 20—30 нм. На поверхности вируса имеются 32 чашеобразных вдавления, расположенных в соответствии с икосаэдральной симметрией. Капсид состоит из 180 белковых молекул, оболочки не имеет, липиды и углеводы отсутствуют. Молекулярная масса вирионов $15 \cdot 10^6$, коэффициент седиментации 170—183 S, плавающая плотность в хлориде цезия 1,36—1,39 г/см³. Вирус устойчив к эфиру и детергентам, чувствителен к низкому значению pH, инактивируется при прогревании при температуре 56° С. Геном представлен «плюс-нитевой» однонитчатой РНК с молекулярной массой $2,6 \cdot 10^6$ — $2,8 \cdot 10^6$. РНК не имеет «шапочки», полиаденилирована на 3'-конце. На 5'-конце имеется ковалентно связанный белок. В вирионе содержится один основной и другой минорный капсидные белки. В зараженных клетках обнаружены геномная РНК и два класса РНК меньших размеров.

Вирус Норфолк. Вирионы имеют размер около 20 нм. Плавающая плотность вирионов в хлориде цезия 1,40 г/см³. Вирус кислотоустойчив. Выявлен при ЭМ фекалий детей, больных острым гастроэнтеритом. Сходные по морфологии вирусные частицы были выявлены в фекалиях зараженных волонтеров.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Список сокращений	4
Часть I. ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ	5
Глава 1. История вирусологии	5
Открытие вирусов	5
Периоды развития вирусологии	6
Научные вирусологические учреждения в СССР	10
Глава 2. Природа и происхождение вирусов	10
Природа вирусов	10
Происхождение вирусов	13
Роль вирусов в эволюции	15
Глава 3. Химический состав вирусов	15
Нуклеиновые кислоты	16
Вирусные ДНК	17
Вирусные РНК	19
Белки	22
Липиды	27
Углеводы	29
Компоненты клетки-хозяина	30
Глава 4. Морфология, морфогенез и биофизические свойства вирусов	30
Архитектура вирионов	30
Морфогенез вирусов	39
Биофизические свойства вирусов	42
Устойчивость вирусов в окружающей среде	45
Глава 5. Классификация вирусов	46
Основы классификации	46
Номенклатура вирусов	48
Глава 6. Репродукция вирусов	53
Адсорбция	53
Проникновение вирусов в клетку	56
Разделение	61
Транскрипция	63
Трансляция	69
Репликация	78
Сборка вирусных частиц	83
Выход вирусных частиц из клетки	87
Глава 7. Генетика вирусов	87
Структурная организация генома клетки	88
Структурная организация генома вируса	89

Способы увеличения информационной емкости вирусного генома	90
Основные процессы, контролирующие наследственность и изменчивость вирусов	92
Генетические и негенетические взаимодействия между вирусами	94
Рестриктазы и физические карты вирусов	98
Генная инженерия	99
Глава 8. Патогенез вирусных инфекций	103
Классификация вирусных инфекций на клеточном уровне	104
Цитопатология зараженной вирусом клетки	109
Классификация вирусных инфекций на уровне организма	113
Патогенез вирусных инфекций	116
Пути проникновения вируса в организм	117
Распространение вирусов в организме	118
Сборные группы вирусов, вызывающих массовые инфекции	120
Глава 9. Противовирусный иммунитет	124
Вирусные антигены	130
Гуморальный иммунитет	131
Клеточный иммунитет	132
Иммунопатологические реакции	135
Интерферон	141
Глава 10. Экология вирусов и эпидемиология вирусных инфекций	146
Экологическая ниша вирусов	146
Эпидемиология вирусных инфекций	147
Глава 11. Химиотерапия и иммунопрофилактика вирусных инфекций	150
Химиотерапия вирусных инфекций	150
Антивирусные препараты	152
Новые направления химиотерапии вирусных инфекций	158
Иммунопрофилактика вирусных инфекций	159
Вирусные вакцины	159
Глава 12. Лабораторная диагностика вирусных инфекций	165
Быстрая диагностика вирусных инфекций	169
Выделение вируса из клинического материала	175
Серологические методы диагностики вирусных инфекций	180
Глава 13. Санитарная вирусология	181
Санитарная вирусология воды	182
Санитарная вирусология почвы	185
Санитарная вирусология воздуха	186
Санитарная вирусология предметов обихода	189
Санитарно-пищевая вирусология	189

Часть II. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ	191
Глава 1. Семейство вирусов оспы (Poxviridae)	191
Вирус натуральной оспы	191
Вирус оспы обезьян и сходные вирусы	197
Глава 2. Семейство вирусов герпеса (Herpesviridae)	198
Вирус простого герпеса	199
Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса	204
Вирус цитомегалии	206
Вирус Эпштейна — Барр	208
Обезьяний вирус В	209
Глава 3. Семейство гепаднавирусов (Hepadnaviridae)	209
Вирус гепатита В	209
Вирус гепатита ни А ни В	216
Глава 4. Семейство аденовирусов (Adenoviridae)	217
Аденовирусы человека	218
Глава 5. Семейство паповавирусов (Papovaviridae)	225
Обезьяний вирус 40 (SV40)	225
Вирусы папилломы и полиомы человека	228
Глава 6. Семейство парвовирусов (Parvoviridae)	228
Аденоассоциированные вирусы	228
Глава 7. Семейство реовирусов (Reoviridae)	229
Реовирусы	230
Ротавирусы	233
Орбивирусы	240
Глава 8. Семейство тогавирусов (Togaviridae)	240
Альфа-вирусы	241
Краткое описание инфекций, вызываемых альфа-вирусами	245
Флавивирусы	247
Краткое описание инфекций, вызываемых флавивирусами	250
Вирус краснухи	253
Глава 9. Семейство коронавирусов (Coronaviridae)	256
Глава 10. Семейство парамиксовирусов (Paramyxoviridae)	259
Вирусы парагриппа человека (ВПГЧ)	262
Вирус эпидемического паротита	264
Вирус ньюкаслской болезни	267
Вирус кори	267
Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус)	271
Глава 11. Семейство ортомиксовирусов (Orthomyxoviridae)	274
Классификация вирусов гриппа	274
Вирусы гриппа типа А	275
Вирусы гриппа типа В	287
Вирусы гриппа типа С	287

<i>Глава 12.</i>	Семейство рабдовирусов (Rhabdoviridae)	288
	Вирус везикулярного стоматита	288
	Вирус бешенства	290
	Вирусы Марбург и Эбола	294
<i>Глава 13.</i>	Семейство буньявирусов (Bunyaviridae)	295
	Вирусы Буньямвера	295
	Вирусы флеботомной лихорадки	299
	Вирусы крымско-конголезской геморрагической лихорадки (найробивирусы)	300
	Вирус Укунии	301
	Другие буньявирусы	302
<i>Глава 14.</i>	Семейство аренавирусов (Arenaviridae)	302
	Вирус лимфоцитарного хориоменингита	303
	Вирус Ласса	306
	Вирусы комплекса Такарибе	307
<i>Глава 15.</i>	Семейство ретровирусов (Retroviridae)	309
	Подсемейство Oncovirinae	309
	Онковирусы типа D	314
	Канцерогенез	314
<i>Глава 16.</i>	Семейство пикорнавирусов (Picornaviridae)	316
	Энтеровирусы	317
	Вирусы полиомиелита человека	317
	Вирусы Коксаки	324
	Вирусы ЕСНО	326
	Вирус гепатита А	327
	Риновирусы	331
<i>Глава 17.</i>	Семейство калицивирусов (Caliciviridae)	332

Учебное пособие

АЛИСА ГРИГОРЬЕВНА БУКРИНСКАЯ

Вирусология

Редактор **В. А. Зуев**

Редакторы издательства **М. И. Сухерова, Т. Н. Киреева**

Художественный редактор **В. Ф. Киселев**

Технический редактор **Г. Н. Тюрина**

Корректор **И. С. Парфенова**

ИБ № 4314

Сдано в набор 13.12.85 Подписано к печати 05.06.86 Т-01380. Формат бумаги 84×108¹/32 Бумага кн.-журн. Гарнитура таймс. Печать высокая. Усл. печ. л. 17,64 Усл. кр.-отт. 17,64 Уч.-изд. л. 18,89 Тираж 50 000 экз. Заказ 351. Цена 95 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», 101000 Москва, Петроверигский пер., 6/8

Набрано в ордена Октябрьской Революции и ордена Трудового Красного Знамени МПО «Первая Образцовая типография» им. А. А. Жданова Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113054, Москва, Валовая, 28

Отпечатано в типографии № 11 Союзполиграфпрома. Москва, Нагатинская, 1