

2011

Вирусы

Вирусы относятся к царству *Vira*. Проникая в клетки, вирусы ведут себя как паразиты, потому что для своего размножения используют ферментные системы клеток, вызывая повреждение и гибель последних. В отличие от клеточных организмов, у вирусов отсутствует собственная система метаболизма. Они не имеют клеточного строения, белоксинтезирующих систем, содержат только один тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК). В свою очередь, группы подразделяют на семейства, а последние — на роды. В настоящее время известны вирусы, размножающиеся в клетках растений, животных, грибов и бактерий (последние называют бактериофагами или фагами). Несмотря на некоторые общие закономерности строения и стратегии развития, вирусы не имеют общего происхождения. Это подтверждается тем, что геномы вирусов, инфицирующих далекие между собой группы организмов, структурно родственны, но при том имеют общую структуру генов и регулярных элементов, кодируют структурно близкие белки, имеют общие механизмы регуляции экспрессии генов. Обнаружены также вирусы, поражающие другие вирусы (вирусы-сателлиты). Также вирусы способны переносить гены или группы генов между организмами, перекрест которых в природе невозможен. Циркулируя в природе, вирусы постоянно претерпевают различные изменения и мутации, в результате которых появляются новые виды вирусов. Под давлением естественного отбора закрепляются только самые стойкие формы вирусов. Живой организм может быть заражен сразу несколькими вирусами. Поэтому возможно генетическое взаимодействие между вирусами и появление новой рекомбинантной формы вируса.

Классификация вирусов

- 1) по типу НК;
- 2) по цвету;
- 3) по форме;
- 4) по автору;
- 5) по вирулентности — вызывают продуктивную инфекцию, т.е. при внедрении вируса в клетку он адаптируется и берет управление генома клетки на себя, и образуется молодой вирус, специфические белки, и формируется сам вирус, после этого он убивает, мутирует клетку и вырывается наружу.

Умеренные фаги лизируют не все клетки в популяции. С частью из них фаги вступают в симбиоз: нуклеиновая кислота фага (его геном) встраивается в хромосому клетки и получает название профаг. Происходит образование единой хромосомы. Бактериальная клетка при этом не погибает. Профаг, ставший частью генома клетки, при ее размножении может передаваться неограниченному числу потомков, т.е. новым клеткам.

Вирулентные фаги вызывают лизис зараженной клетки с выходом в окружающую среду большого количества фаговых частиц, способных поражать новые клетки.

К ДНК-содержащим вирусам относят шесть семейств. Три из них передаются респираторным путем: поксвирусы вызывают у человека натуральную оспу, герпесвирусы — вирусы простого герпеса, ветряной оспы

и опоясывающего лишая, поражающие кожные покровы аденовирусы — выделены из аденоидов носоглотки. Два семейства — онкогенные вирусы: парвовирусы и паповавирусы. Шестое семейство называется гепаднавирусы (от греческого слова *hepar*—печень). Вирусные ДНК бывают двунитевые и однонитевые, имеют линейную или кольцевую форму.

РНК-содержащие вирусы состоят из десяти семейств. Два — миксовирусы, ортомиксовирусы, включающие вирусы гриппа человека, и парамиксовирусы — вирусы парагриппа, паротита и кори. Пять семейств составляют группу арбовирусов. Они циркулируют в природе среди животных, передаются членистоногими и вызывают у человека клещевой и японский энцефалит, желтую и москитную лихорадки. Вирусы являются автономными генетическими структурами и отличаются особым дизъюнктивным способом размножения: в клетке отдельно синтезируются НК и белки вирусов, затем происходит их сборка в вирусные частицы.

Вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты, размножаются в цитоплазме или ядре клетки. Сформированная вирусная частица называется вирион. Для вирусов характерны две формы существования: внеклеточная (покоящаяся) и внутриклеточная (вегетативная). Внеклеточный вирус имеет корпускулярную форму, которая называется элементарным тельцем, вирусной частицей или вирионом. Вирионы имеют полигональную, сферическую и нитевидную формы. Их размеры колеблются от 20—30 до 150—250 нм. Адсорбция вириона на клетке-хозяине сопровождается разрушением капсида клеточными ферментами. В цитоплазму клетки проникает только НК вируса или его геном, который вступает с генетическим аппаратом клетки в определенные отношения. Различают инфекционные вирусы и интеграционные вирусы. Первые вызывают лизис клеток, вторые — злокачественную трансформацию тканей. По характеру взаимодействия с клеткой эти вирусы являются генетическими паразитами из-за способности вирусного генома объединяться с клеточными.

Морфология и структура вирусов.

Морфологию и структуру вирусов изучают с помощью электронной микроскопии. Форма вирионов может быть различной: палочковидной (табачной мозаики), пулевидной (бешенства), сферической (полиомиелит, ВИЧ), в виде сперматозоида (бактериофаги).

Вирусы подразделяют на просто устроенные и сложно устроенные. НК и капсид составляют нуклеокапсид. У сложно устроенных вирусов капсид окружен дополнительной оболочкой или пеплосом. Таким образом, по химическому составу вирусы — нуклеопротеиды, а по структуре — нуклеокапсиды.

Вирионы (внеклеточные формы) имеют спиральный, кубический и сложный типы симметрии капсида. Внутренние структуры вирусов называются сердцевиной. Кроме обычных вирусов известны и так называемые неканонические вирусы — прионы. Прионы — белковые инфекционные частицы. Прионы вызывают у человека энцефалопатии в условиях медленной вирусной инфекции.

Вироиды — небольшие молекулы кольцевой, суперспиральной РНК, не содержащие белка и вызывающие заболевания растений.

Методы культивирования и идентификации вирусов.

В вирусологии методы лабораторной диагностики вирусных инфекций имеют свою специфику, учитывая особенности биологии вирусов. Используются вирусоскопический, вирусологический и серологический методы лабораторной диагностики.

Вирусоскопический метод заключается в обнаружении вируса в исследуемом материале под микроскопом. Чаще используют электронный микроскоп, реже — люминесцентный. Световая микроскопия из-за ничтожно малых размеров вирусов практически не применяется. Лишь для обнаружения крупных вирусов можно применить световой микроскоп, используя методы свехокраски.

Кроме того, с помощью светового микроскопа можно выявить внутриклеточные включения, которые образуются в пораженных клетках при некоторых инфекциях. Вирусологический метод заключается в заражении исследуемым материалом чувствительной биологической модели (лабораторные животные, куриные эмбрионы или культуры клеток), индикации вируса и его последующей идентификации. При заражении лабораторных животных индикация вирусов производится, как правило, по клинической картине болезни, патологоанатомическим изменениям — ориентировочно и окончательно, например, с помощью реакции гемагглютинации. Эта же реакция позволяет выявить вирусы в курином эмбрионе, при вскрытии которого видимых изменений, как правило, не наблюдается. В культуре клеток наличие вируса определяют по цитопатическому действию (в том числе образованию внутриклеточных включений), гемадсорбции, феномену бляшкообразования, реакции гемагглютинации, отсутствию изменения окраски индикатора.

Идентификация вируса осуществляется с помощью серологических реакций (РПГА, РТГА, РН, РСК, ИФАидр.). Вирусологический метод позволяет точно определить природу возбудителя, но он требует достаточного времени (5—7 дней и более), значительных материальных затрат и небезопасен. Особенностью серологического метода в вирусологии является исследование парных сывороток. Первую сыворотку берут у больного в острый период в начале болезни, хранят при температуре 48 °С, а вторую сыворотку берут через 10—14 дней. Сыворотки исследуют одномоментно. О болезни свидетельствует сероконверсия, т.е. нарастание титра антител во второй сыворотке по отношению к первой. Диагностической является сероконверсия в 4 раза и выше. Так как многие вирусные болезни протекают остро, этот вариант серологического метода обычно применяют для ретроспективной диагностики. Ведущим методом лабораторной диагностики вирусных инфекций является вирусологический.

Ускоренная и экспресс-диагностика вирусных болезней производится так же, как при бактериальных инфекциях. Вирусы культивируют на биологических моделях: в организме лабораторных животных, в

развивающихся куриных эмбрионах и культурах клеток (тканей). Лабораторных животных заражают исследуемым вирусосодержащим материалом. Индикацию (обнаружение) факта размножения вирусов устанавливают на основании развития типичных признаков заболевания, патоморфологических изменений органов и тканей животных или положительной реакции гемагглютинации (РГА). РГА основана на способности некоторых вирусов вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов различных видов животных, птиц и человека за счет имеющегося на поверхности вириона особого белка — гемагглютинина.

В зависимости от техники приготовления различают следующие культуры клеток: однослойные, суспензионные, органые, первичные, перевиваемые, или стабильные, полуперевиваемые.

Устойчивость вирусов к факторам окружающей среды.

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 инактивируются 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. Чувствительность вирусов к инаktivации формальдегидом и другими химическими веществами, инаktivирующими генетический материал, зависит от многих условий, среди которых следует назвать плотность упаковки нуклеиновой кислоты в белковый футляр, размеры генома, наличие или отсутствие внешних оболочек.

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 инаktivируется при кислых и щелочных значениях рН.

Репродукция вирусов.

Взаимодействие вируса с клеткой хозяина — сложный многоступенчатый процесс, который начинается с адсорбции вирусных частиц на рецепторах клетки хозяина и продолжается после их проникновения внутрь клетки. В результате такого взаимодействия различают три типа взаимодействия вируса с клеткой:

продуктивный тип, при котором в зараженных клетках образуется новое поколение вирионов;

абортный тип, характеризующийся прерыванием инфекционного процесса в клетке, поэтому новые вирионы не образуются;

интегративный тип, или вирогения, заключающийся в интеграции, т.е. встраивании вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместном сосуществовании.

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой осуществляется в результате его размножения, т.е. репродукции вируса:

вирион на клетке (адсорбция);

проникновение вируса в клетку;

«раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация);

биосинтез компонентов вируса;

формирование вирусов — «сборка» — заключается в образовании нуклеокапсида;

выход вирионов из клетки.

Интегративный тип взаимодействия — взаимное существование вируса и клетки (вирогения). Вирогения характеризуется интеграцией (встраиванием) НК вируса в геном клетки, а также репликацией и функционированием вирусного генома как составной части генома клетки.

Интегративный тип взаимодействия характерен для умеренных бактериофагов, онкогенных вирусов и некоторых инфекционных вирусов. Вирусы размножаются только в живых вегетативных клетках путем отдельного синтеза оболочки и НК в клетке хозяина с последующей сборкой вирионов. Эффективность репродукции зависит от состояния клетки: в частности, она практически невозможна в покоящейся клетке, лишь ее переход в фазу деления активирует экспрессию (выделение) вирусных геномов. Выделение возбудителя в зараженной культуре клеток — один из основных методов диагностики вирусных инфекций. Большинство патогенных вирусов отмечает наличие тканевой и типовой специфичности (тропизм или деятельность). Полиомиелит можно выращивать только в клетках примата. Размножение вируса обеспечивают чувствительные клетки.

Генетика вирусов и ее значение для современной медицины.

Генетический аппарат вирусов представлен одной из 4 молекул НК: одно- и двунитчатой РНК, одно- и двунитчатой ДНК. Большинство вирусов имеет один цельный или фрагментарный геном линейной или замкнутой формы. Ретровирусы имеют два идентичных по составу генома. Геном содержит от 3 до 150 генов. Кроме того, в нем имеются последовательности, не несущие генетической информации. Гены разделяются на структурные, кодирующие синтез белков, которые входят в состав вириона, и функциональные (регуляторные), меняющие метаболизм клетки-хозяина и регулирующие скорость репродукции вируса. Однунитчатые геномы имеют две полярности: позитивную, когда НК одновременно служит и матрицей для синтеза новых геномов и и-РНК, и негативную, выполняющую только функцию матрицы.