

ЛЕКЦИЯ №9

Тема: Основы медицинской вирусологии. Классификация и структура, культивирование и репродукция вирусов.

Вирусы - микроорганизмы, составляющие царство Vira.

Отличительные признаки:

- содержат лишь один тип нуклеиновой кислоты (рнк или днк);
- не имеют собственных белоксинтезирующих и энергетических систем;
- не имеют клеточной организации;
- обладают дизъюнктивным (разобщенным) способом репродукции (синтез белков и нуклеиновых кислот происходит в разных местах и в разное время);
- облигатный паразитизм вирусов реализуется на генетическом уровне;

Вирусы проходят через бактериальные фильтры.

Вирусы могут существовать в двух формах: внеклеточной(вириона) и внутриклеточной (вируса).

По форме вирионы могут быть:

- округлыми;
- палочковидными;
- в виде правильных многоугольников;
- нитевидными и др.

Размеры их колеблются от 15 – 18 до 300 – 400 нм.

В центре вириона – вирусная нуклеиновая кислота, покрытая белковой оболочкой – капсидом, который имеет строго упорядоченную структуру. Капсидная оболочка построена из капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсидная оболочка составляют нуклеокапсид.

Нуклеокапсид сложноорганизованных вирионов покрыт внешней оболочкой – суперкапсидом, которая может включать в себя множество функционально различных липидных, белковых, углеводных структур.

Строение ДНК- и РНК-вирусов принципиально не отличается от НК других микроорганизмов. У некоторых вирусов в ДНК встречается урацил.

ДНК может быть:

- двухцепочечной;
- одноцепочечной;
- кольцевой;
- двухцепочечной, но с одной более короткой цепью;
- двухцепочечной, но с одной непрерывной, а с другой фрагментированной цепями.

РНК может быть:

- одонитевой;
- линейной двухнитевой;
- линейной фрагментированной;
- кольцевой;
- содержащей две одинаковые одонитевые РНК.

Вирусные белки подразделяют на:

Геномные – нуклеопротеиды. Обеспечивают репликацию вирусных нуклеиновых кислот и процессы репродукции вирусов. Это ферменты, за счёт которых происходит увеличение количества копий материнской молекулы, или белки, с помощью которых на матрице нуклеиновой кислоты синтезируются молекулы, обеспечивающие реализацию генетической информации;

Белки капсидной оболочки – простые белки, обладающие способностью к самосборке. Они складываются в геометрически правильные структуры, в которых различают несколько типов симметрии: спиральный, кубический (образуют правильные многоугольники, число граней строго постоянно) или смешанный;

Белки суперкапсидной оболочки – это сложные белки, разнообразные по функции. За счёт них происходит взаимодействие вирусов с чувствительной клеткой. Выполняют защитную и рецепторную функции.

Среди белков суперкапсидной оболочки выделяют:

- якорные белки (одним концом они располагаются на поверхности, а другим уходят в глубину; обеспечивают контакт вириона с клеткой);
- ферменты (могут разрушать мембраны);
- гемагглютинины (вызывают гемагглютинацию);
- элементы клетки хозяина.

Взаимодействие идёт в единой биологической системе на генетическом уровне.

Существует четыре типа взаимодействия:

- *Продуктивная* вирусная инфекция (взаимодействие, в результате которого происходит репродукция вируса, а клетки погибают);
- *Абортивная* вирусная инфекция (взаимодействие, при котором репродукции вируса не происходит, а клетка восстанавливает нарушенную функцию);
- *Латентная* вирусная инфекция (идёт репродукция вируса, а клетка сохраняет свою функциональную активность);
- *Вирус-индуцированная трансформация* (взаимодействие, при котором клетка, инфицированная вирусом, приобретает новые, ранее не присущие ей свойства);

После адсорбции вирионы проникают внутрь путем эндоцитоза (виropексиса) или в результате слияния вирусной и клеточной мембран. Образующиеся вакуоли, содержащие целые вирионы или их внутренние компоненты, попадают в лизосомы, в которых осуществляется депротеинизация, т.е «раздевание» вируса, в результате чего вирусные белки разрушаются. Освобожденные от белков нуклеиновые кислоты вирусов проникают по клеточным каналам в ядро клетки или остаются в цитоплазме.

Нуклеиновые кислоты вирусов реализуют генетическую программу по созданию вирусного потомства и определяют наследственные свойства вирусов. С помощью специальных ферментов (полимераз) снимаются копии с родительской нуклеиновой кислоты (происходит репликация), а также

синтезируются информационные РНК, которые соединяются с рибосомами и осуществляют синтез дочерних вирусных белков (трансляцию).

После того как в зараженной клетке накопится достаточное количество компонентов вируса, начинается сборка вирионов потомства. Процесс этот происходит обычно вблизи клеточных мембран, которые иногда принимают в нём непосредственное участие. В составе вновь образованных вирионов часто обнаруживаются вещества, характерные для клетки, в которой размножается вирус. В таких случаях заключительный этап формирования вирионов представляет собой обволакивание их слоём клеточной мембраны.

Последним этапом взаимодействия вирусов с клетками является выход или освобождение из клетки дочерних вирусных частиц. Простые вирусы, лишенные суперкапсида, вызывают деструкцию клетки и попадают в межклеточное пространство. Другие вирусы, имеющие липопротеидную оболочку, выходят из клетки путем почкования. В отдельных случаях вирусы накапливаются в цитоплазме или ядре зараженных клеток, образуя кристаллоподобные скопления – тельца включений.

Культивирование вирусов

Основные методы культивирования вирусов:

- *Биологический* – заражение лабораторных животных.

При заражении вирусом животное заболевает. Если болезнь не развивается, то патологические изменения можно обнаружить при вскрытии. У животных наблюдаются иммунологические сдвиги. Однако далеко не все вирусы можно культивировать в организме животных.

- *Культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах*. Куриные эмбрионы выращивают в инкубаторе 7-10 дней, а затем используют для культивирования. В этой модели все типы зачатков тканей подвержены заражению.

Но не все вирусы могут размножаться и развиваться в куриных эмбрионах.

В результате заражения могут происходить и появляться:

- гибель эмбриона;
- дефекты развития: на поверхности оболочек появляются образования – бляшки, представляющие собой скопления погибших клеток, содержащих вирионы;
- накопление вирусов в аллантоисной жидкости (обнаруживают путём титрования);
- *Размножение в культуре ткани* (это основной метод культивирования вирусов).

Различают следующие типы культур тканей:

- *перевиваемые* – культуры опухолевых клеток; обладают большой митотической активностью;
- *первично трипсинизированные* – подвергшиеся первичной обработке трипсином; эта обработка нарушает межклеточные связи, в результате чего выделяются отдельные клетки. Источником являются любые органы и ткани, чаще всего – эмбриональные (обладают высокой митотической активностью).

Для поддержания клеток культуры ткани судят по их цитоплазматическому действию, которое носит разный характер в зависимости от вида вируса.

Основное проявление цитопатического действия вирусов:

- размножение вируса может сопровождаться гибелью клеток или морфологическими изменениями в них;
- некоторые вирусы вызывают слияние клеток и образование многоядерного синцития;
- клетки могут расти, не делиться, в результате чего образуются гигантские клетки;
- в клетках появляются включения (ядерные, цитоплазматические, смешанные). включения могут окрашиваться в розовый цвет (эозинофильные включения) или в голубой (базофильные включения);
- если в культуре ткани размножаются вирусы, имеющие гемагглютинины, то в процессе размножения клетка приобретает способность абсорбировать эритроциты (гемадсорбция).

Особенности противовирусного иммунитета

Противовирусный иммунитет начинается со стадии презентации вирусного антигена Т-хелперами.

Сильными антигенпрезентирующими свойствами при вирусных инфекциях обладают дендритные клетки, а при простом герпесе и ретровирусных инфекциях – клетки Лангерганса.

Иммунитет направлен на нейтрализацию и удаление из организма вируса, его антигенов и зараженных вирусом клеток. Антитела, образующиеся при вирусных инфекциях, действуют непосредственно на вирус или на клетки, инфицированные им. В этой связи выделяют две основные формы участия антител в развитии противовирусного иммунитета:

- Нейтрализацию вируса антителами. Это препятствует рецепции вируса клеткой и проникновению его внутрь.
- Опсонизация вируса с помощью антител способствует его фагоцитозу.

Иммунный лизис инфицированных вирусом клеток с участием антител. При действии антител на поверхности инфицированной клетки, к этому комплексу присоединяется компонент с последующей его активацией, что и обуславливает индукцию комплементзависимой цитотоксичности и гибель инфицированной вирусной клетки.

Недостаточная концентрация антител может усиливать репродукцию вируса. Иногда антитела могут защищать вирус от действия протеолитических ферментов клетки, что при сохранении жизнеспособности вируса приводит к усилению его репликации.

Вируснейтрализующие антитела действуют непосредственно на вирус лишь в том случае, когда он, разрушив одну клетку, распространяется на другую.

Когда вирусы переходят из клетки в клетку по цитоплазматическим мостикам, не контактируя с циркулирующими антителами то основную роль в становлении иммунитета играют клеточные механизмы, связанные прежде всего с действием специфических, цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-эффекторов и макрофагов. Цитотоксические Т-лимфоциты непосредственно контактируют с клеткой-мишенью, повышая её проницаемость и вызывая осмотическое набухание, разрыв мембраны и выход содержимого в окружающую среду.

Механизм цитотоксического эффекта связан с активацией мембранных ферментных систем в зоне прилипания клеток, образованием цитоплазматических мостиков между клетками и действием лимфотоксина. Специфические Т-киллеры появляются уже через 1-3 дня после заражения организма вирусом, их активность достигает максимума через неделю, а затем медленно понижается.

Одним из факторов противовирусного иммунитета является интерферон. Он образуется в местах размножения вируса и вызывает специфическое торможение транскрипции вирусного генома и подавление трансляции вирусной РНК, что препятствует накоплению вируса в клетке-мишени.

Стойкость противовирусного иммунитета вариабельна. При ряде инфекций (ветряной оспе, паротите, кори, краснухе) иммунитет достаточно стойкий, а повторные заболевания встречаются крайне редко. Менее стойкий иммунитет развивается при инфекциях дыхательных путей (гриппе) и кишечного тракта.

Бактериофаги

Бактериофаги (фаги) – это вирусы, поражающие клетки бактерий. Они не имеют клеточной структуры, неспособны сами синтезировать нуклеиновые кислоты и белки, поэтому являются облигатными внутриклеточными паразитами.

Вирионы фагов состоят из головки, содержащей нуклеиновую кислоту вируса, и отростка.

Нуклеокаспид головки фага имеет кубический тип симметрии, а отросток – спиральный тип, т.е. бактериофаги, имеют смешанный тип симметрии.

Фаги, как и другие вирусы, обладают антигенными свойствами и содержат группоспецифические и типоспецифические антигены.

Различают два типа взаимодействия фага с клеткой:

1) *Литический* (продуктивная вирусная инфекция). Это тип взаимодействия, при котором происходит репродукция вируса в бактериальной клетке. Она при этом погибает. Вначале происходит адсорбция фагов на клеточной стенке. Затем следует фаза проникновения. В месте адсорбции фага действует лизоцим, и за счёт сократительных белков хвостатой части в клетку впрыскивается нуклеиновая кислота фага. Далее следует средний период, в течении которого подавляется синтез клеточных компонентов и осуществляется дисконъюнктивный способ репродукции фага. При этом в области нуклеотида синтезируется нуклеиновая кислота фага, а затем на рибосомах осуществляется синтез белка. Фаги, обладающие литическим типом воздействия, называют вирулентными.

В заключительный период в результате самосборки белки укладываются вокруг нуклеиновой кислоты и образуются новые частицы фагов. Они выходят из клетки, разрывая её клеточную стенку, т.е. происходит лизис бактерии;

2) *Лизогенный*. Это умеренные фаги. При проникновении нуклеиновой кислоты в клетку идёт интеграция её в геном клетки, наблюдается длительное сожительство фага с клеткой без её гибели. При изменении внешних условий могут происходить выход фага из интегрированной формы и развитие продуктивной вирусной инфекции. Клетки, содержащая профаг в геноме, называется лизогенной и отличается от исходной наличием дополнительной

генетической информации за счёт генов профага. Это явление лизогенной конверсии.

По признаку специфичности выделяют:

- 1) Поливалентные фаги (лизируют культурного одного семейства или рода бактерий);
- 2) Моновалентные (лизируют культуры только одного вида бактерий);
- 3) Типовые (способны вызывать лизис только определенных типов (вариантов) бактериальной культуры внутри вида бактерий)

Фаги могут применяться в качестве диагностических препаратов для установления рода и вида бактерий, выделенных в ходе бактериологического исследования. Однако чаще их применяют для лечения и профилактики некоторых инфекционных заболеваний.