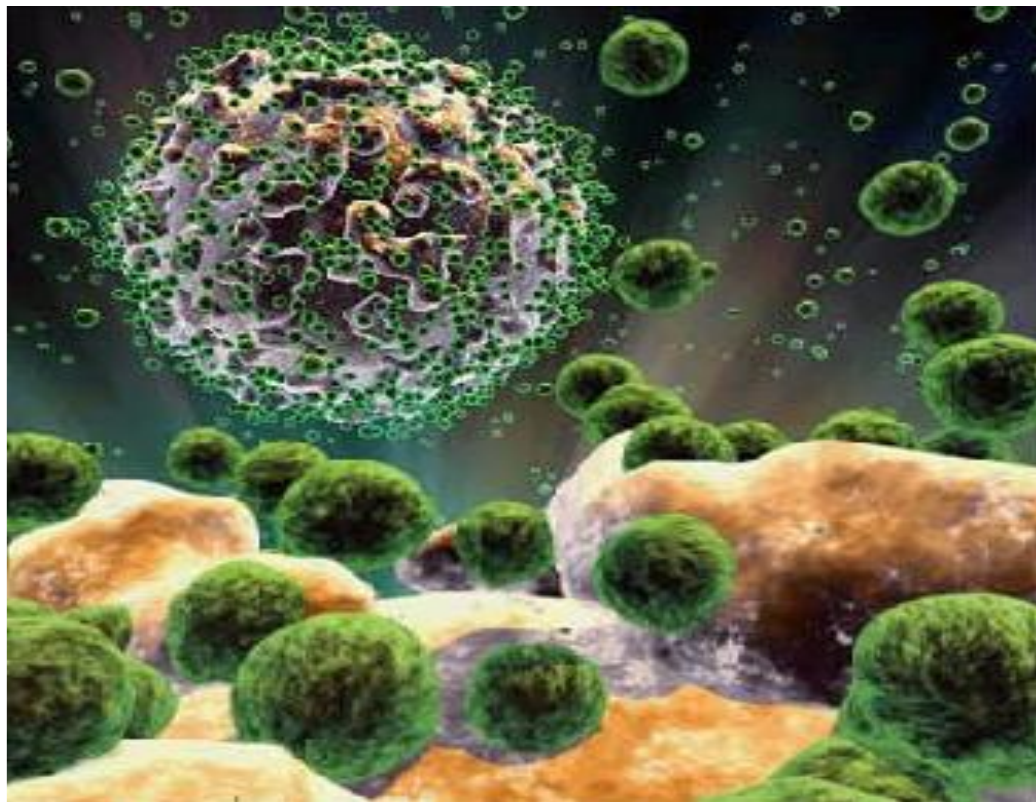


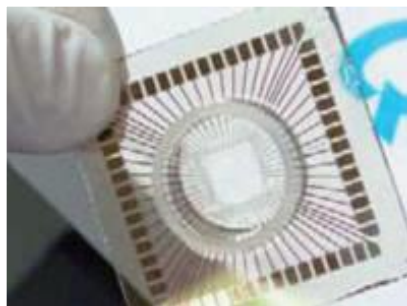
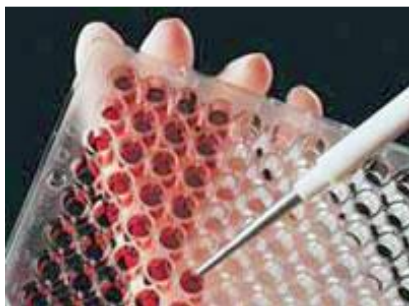
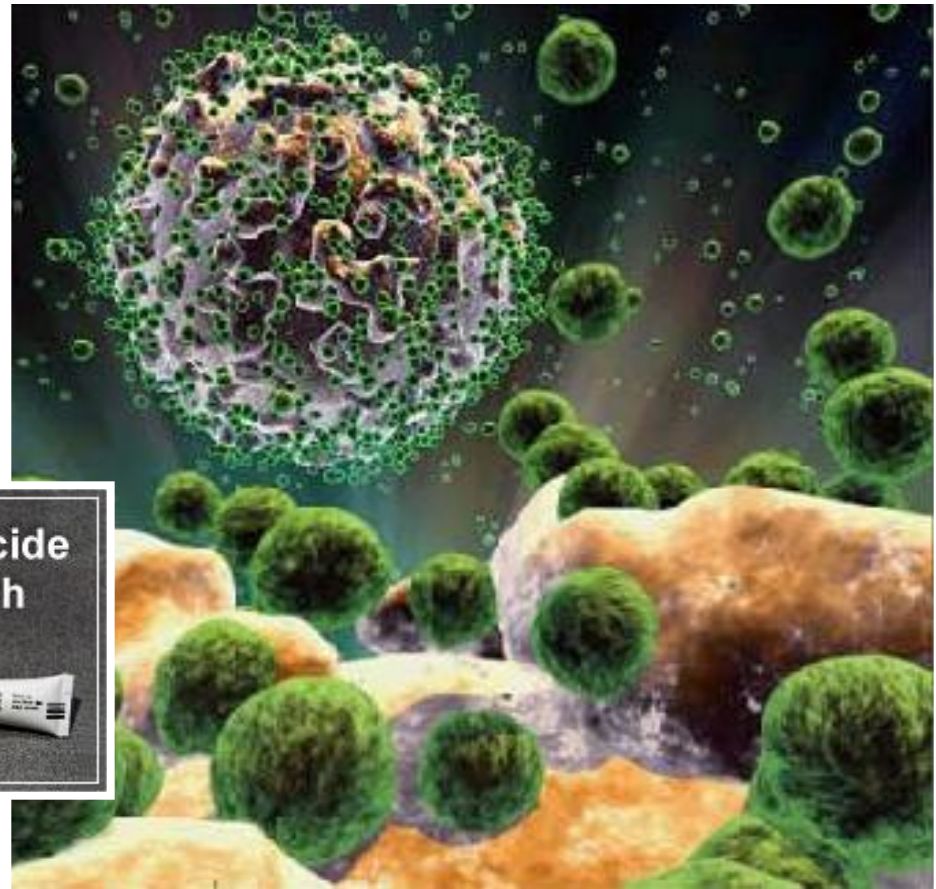
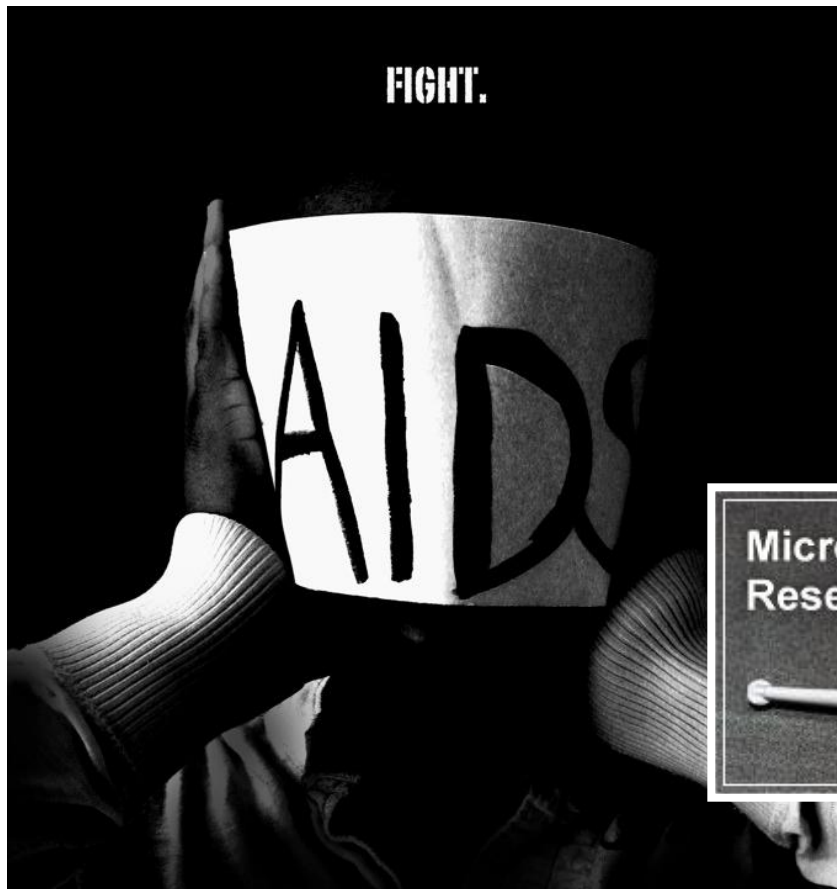
ВИЧ-инфекция и СПИД



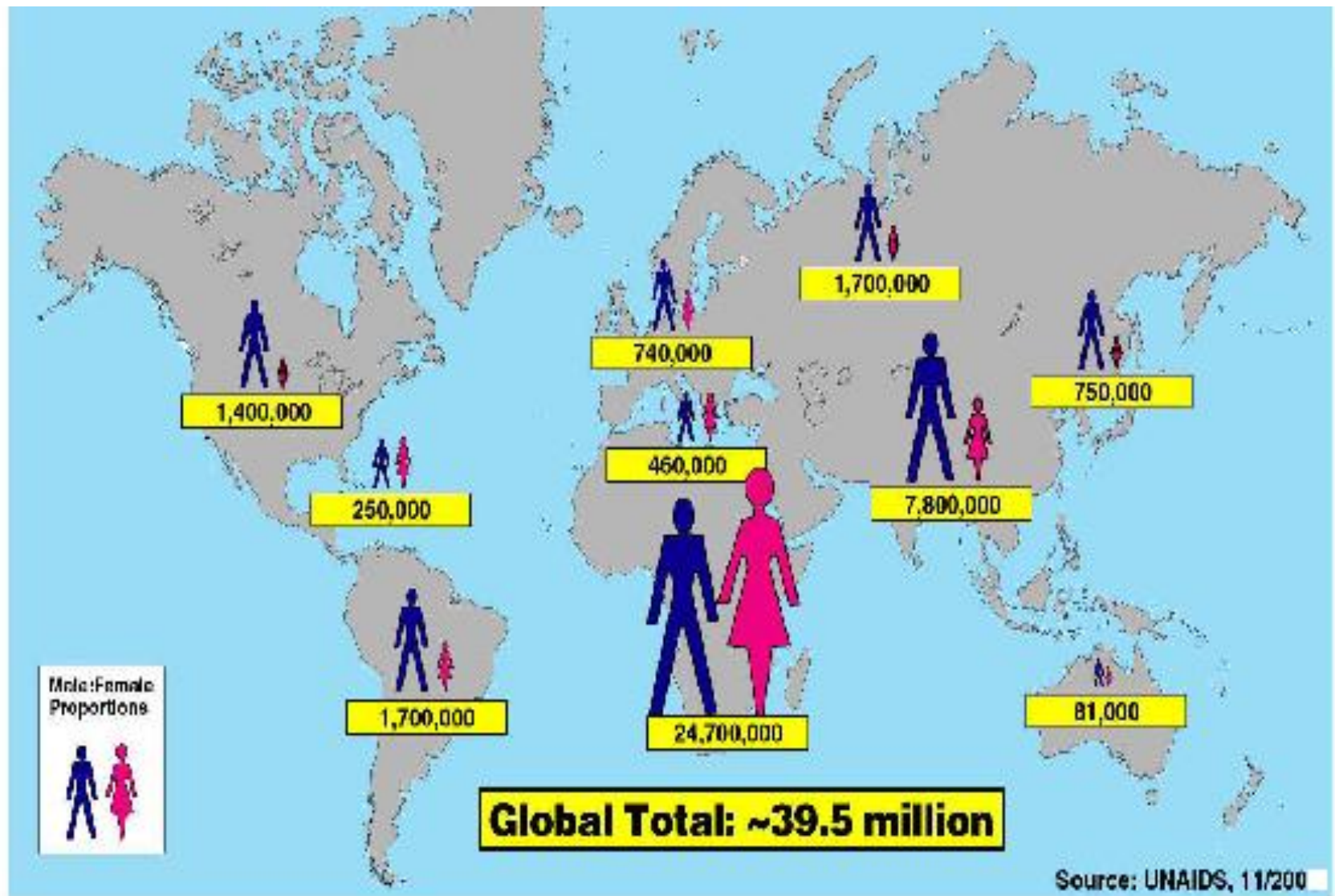
Черешнев Валерий Александрович
МГУ

Биологический факультет
межфакультетский курс
кафедра иммунологии

По данным ООН – число инфицированных ВИЧ составляет 35-40 млн. чел.



Мировая пандемия ВИЧ/СПИД



История ВИЧ-инфекции

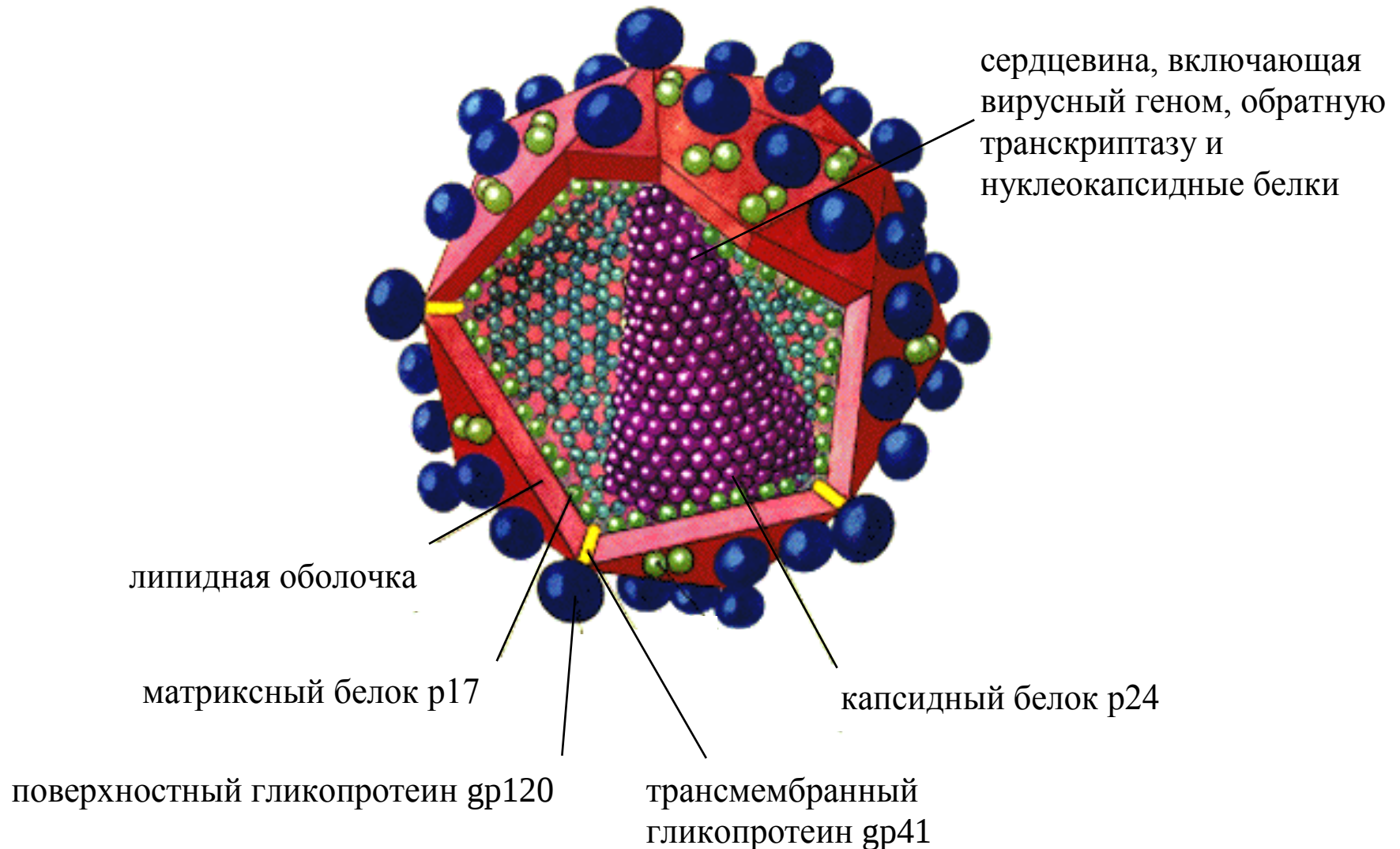
- 1978 год – первое обнаружение симптомов СПИДа.
- 1983 год – открытие вируса иммунодефицита человека.
- 1987 год – зарегистрирован первый случай ВИЧ инфекции в России.
- 1991 год – от СПИДа умер Фрэдди Мёркьюри, лидер группы Квин.



История ВИЧ-инфекции

- 1995 год – в России зарегистрировано 1200 человек с ВИЧ инфекцией.
- 1996 год – ВИЧ попадает в среду наркоманов, число больных стремительно растет (за год в 6 раз)
- 2001 год – в России объявлено начало эпидемии, зарегистрировано более 150000 случаев ВИЧ инфекции.
- 2009 год – в России ежедневно заражаются ВИЧ инфекцией более 100 человек.

Вирус иммунодефицита человека



Нобелевская премия 2008 года



Люк Антуан Монтанье
(*Luc Antoine Montagnier*)



Франсуаза Барре-Синусси
(*Françoise Barré-Sinoussi*)



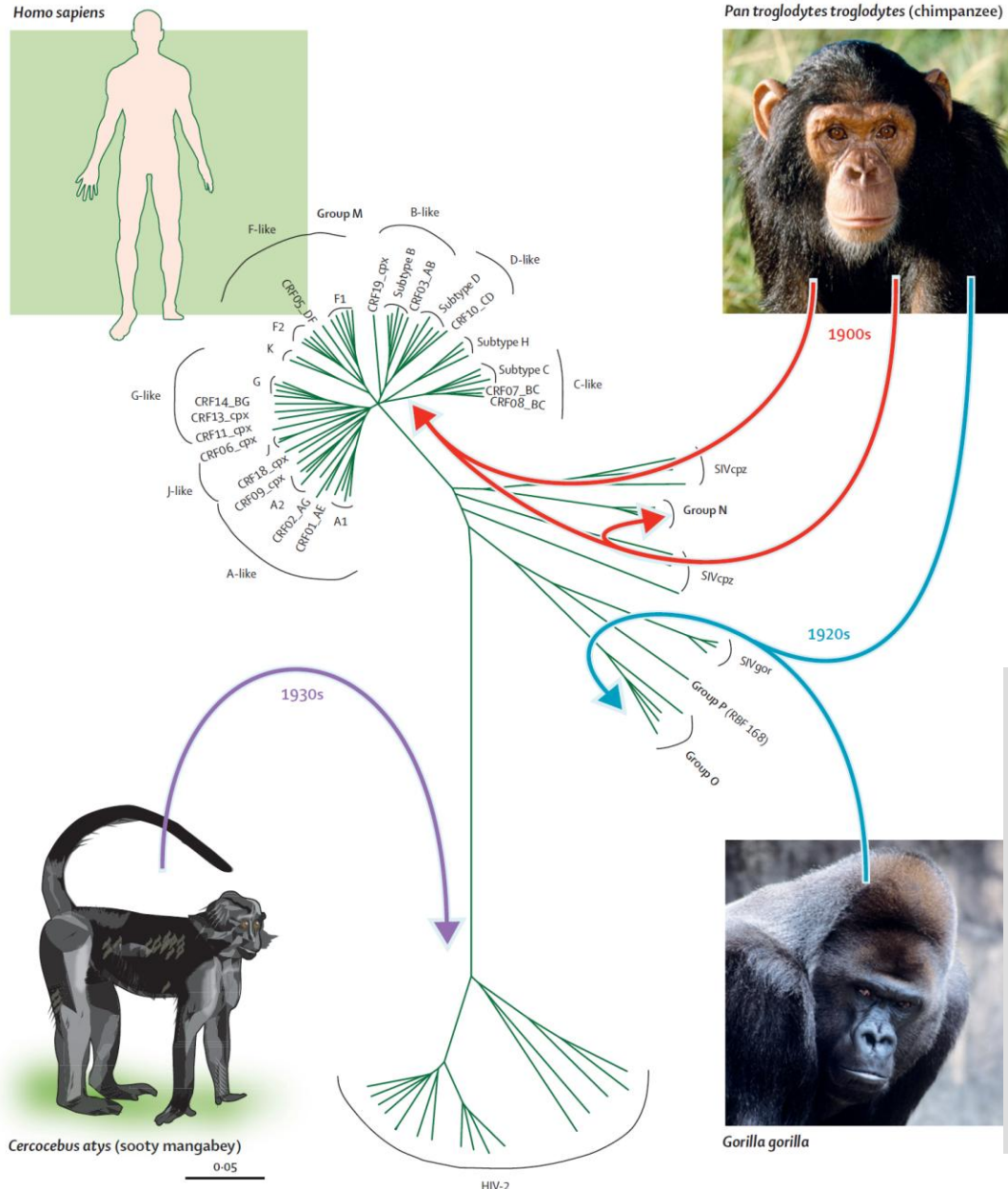
Роберт Галло
(Robert Charles Gallo)

Гипотезы возникновения ВИЧ



На сегодняшний
момент основная
гипотеза
возникновения
ВИЧ-инфекции —
это передача вируса
человеку от
приматов.

Разнообразие и взаимосвязь вирусов иммунодефицита человека и обезьян

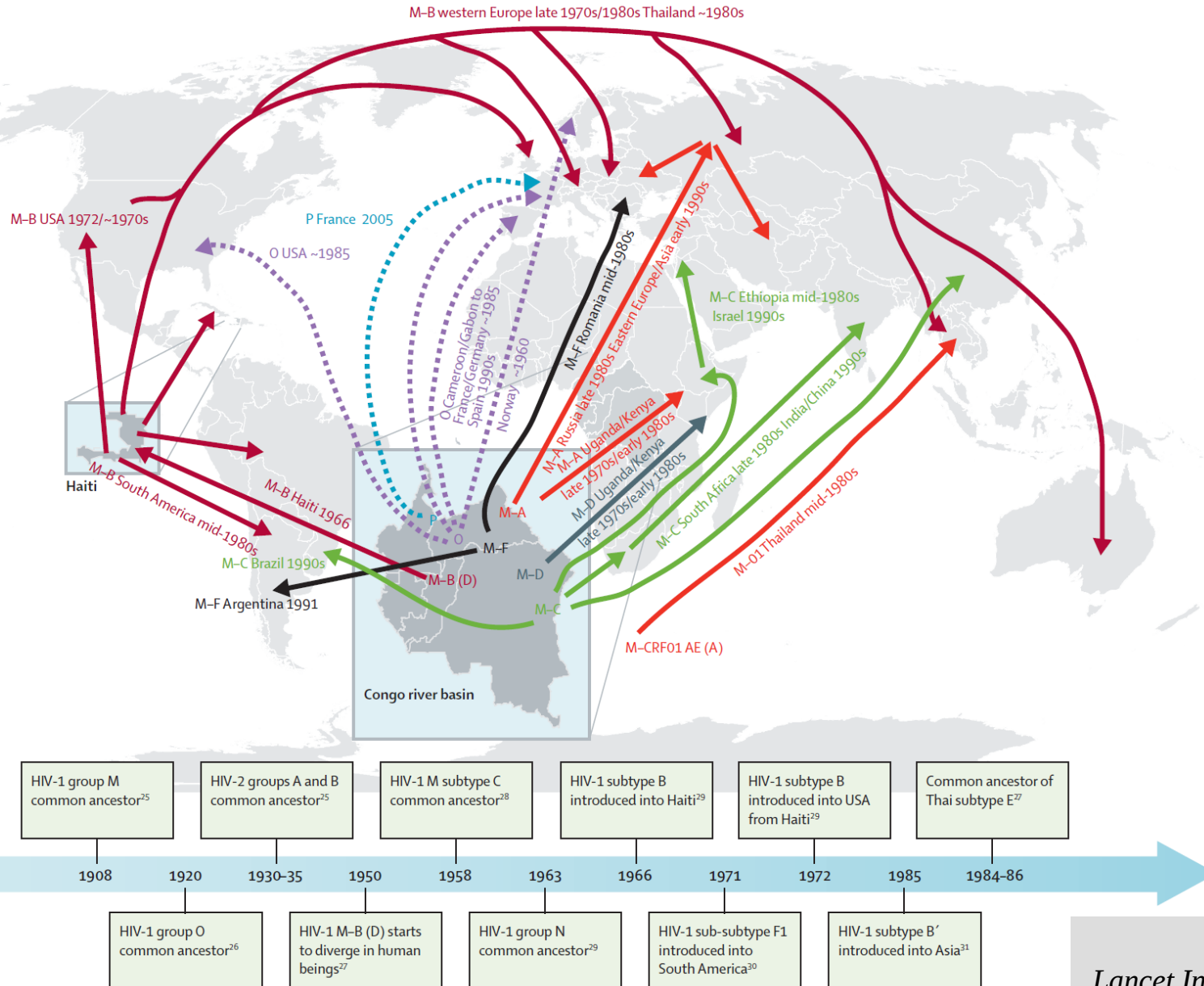


Tebit DM, Arts EJ. *Lancet Infect Dis.* 2011, 11:45-56

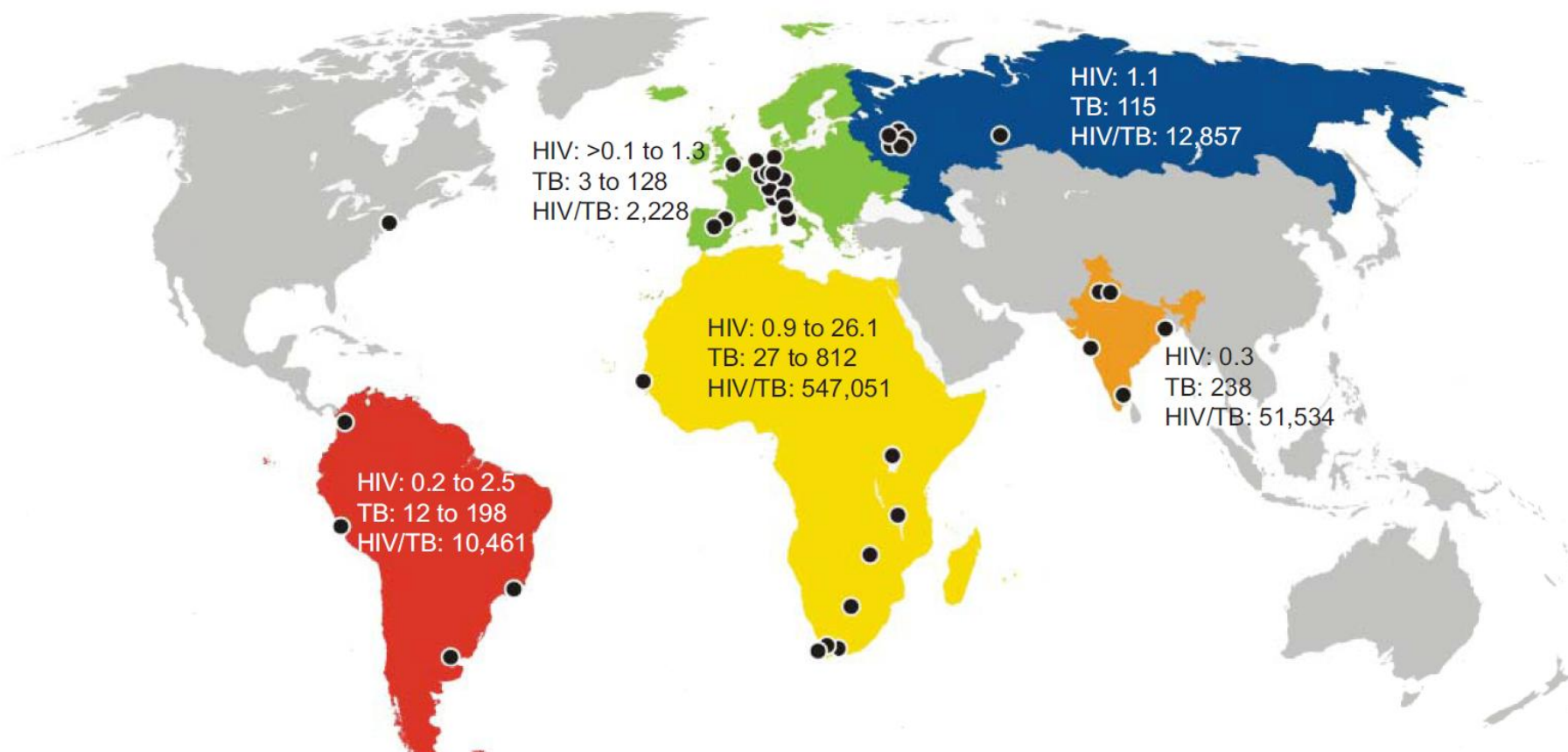
Черешнев В.А., Верзилин Д.Н., Гаврилова Т.В., Максимов А.Г., Максимова Т.Г., Черешнева М.В. Проблемы и направления комплексной оценки эпидемии ВИЧ/СПИД в Российской Федерации // Вестн. Уральской медицинской академической науки, 2011, №2 - С 19-23.

Эволюция и распространение семейства ВИЧ:

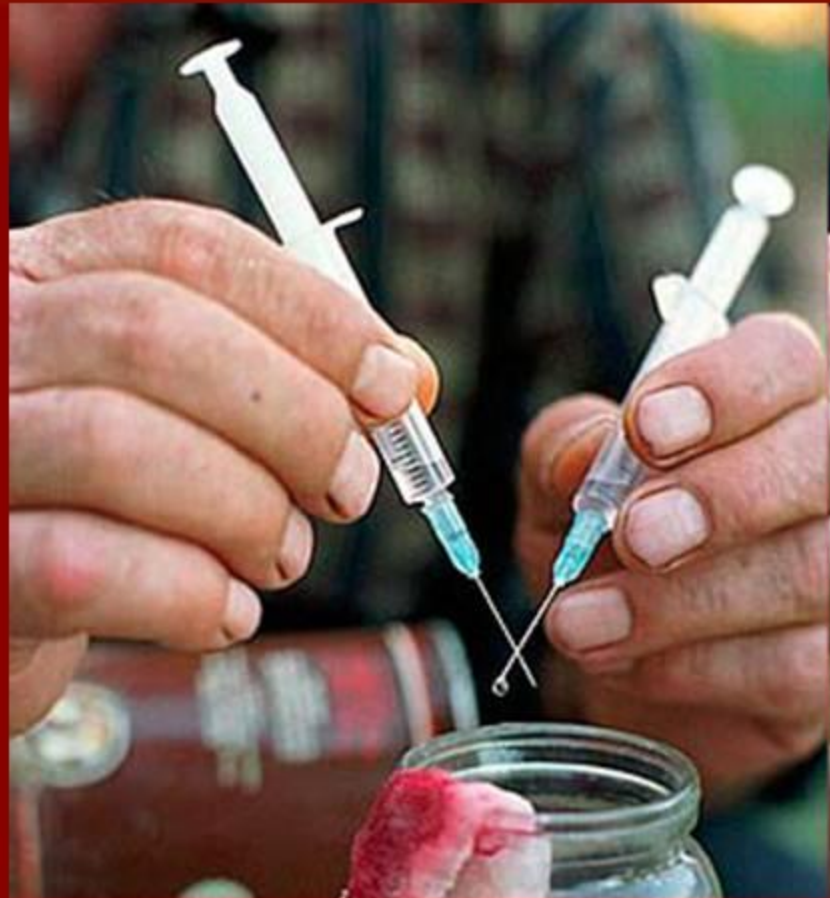
ТИПЫ И ПОДТИПЫ



Партнеры Европейской программы глобального сотрудничества ВИЧ/ТБ



Как передаётся ВИЧ-инфекция?





Пути инфицирования

- ✦ *Половым путем*
- ✦ *При совместном использовании медицинского инструментария (шприцов, игл) лицами, потребляющими наркотики внутривенно.*
- ✦ *От ВИЧ-инфицированной женщины к ее ребенку во время беременности, при рождении или во время грудного вскармливания.*
- ✦ *При пересадке органов и тканей*
- ✦ *Использование донорской спермы и крови*

**ВИЧ-инфекция
в 51% случаев
передаётся
половым путём!!!**

При внутривенном введении наркотиков



**Наркоманы часто
пользуются общими
шприцами, поэтому
риск заражения
очень высокий**

**Первая доза может
стать последней**

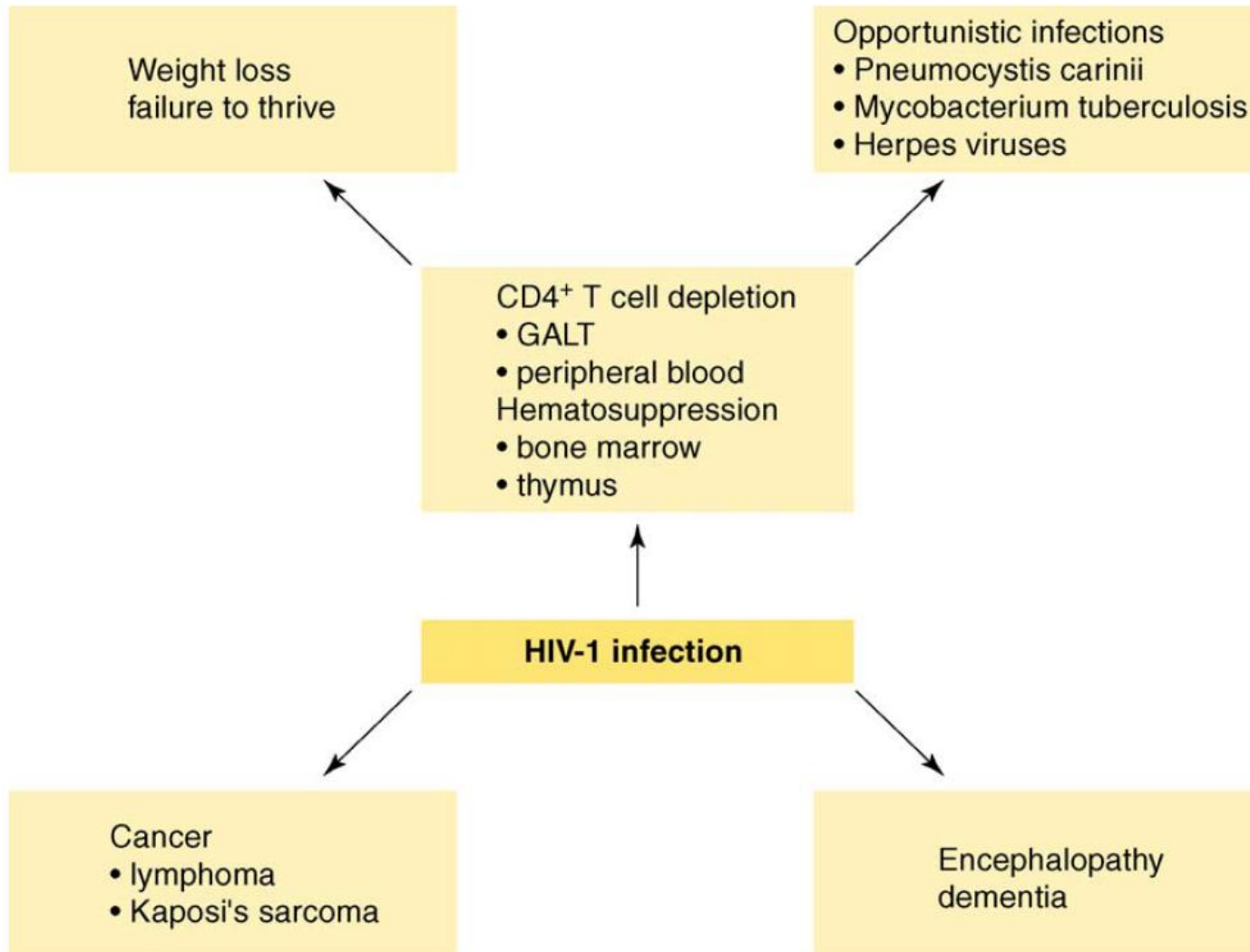
Нахождение вируса в биологических жидкостях человека

Высокая степень риска (большая концентрация вируса)	Низкая степень риска (минимальная концентрация вируса)
■ кровь, плазма, сыворотка ■ семенная жидкость ■ вагинальный секрет ■ любая биологическая жидкость, в которой видна кровь	■ слюна ■ слезы ■ моча ■ потовая жидкость ■ фекалии

ВИЧ инфекция не передается

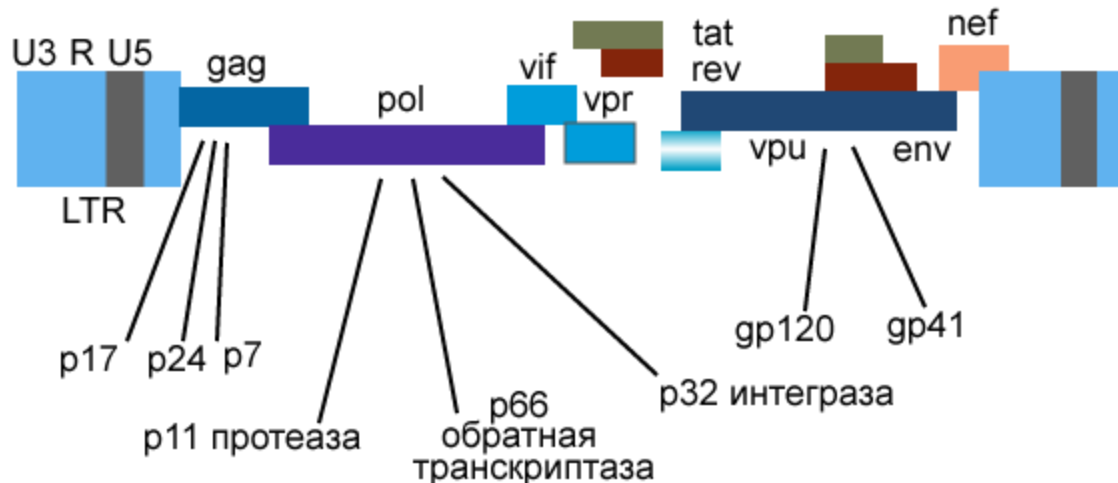
- ✦ При поцелуях
- ✦ При использовании одной посудой с инфицированным
- ✦ При чихании
- ✦ Через стульчак туалета
- ✦ Через укус насекомого
- ✦ В бассейне

Спектр заболеваний, обусловленных ВИЧ инфекцией



Генетическая организация ВИЧ-1

- Длина генома ~ 10^4 нуклеотидных оснований
- 9 генов ВИЧ-1 кодируют 15 белков

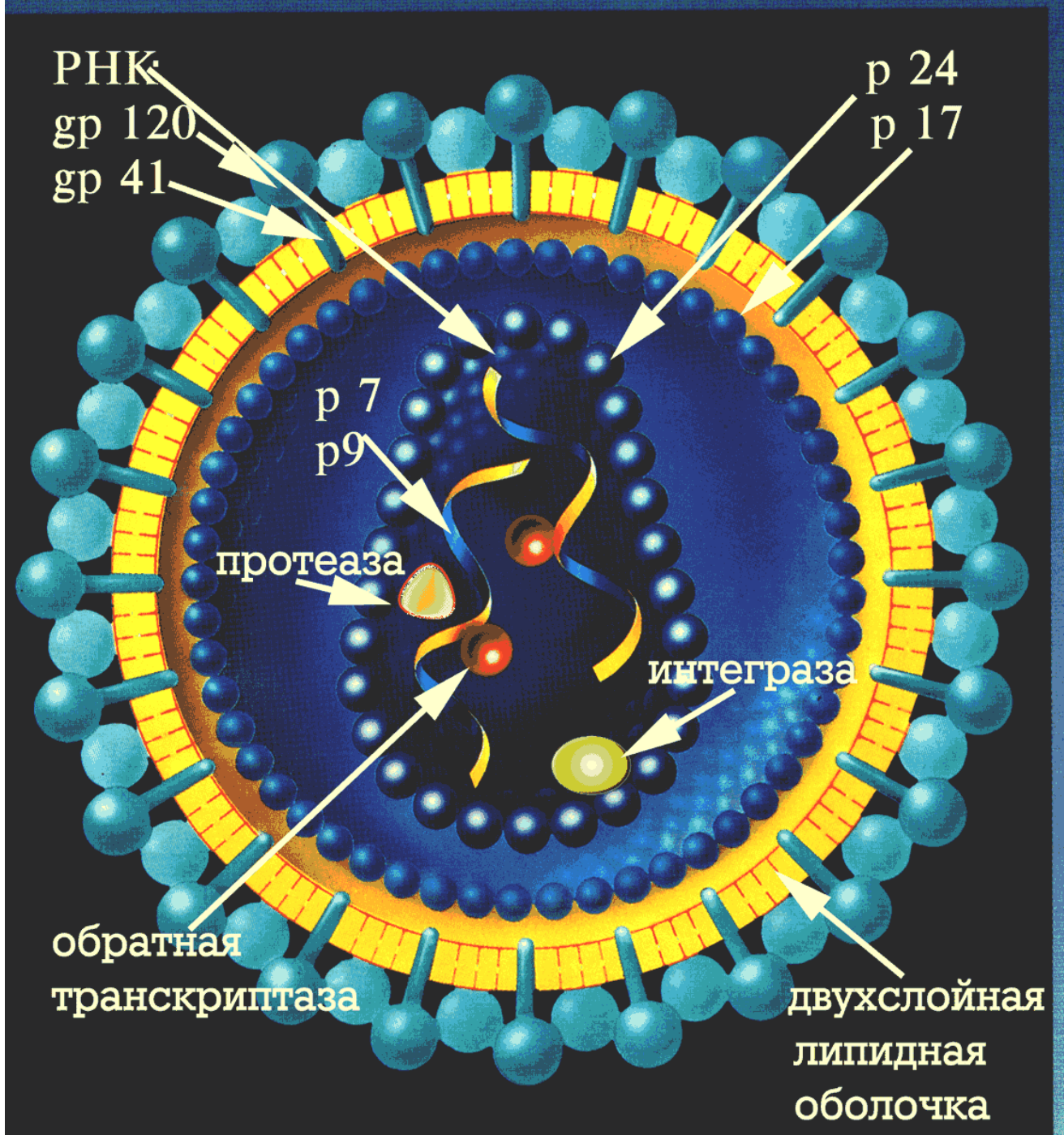


Компоненты ассоциированные с вирионом



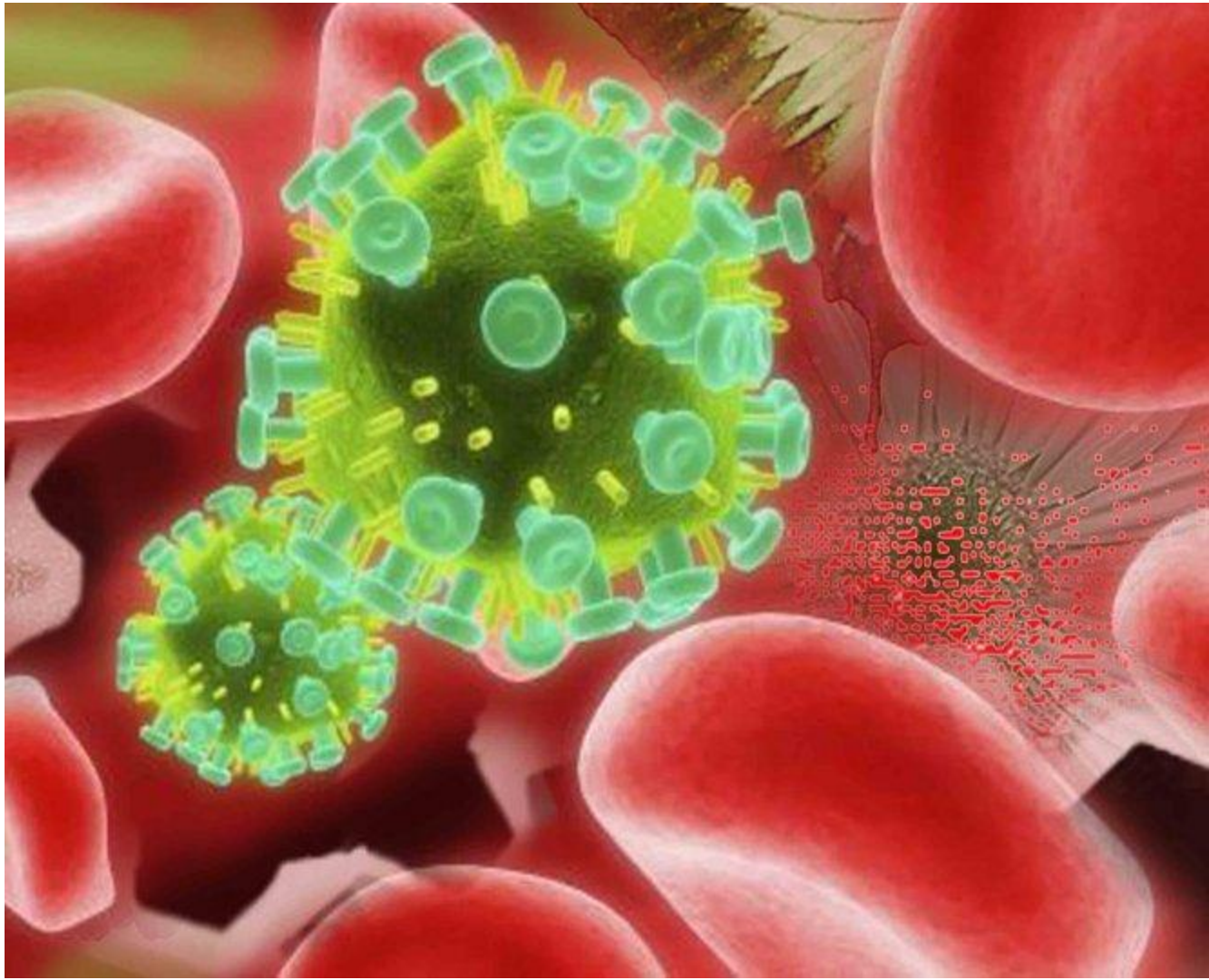
Компоненты
ассоциированные с
клетками

Rev - посттранскрипционный процессинг
Tat - Транскрипционная активация
Vpu - разрушение CD4 клеток, образование вириона



Репликация ВИЧ

- Главная мишень вируса — макрофаги, активированные и покоящиеся CD4+ Т-лимфоциты
- Интенсивность транскрипции и репликации провируса зависит от множества внешних факторов, в том числе цитокинов (например, IL-1, IL-2 и TNF- α)
- Цитокины регулируют интенсивность репликации ВИЧ и переход от латентной инфекции к литической посредством воздействия на общие пути передачи сигнала с участием транскрипционных факторов (NF- κ B и Sp1).



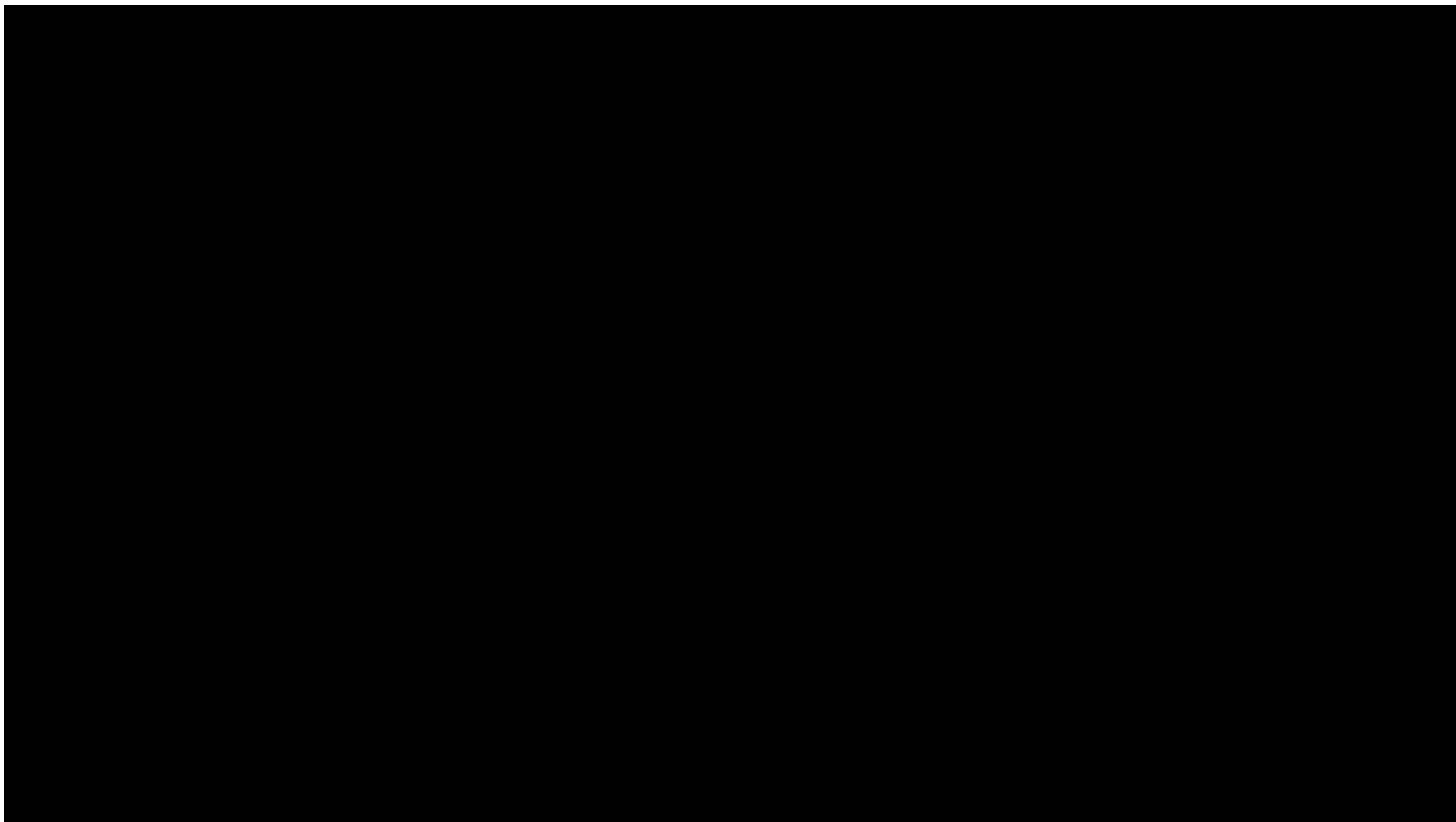
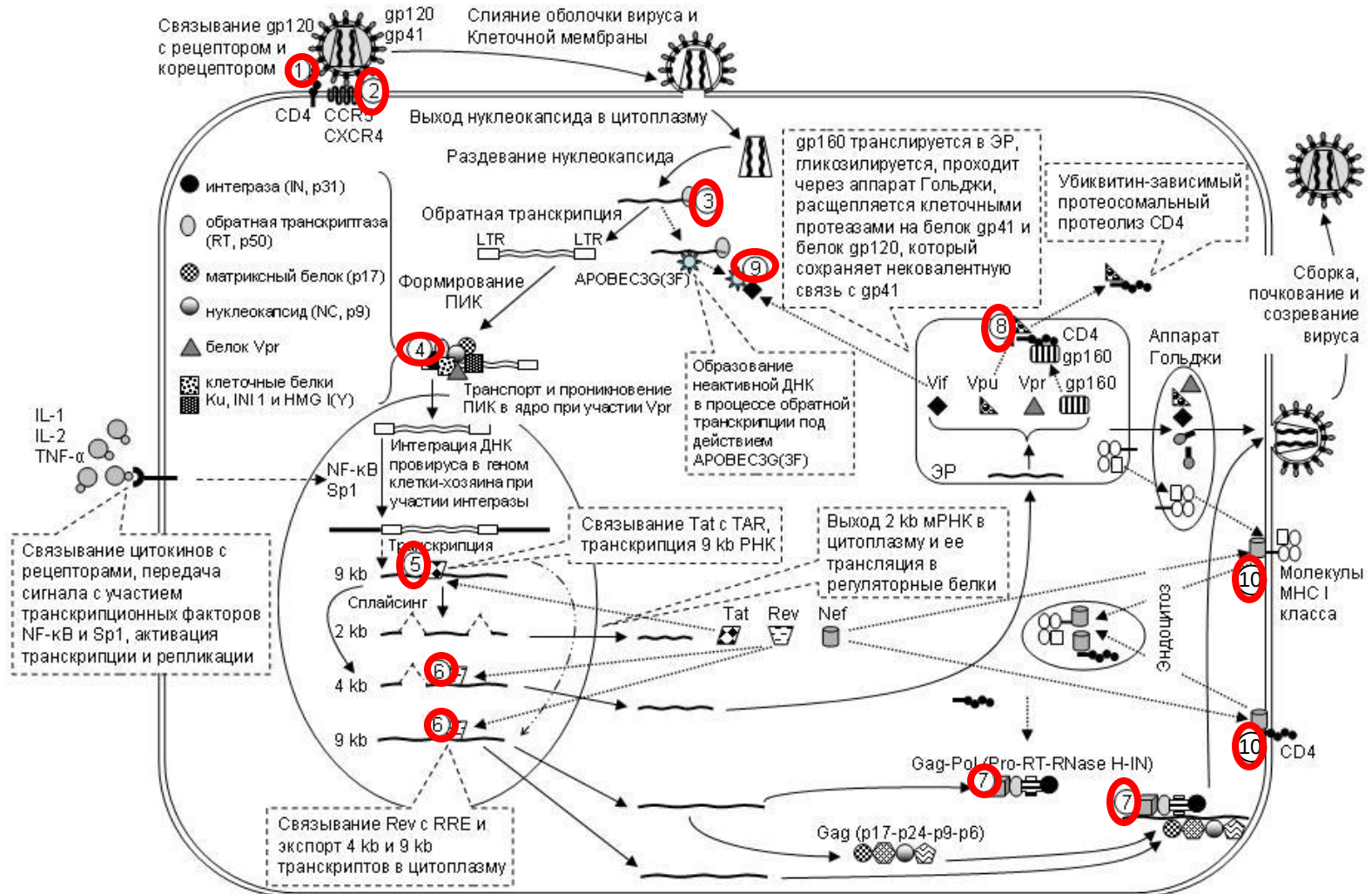
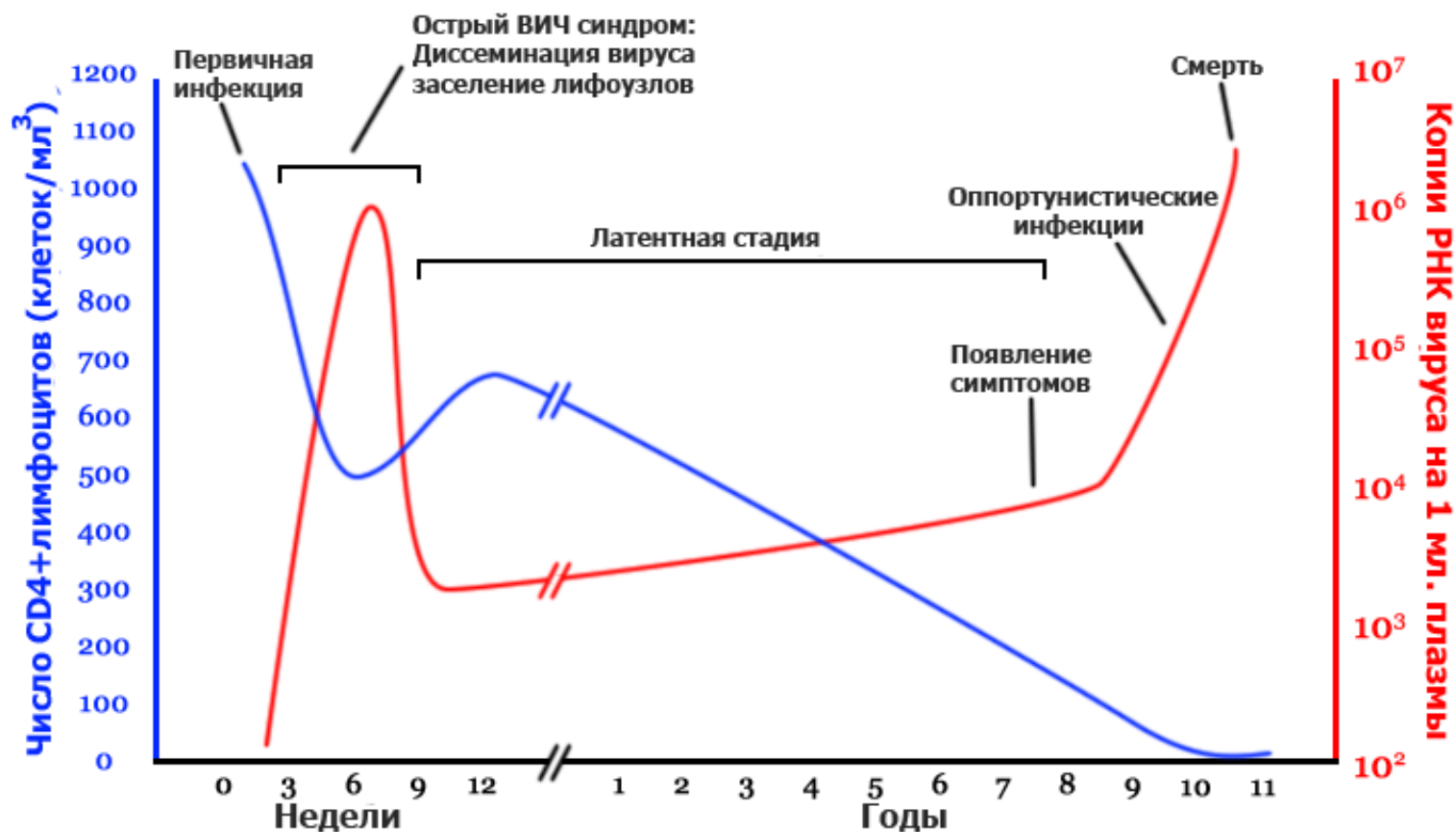


Схема регуляции размножения ВИЧ-1 в чувствительных клетках



Стадии инфекционного процесса



Течение ВИЧ-инфекции

I. Стадия инкубации

С момента заражения до клинических проявлений острой инфекции и/или выработки антител (в среднем от 3 недель до 3 месяцев).

Клинических проявлений болезни нет, антитела к ВИЧ не определяются. Но уже в этот период возможно выявление вируса методом ПЦР.

II. Стадия первичных проявлений

- 2«А» - бессимптомная.
- 2«Б» - острая ВИЧ-инфекция без вторичных заболеваний.
- 2«В» - острая ВИЧ-инфекция с вторичными заболеваниями (на фоне временного снижения иммунитета развиваются вторичные заболевания – ангина, бактериальная пневмония, кандидоз, герпес).

Продолжительность клинических проявлений острой ВИЧ-инфекции обычно составляет 2 - 3 недели.

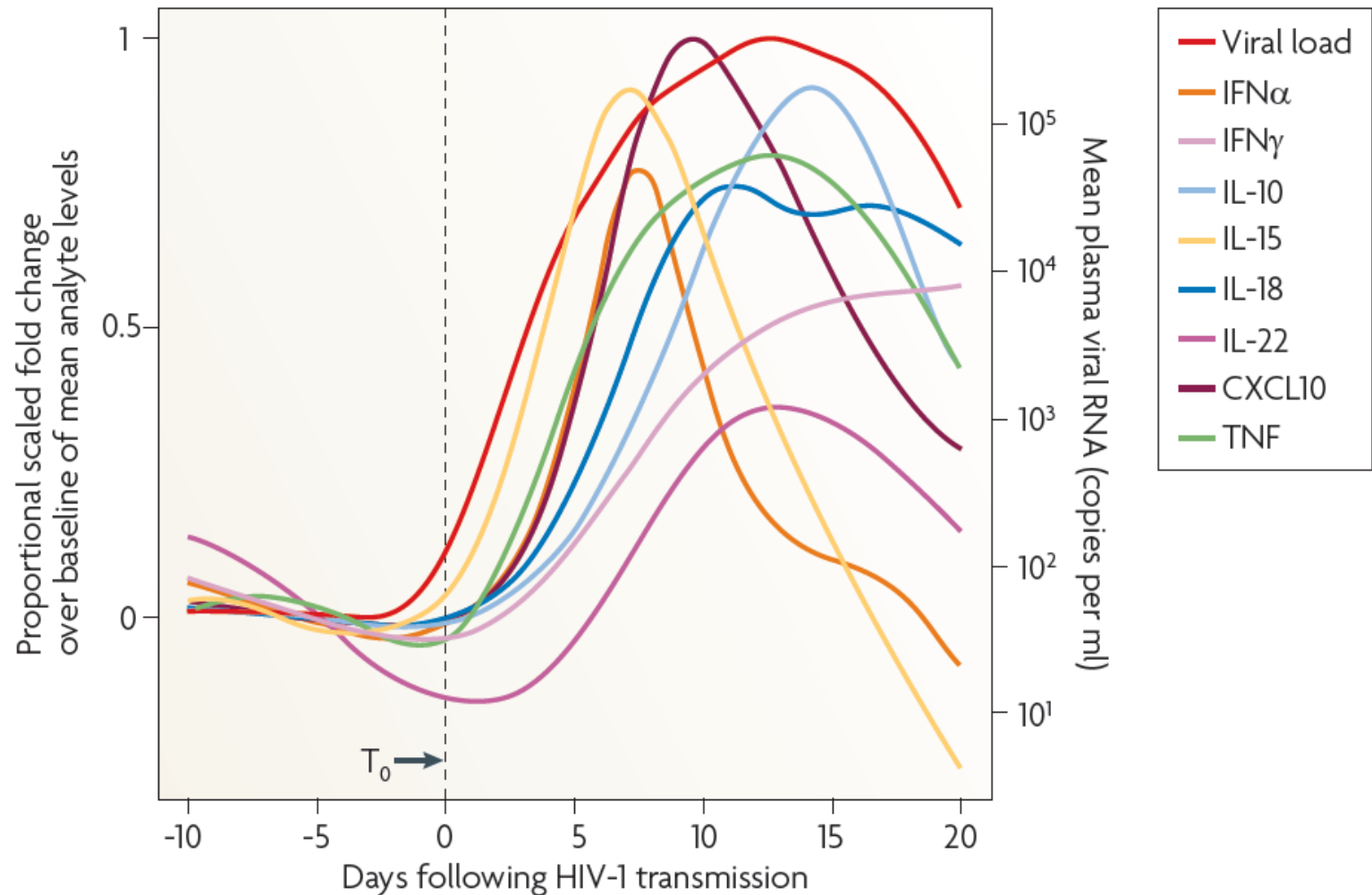
III. Латентная стадия.

- Медленное прогрессирование иммунодефицита. Единственным клиническим проявлением является увеличение лимфоузлов, которое может и отсутствовать.
- Длительность латентной стадии от 2 - 3-х до 20 и более лет, в среднем 6 - 7 лет.

IV. Стадия вторичных заболеваний

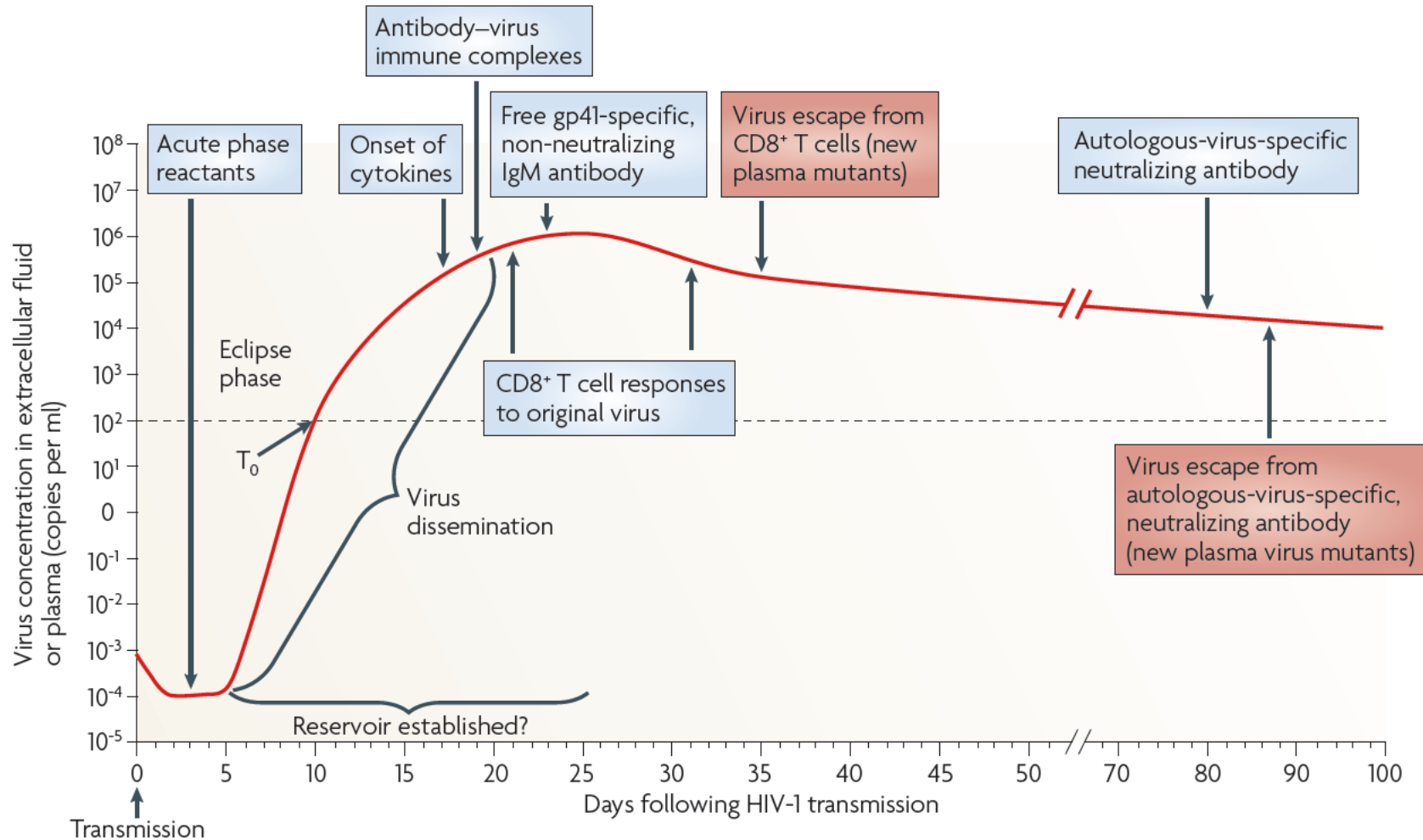
- 4«А» - для нее характерны бактериальные, грибковые и вирусные поражения слизистых и кожных покровов, воспалительные заболевания верхних дыхательных путей.
- 4«Б» - более тяжелые и длительные кожные поражения, саркома Капоши, потеря веса, поражения периферической нервной системы и внутренних органов.
- 4«В» - тяжелые, угрожающие жизни вторичные заболевания.

Цитокиновый шторм при острой фазе инфекции

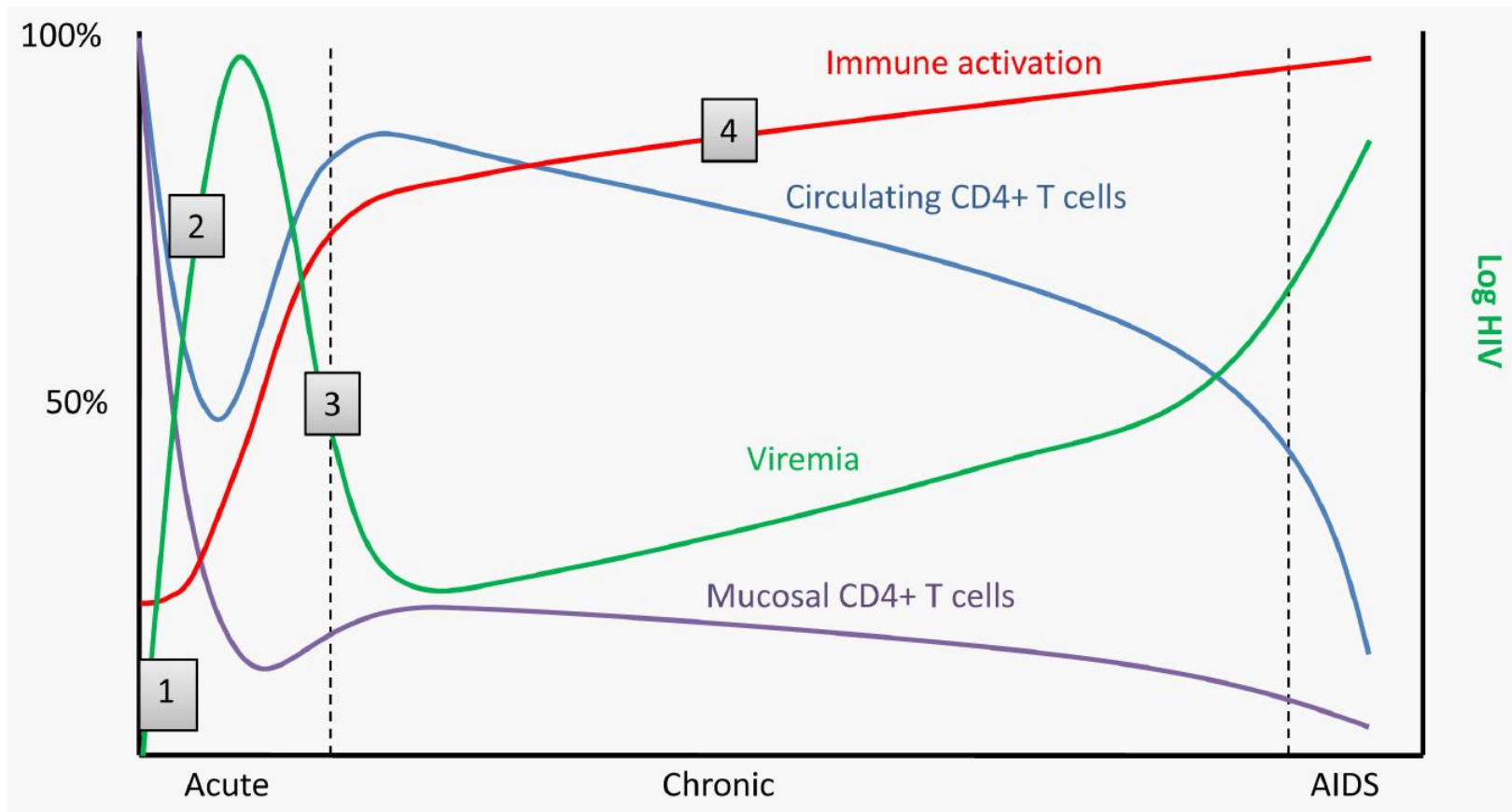


McMichael AJ, et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2010, 10(1):11-23.

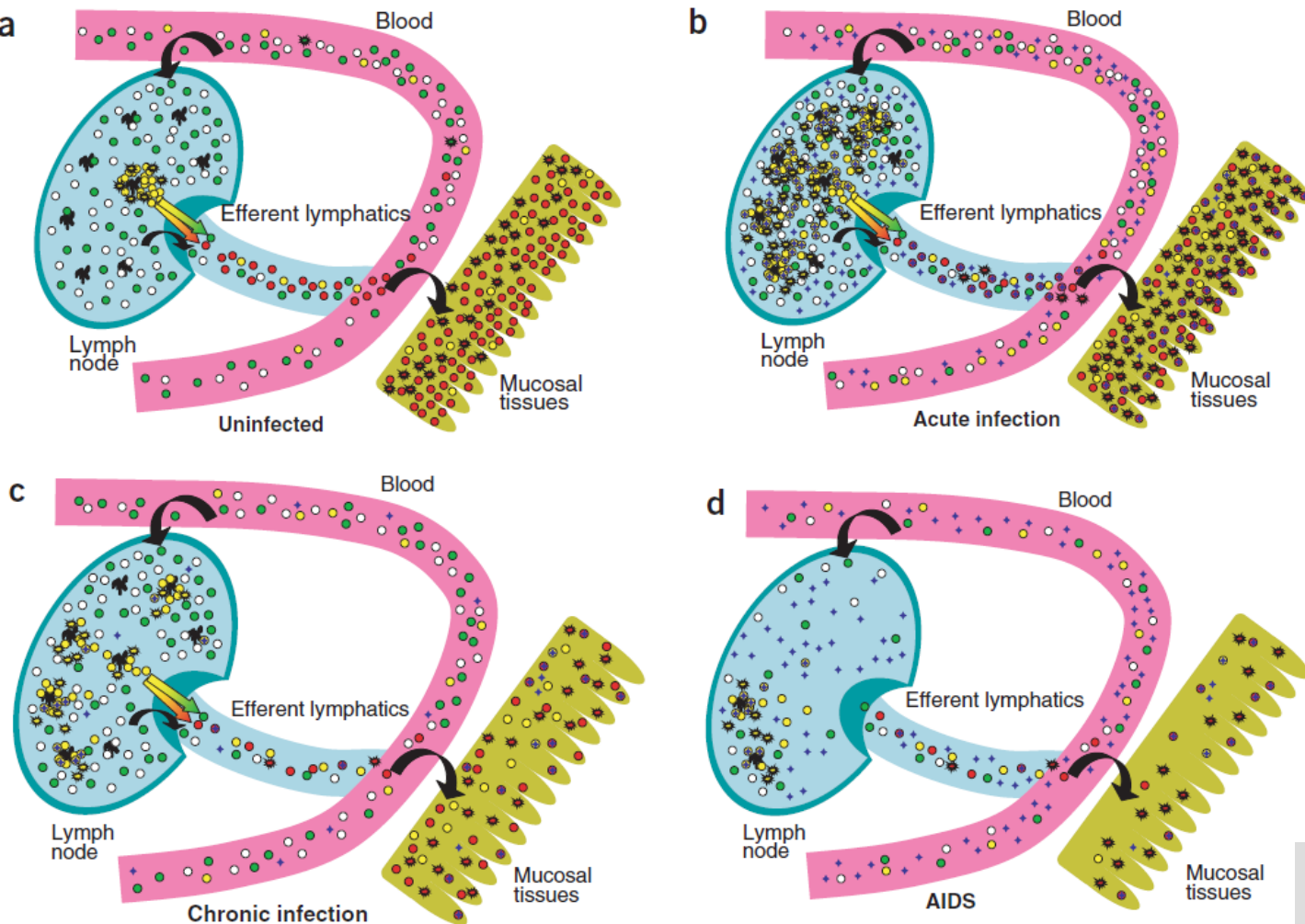
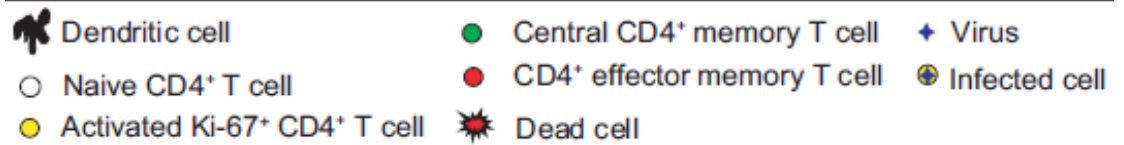
Острая фаза инфекции: реакции неспецифической и антиген-специфической защиты



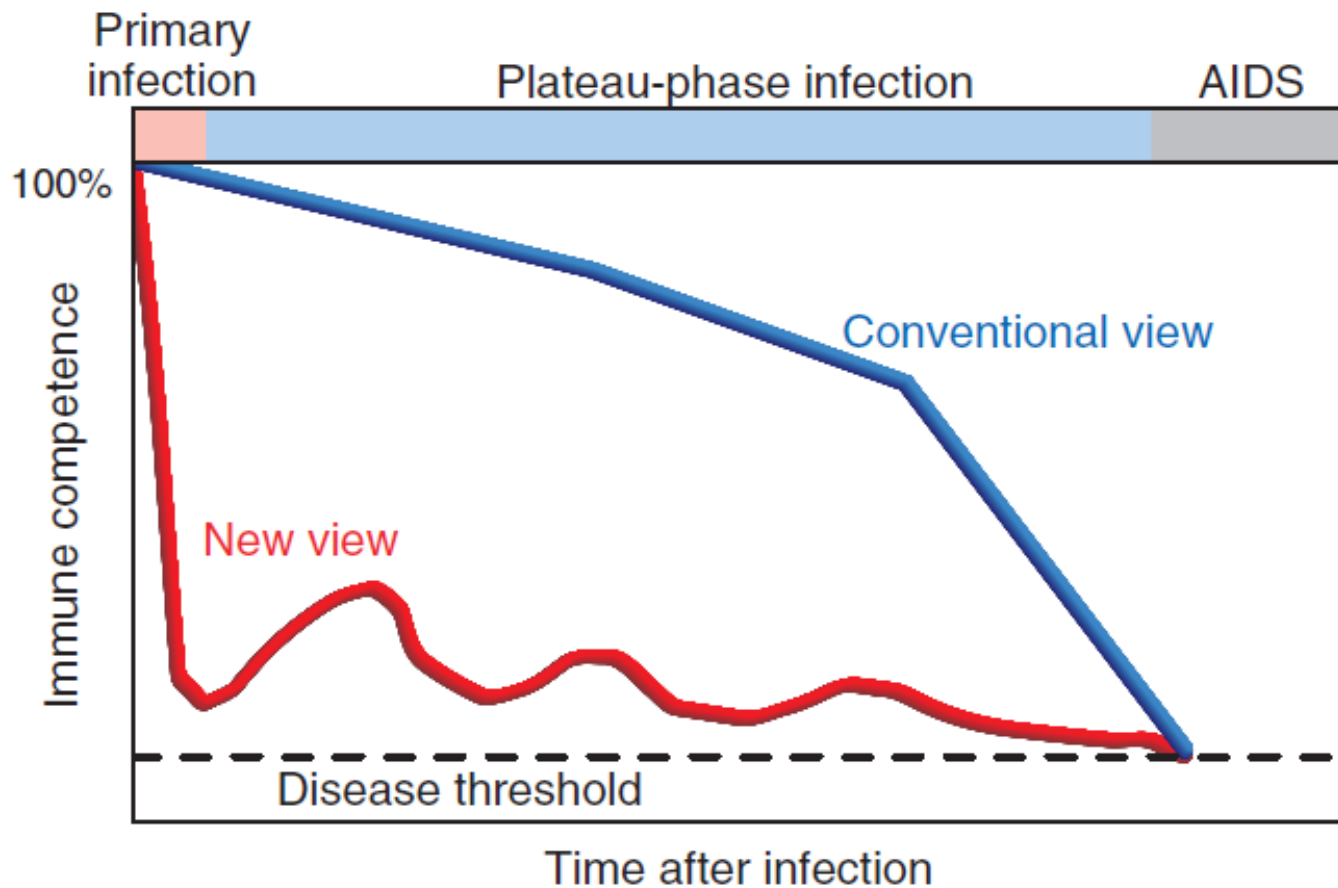
Неспецифическая активация иммунной системы – ключевой фактор патогенеза ВИЧ



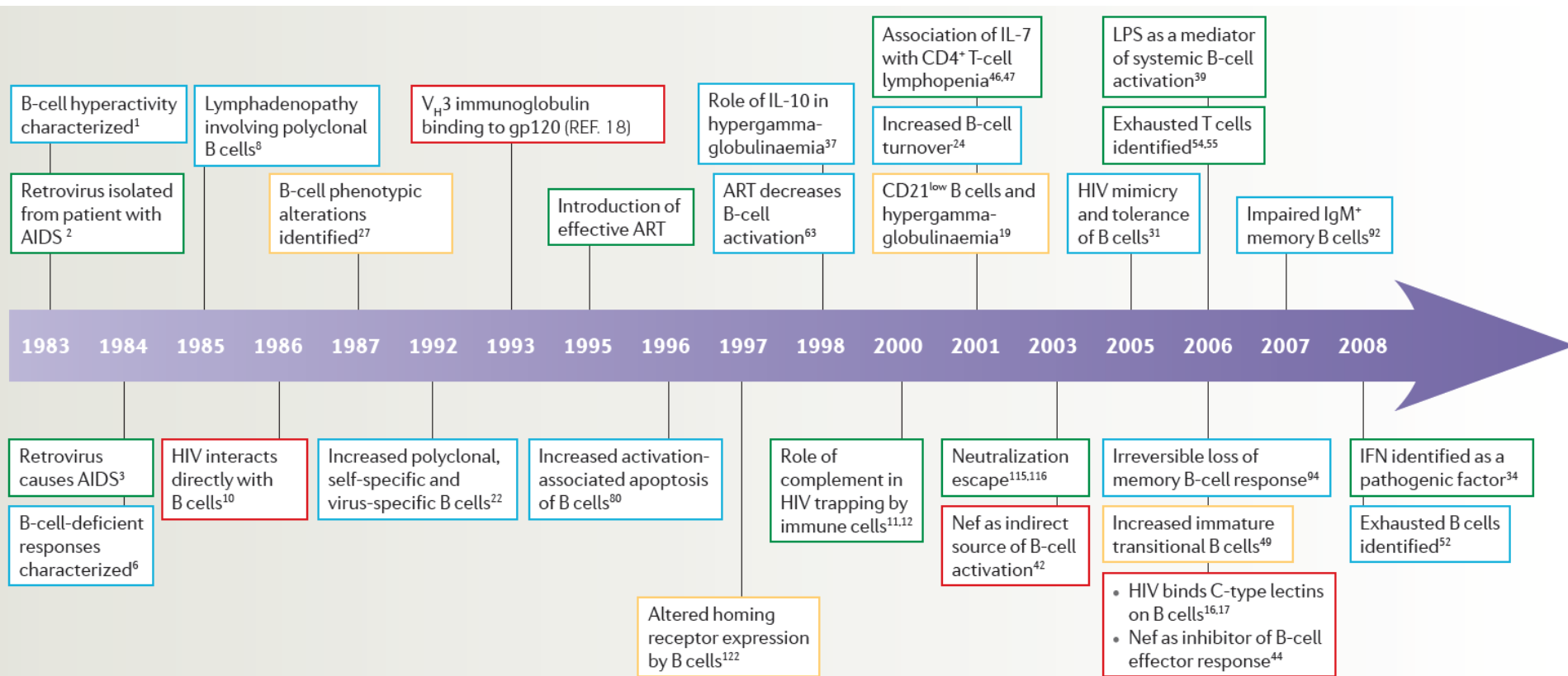
Истощение пула CCR5⁺ CD4⁺ T лимфоцитов памяти в слизистых органах



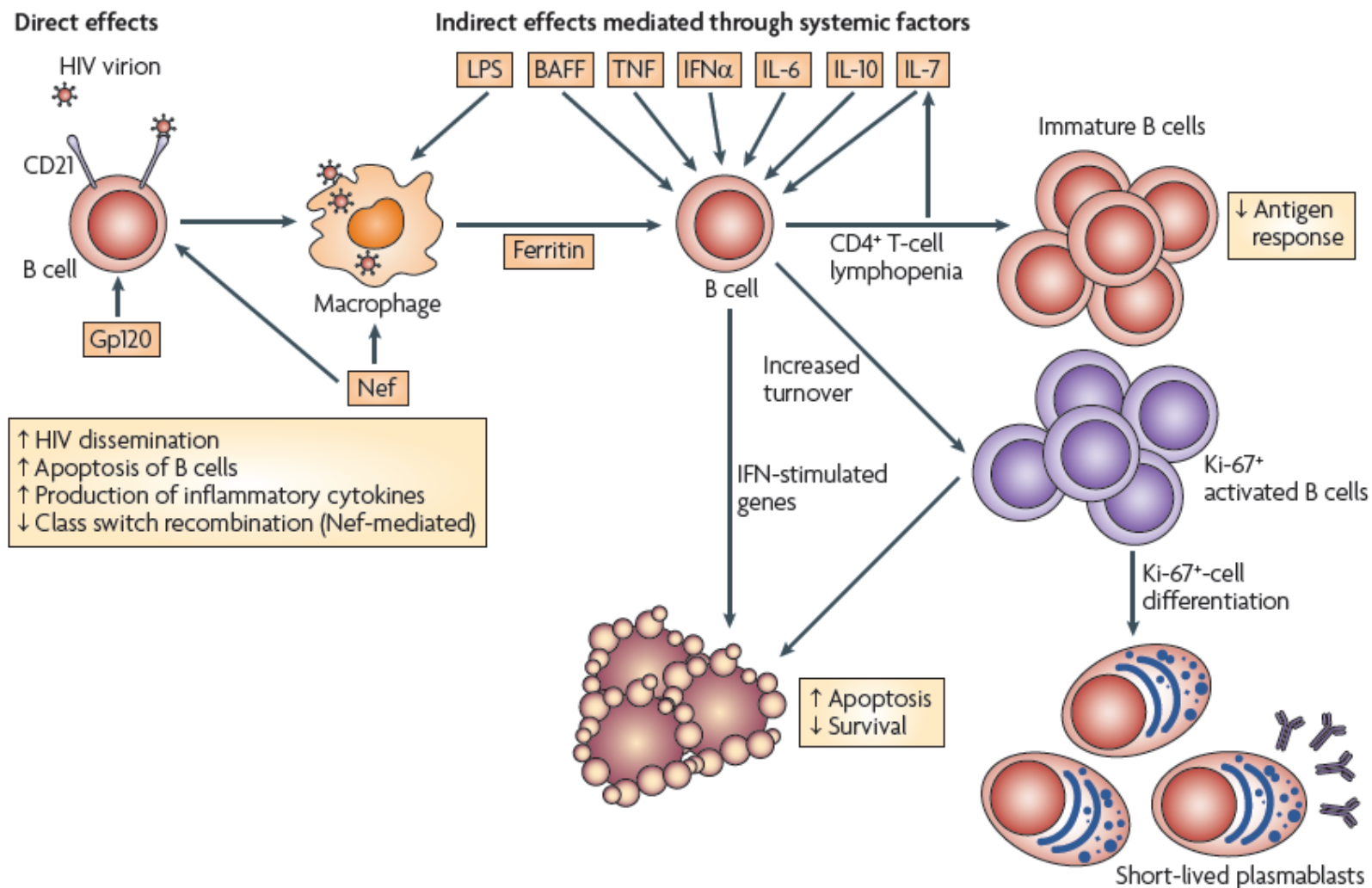
Значительное истощение популяции $CD4^+$ Т-лимфоцитов памяти слизистых органов происходит в ходе острой инфекции



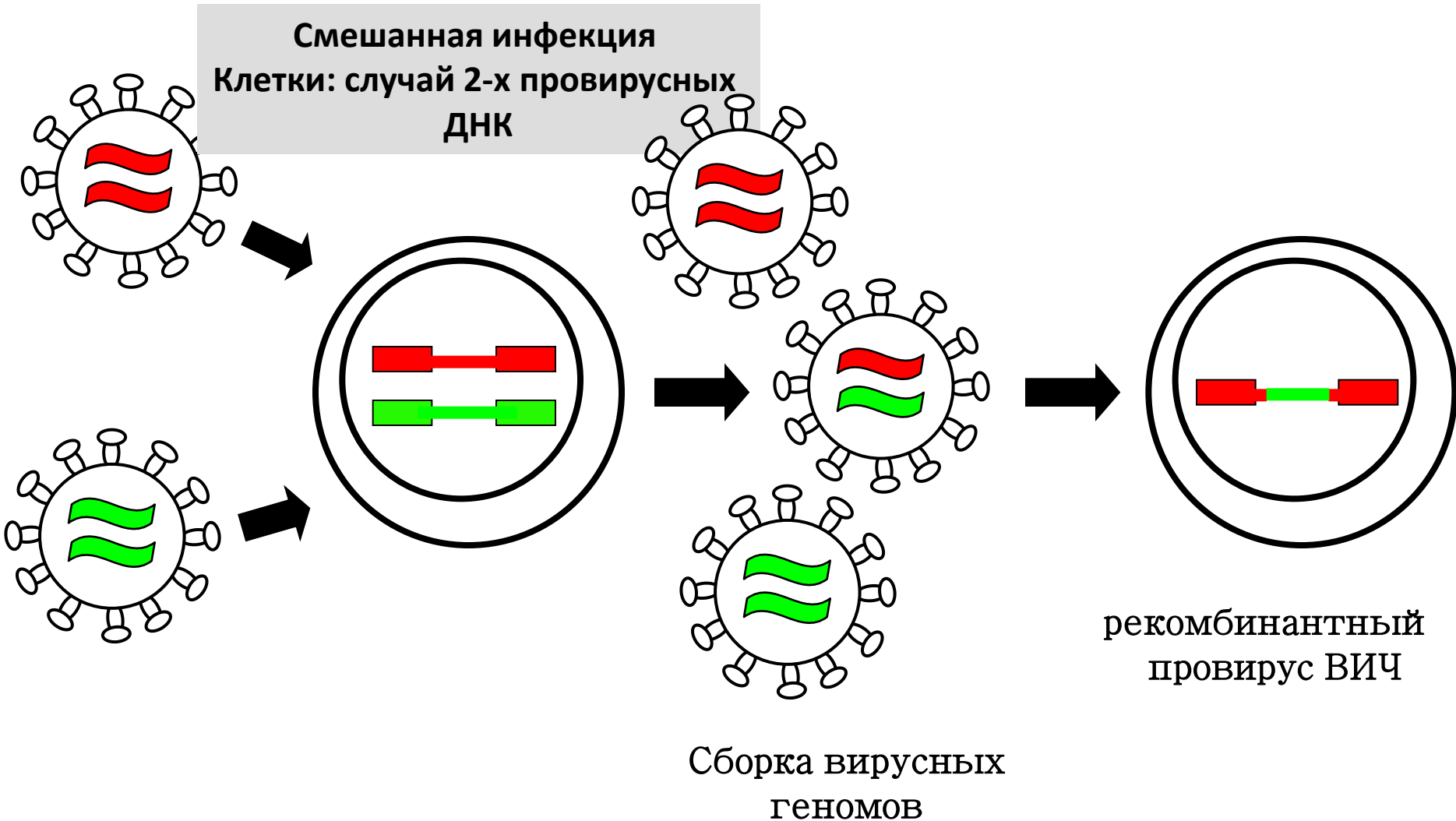
Проблема исследования патогенеза ВИЧ в контексте В-клеточных реакций



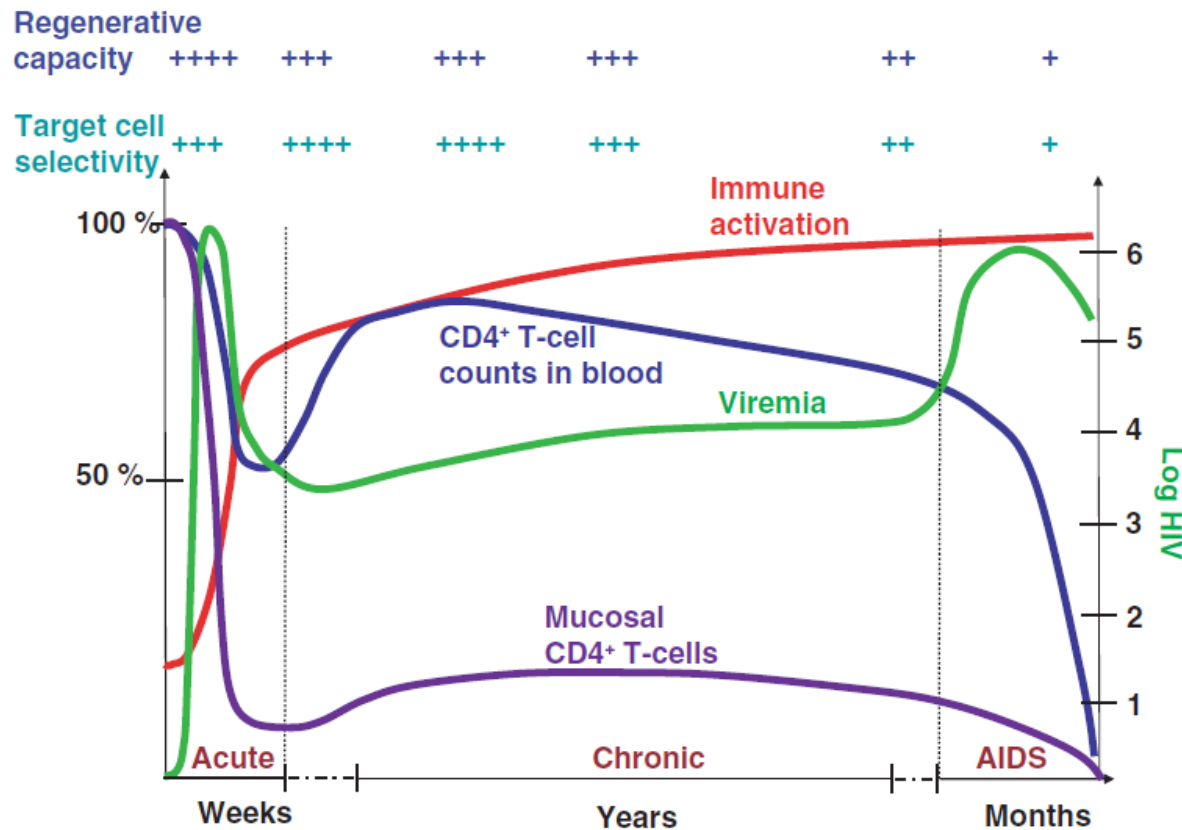
Компоненты патогенеза ВИЧ: истощение популяции В-лимфоцитов



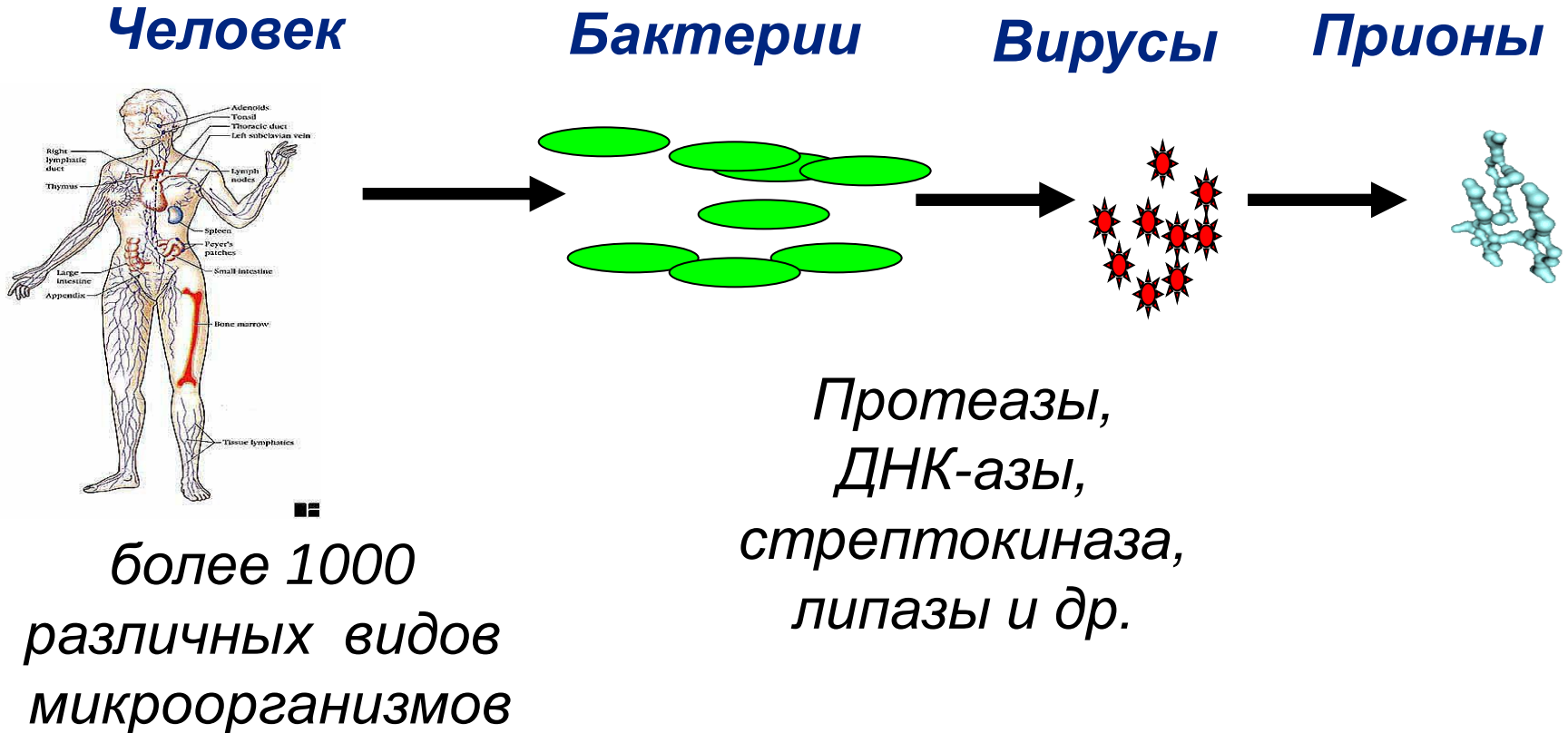
Образование рекомбинантных вирусов при мультиинфекции клетки-мишени



Компоненты патогенеза ВИЧ: уменьшение регенеративного потенциала звена $CD4^+$ Т-лимфоцитов



ПРИЧИНЫ ВОСПАЛЕНИЯ



Нарушения патогенетической цепи - болезни
В основе 90% болезней - воспаление
В основе воспаления - иммунные реакции



Заболевания кожи и слизистых

oralthrushpictures.org









HIV Web Study (www.HIVwebstudy.org)

Supported by HRSA





HIVc 7

Лечение

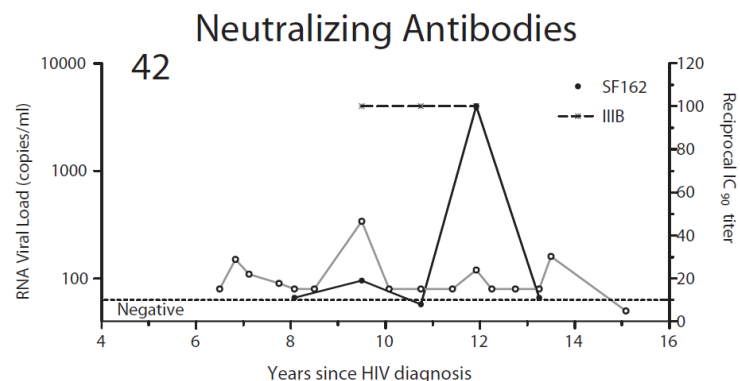
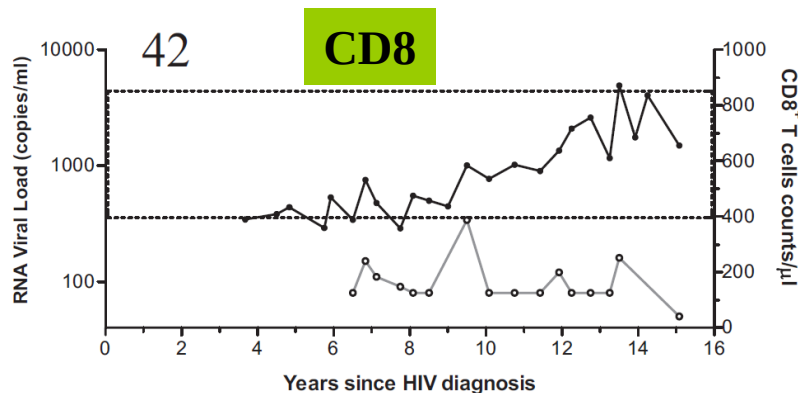
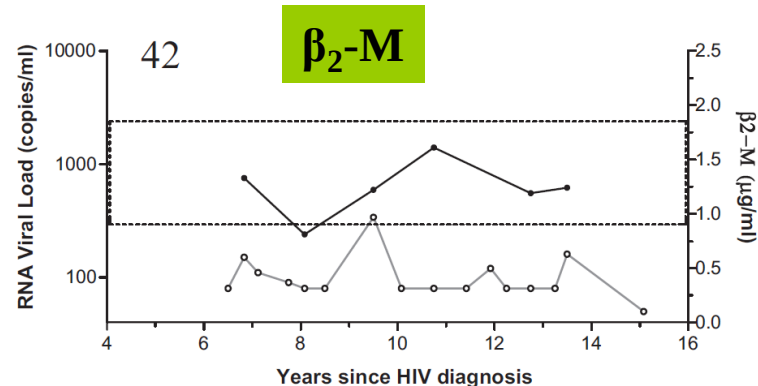
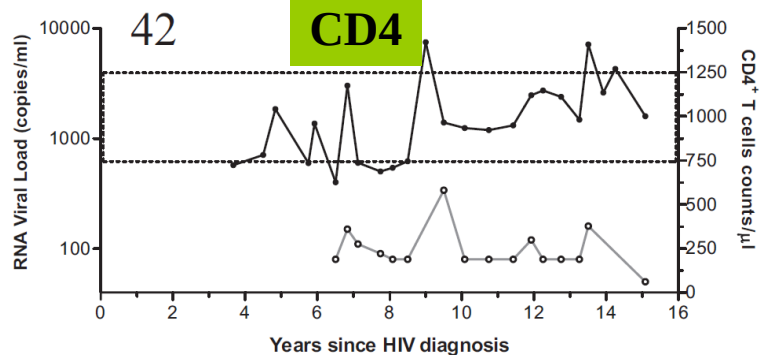
- Госпитализация по клиническим показаниям, изоляция больного не проводится.
- Обычно применяют комбинацию из 3-х препаратов:
 - азидотимидин – блокирует обратную транскриптазу,
 - индинавир – блокирует протеазу,
 - ралтегравир – блокирует интегразу

**В соответствии с действующим
законодательством ВИЧ-
инфицированные лица несут
уголовную ответственность за
несоблюдение правил по
предупреждению распространения
ВИЧ-инфекции.**

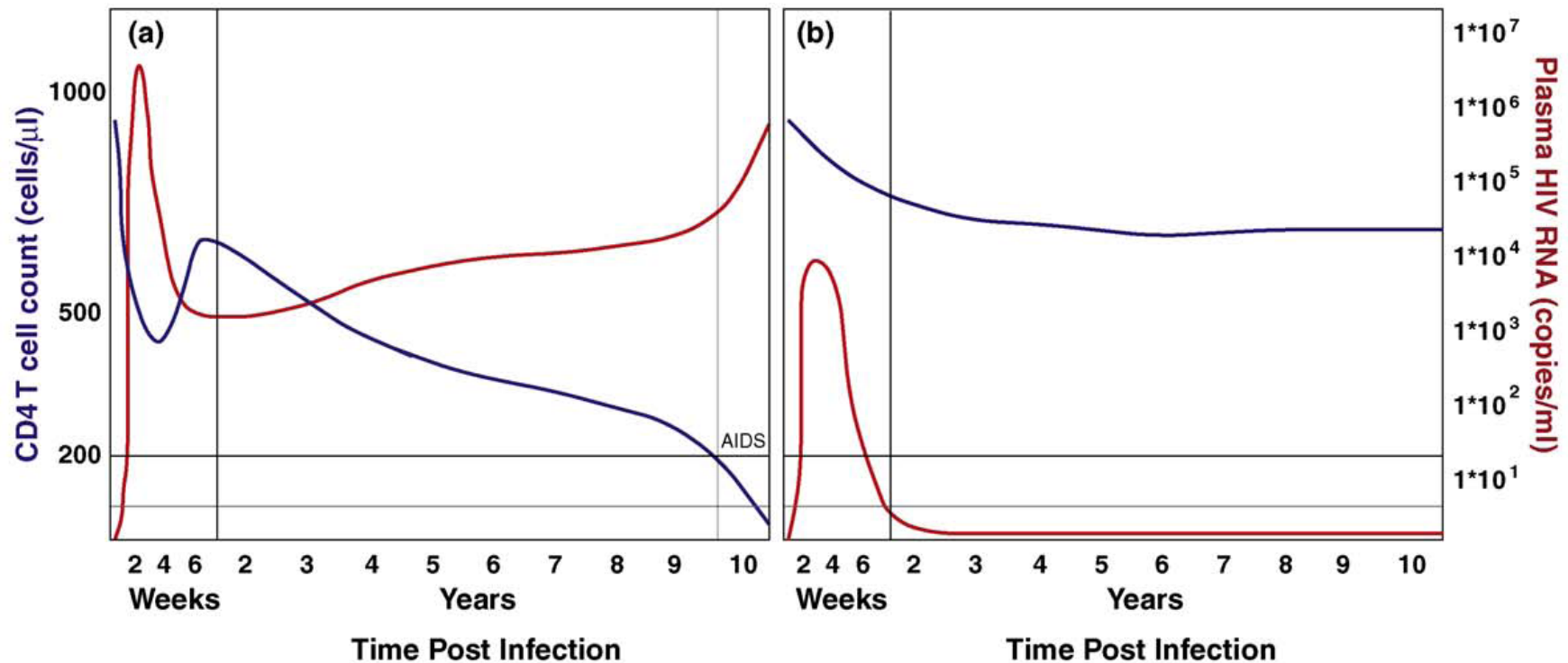
Устойчивость к ВИЧ инфекции: группа здоровых носителей (непрогрессоров)

~1% европейцев

- Мутации поверхностного рецептора Т лимфоцитов: 32 вариант CCR5
- HLA генотип: HLA-B*5705, HLA-B*2705
- Синтез антител к консервативным областям поверхностных белков ВИЧ: gp120, gp41)



Сравнительная динамика популяций ВИЧ и CD4⁺ Т клеток у обычных больных и здоровых носителей (непрогрессоров)

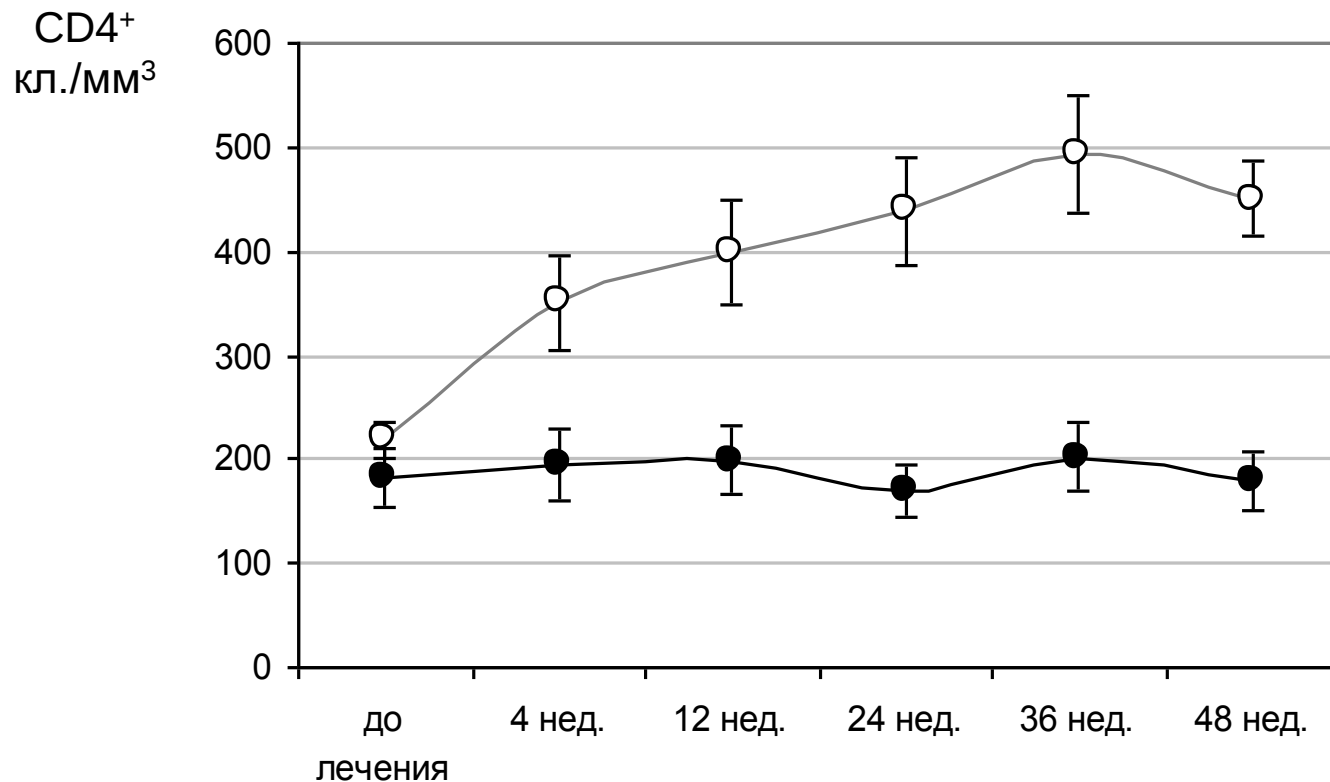


Влияние антиретровирусной терапии на восстановление CD4⁺ Т-лимфоцитов

Среди ВИЧ-инфицированных пациентов, впервые получающих антиретровирусную терапию, у 11,3% наблюдается отсутствие восстановления иммунной системы: оно чаще отмечается у мужчин, заразившихся ВИЧ парентеральным путем и коинфицированных вирусом гепатита С.

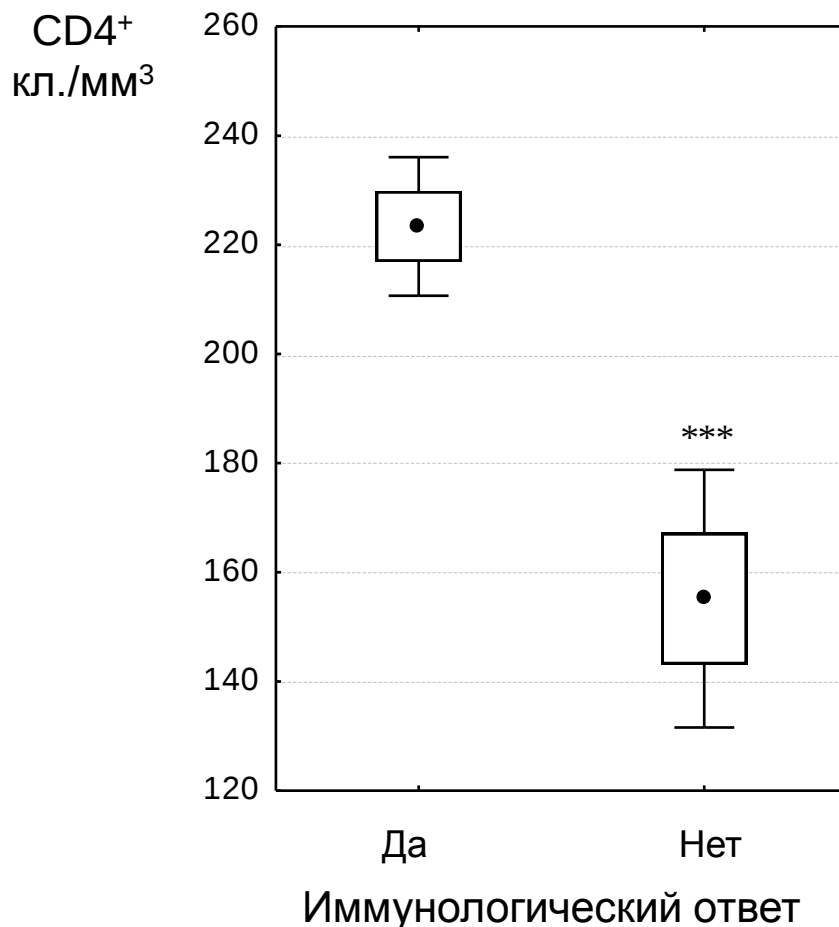
Шмагель Н.Г., Шмагель К.В., Черешнев В.А. Клинические аспекты неэффективности высокоактивной антиретровирусной терапии // Инфекционные болезни. – 2011. - Т. 9, № 1. – С. 5-10.

Восстановление CD4⁺ клеток в период противовирусной терапии



—○— Есть иммунологический ответ; —●— Иммунологические неответчики

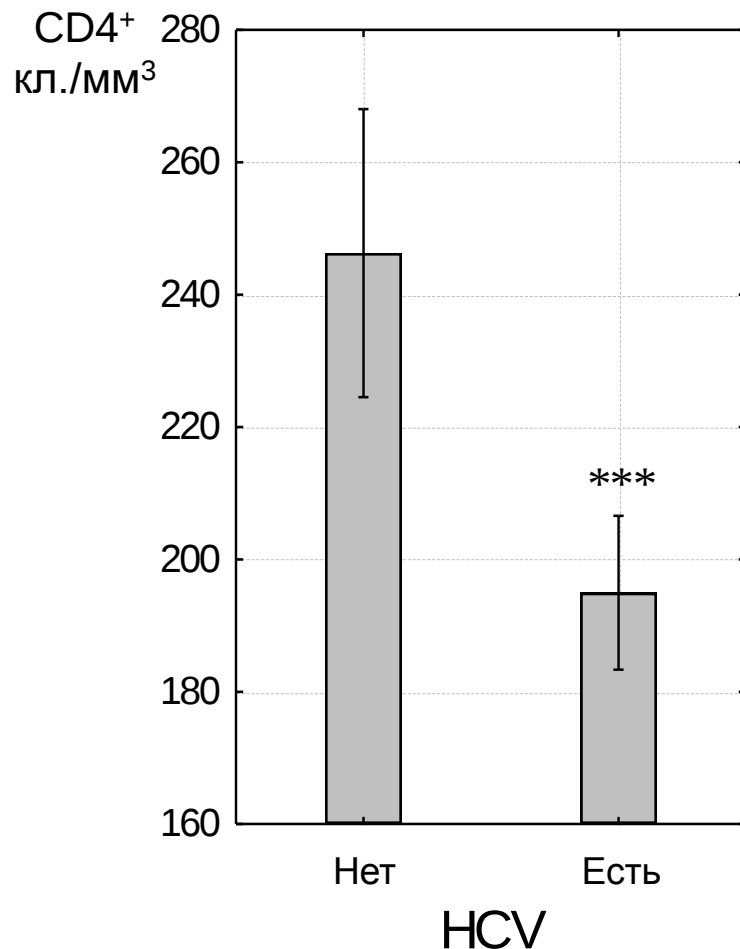
Иммунологический ответ зависит от начального уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов



Иммунологические неответчики имеют исходно более низкий уровень CD4⁺ Т-клеток по сравнению с пациентами, у которых развивается иммунологический ответ на терапию

*** - $P < 0.001$

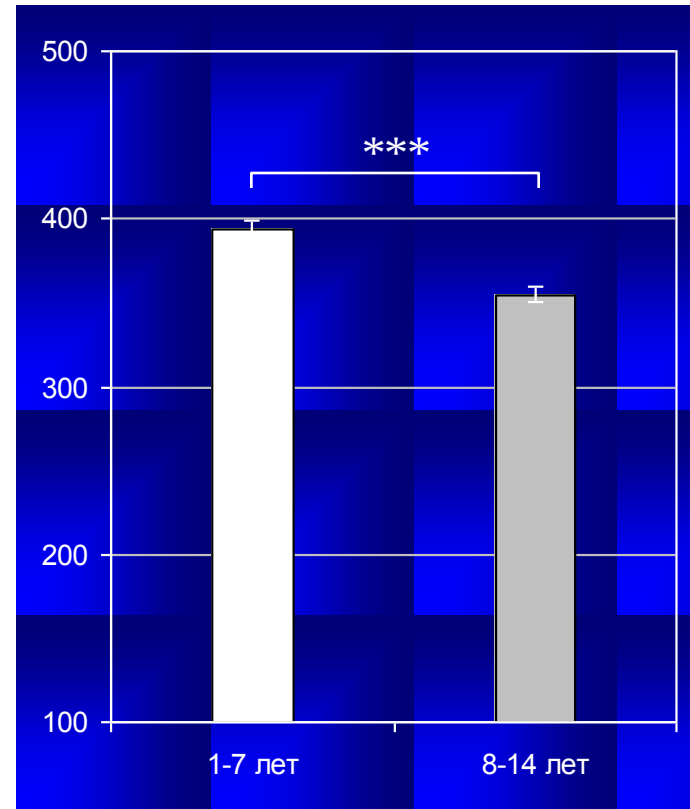
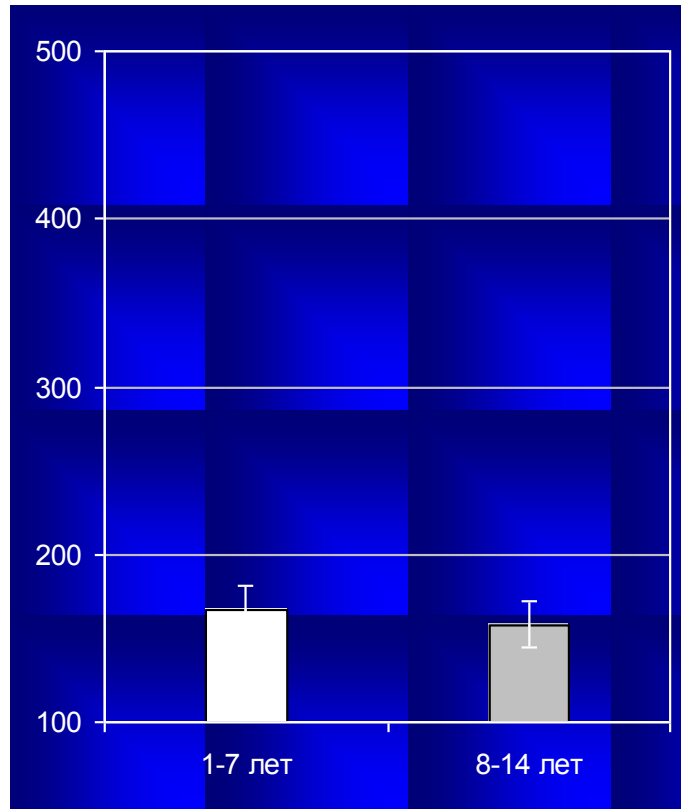
Влияние HCV-коинфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов на уровень CD4⁺ Т-лимфоцитов



У ВИЧ-инфицированных пациентов с HCV-коинфекцией снижен уровень CD4⁺ Т-клеток крови

- Вертикальные линии — стандартное отклонение
- *** — $P < 0.001$ (Стьюдент-тест)

У иммунологических нонреспондеров
длительность ВИЧ-инфекции не влияет
на восстановление числа $CD4^+$ Т-клеток



Иммунологические проблемы АРТ могут проявляться:

- ◆ Отсутствием подъема уровня CD4⁺ Т-клеток (влияет низкий исходный уровень CD4⁺ Т-лимфоцитов, наркопотребление, инфицирование вирусом ГС)
- ◆ Замедленным ростом количества CD4⁺ Т-лимфоцитов (влияет длительность ВИЧ-инфицирования, возраст пациентов)
- ◆ Различной иммунологической эффективностью разных антиретровирусных препаратов и эффектами их взаимодействия

Alvarez M, Bocharov G., Chereshev V, Karamov E. et al. The Open Infectious Diseases Journal, 2011, 5: 14-20.

Зурочка А.В., Гаврилова Т.В., Шестакова Е.В., Квятковская С.В., Миркина Т.В., Черешнев В.А. Оценка зависимости уровня γδТ-клеток у ВИЧ-инфицированных пациентов от уровня CD3+CD4⁺ Т-лимфоцитов // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 4. - С. 425-428.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

(Г.И. Марчук, Р.В. Петров, 1980, 2000; Г.А. Бочаров, В.А. Черешнев, 2003, 2010)

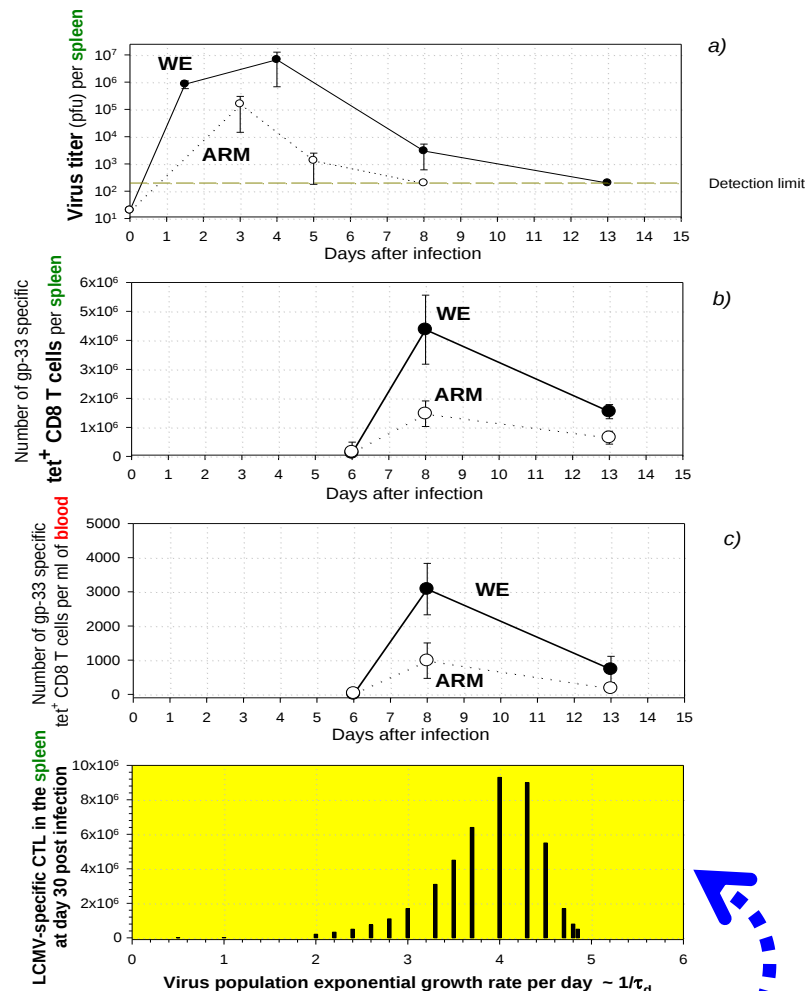
- Вирусы $\frac{dV_f}{dt} = \nu C_V + nb_{CE}C_VE - \gamma_{VF}V_fF - \gamma_{VM}V_f - \gamma_{VC}V_f(C^* - C_V - m),$
- АПК $\frac{dM_V}{dt} = \gamma_{MV}M^*V_f - \alpha_M M_V,$
- Т1-хелперы $\frac{dH_E}{dt} = b_H^E[\xi(m)\rho_H^E M_V(t - \tau_H^E)H_E(t - \tau_H^E) - M_V H_E] - b_p^{H_E} M_V H_E E + \alpha_H^E(H_E^* - H_E),$
- Т2-хелперы $\frac{dH_B}{dt} = b_H^B[\xi(m)\rho_H^B M_V(t - \tau_H^B)H_B(t - \tau_H^B) - M_V H_B] - b_p^{H_B} M_V H_B B + \alpha_H^B(H_B^* - H_B),$
- Т-лимфоциты $\frac{dE}{dt} = b_p^E[\xi(m)\rho_E M_V(t - \tau_E)H_E(t - \tau_E)E(t - \tau_E) - M_V H_E E] - b_{EC}C_VE + \alpha_E(E^* - E),$
- В-лимфоциты $\frac{dB}{dt} = b_p^B[\xi(m)\rho_B M_V(t - \tau_B)H_B(t - \tau_B)B(t - \tau_B) - M_V H_B B] + \alpha_B(B^* - B),$
- Плазматические кл. $\frac{dP}{dt} = b_p^P\xi(m)\rho_P M_V(t - \tau_P)H_B(t - \tau_P)B(t - \tau_P) + \alpha_P(P^* - P),$
- Антитела $\frac{dF}{dt} = \rho_F P - \gamma_{FV}FV_f - \alpha_F F,$
- Зараженные клетки $\frac{dC_V}{dt} = \sigma V_f(C^* - C_V - m) - b_{CE}C_VE - b_m C_V,$
- Пораженные клетки $\frac{dm}{dt} = b_{CE}C_VE + b_m C_V - \alpha_m m, \quad \xi(m) = 1 - m/C^*.$

СХЕМА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ВИРУСАМИ ЛИМФОЦИТАРНОГО ХОРИОМЕНИНГИТА



Зависимость силы иммунного ответа от скорости размножения вирусов

Экспериментальная инфекция мышей линии C57BL/6 различными штаммами ВЛХМ
 $ARM < WE/ARM < WE < TRAUB < DOCILE$

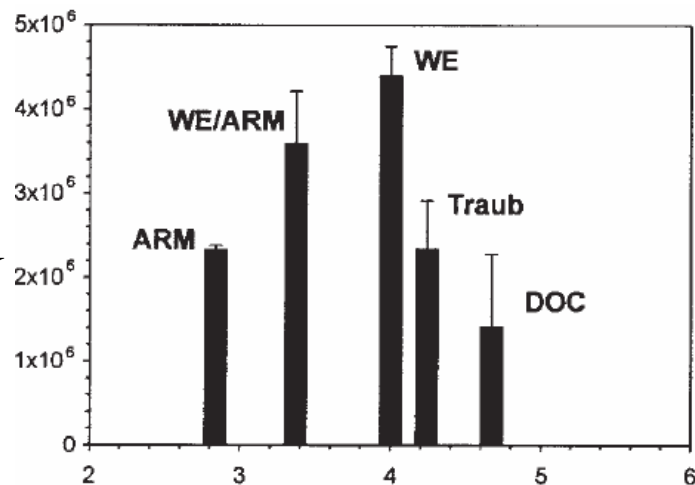


Математическая модель: предсказание

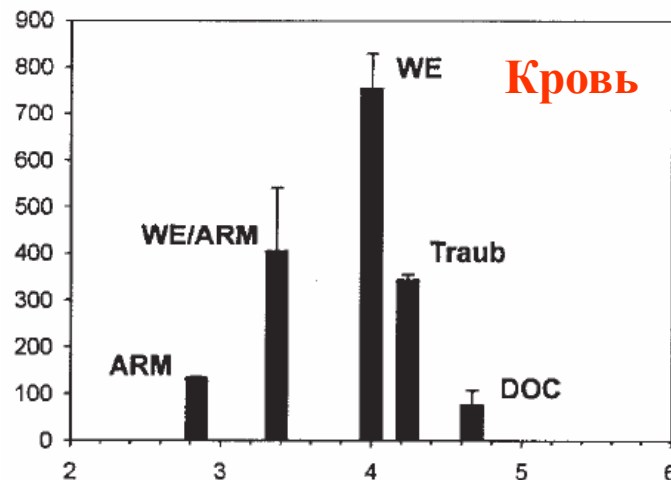
Экспериментальная система: проверка

Селезёнка

Вирус-специфические ЦТЛ

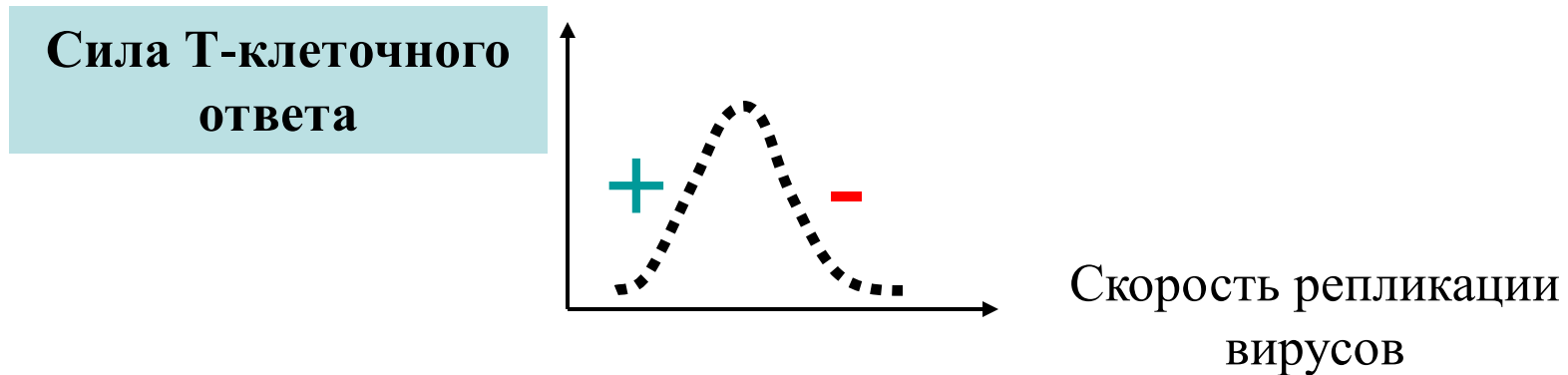


Вирус-специфические ЦТЛ в микролитре



Скорость экспоненциального размножения (1/сутки)

Влияние кинетики вирусной репликации на динамику иммунного ответа и исход инфекции



- Для экспериментальной инфекции ВЛХМ у мышей **зависимость силы Т-клеточного ответа от скорости** нарастания вирусной популяции в инкубационный период носит **немонотонный** характер: существуют области **положительной** и **отрицательной** чувствительности

Иммунные реакции и проточная цитофлуориметрия: анализ скоростей клеточного деления на основе систем с распределенными параметрами

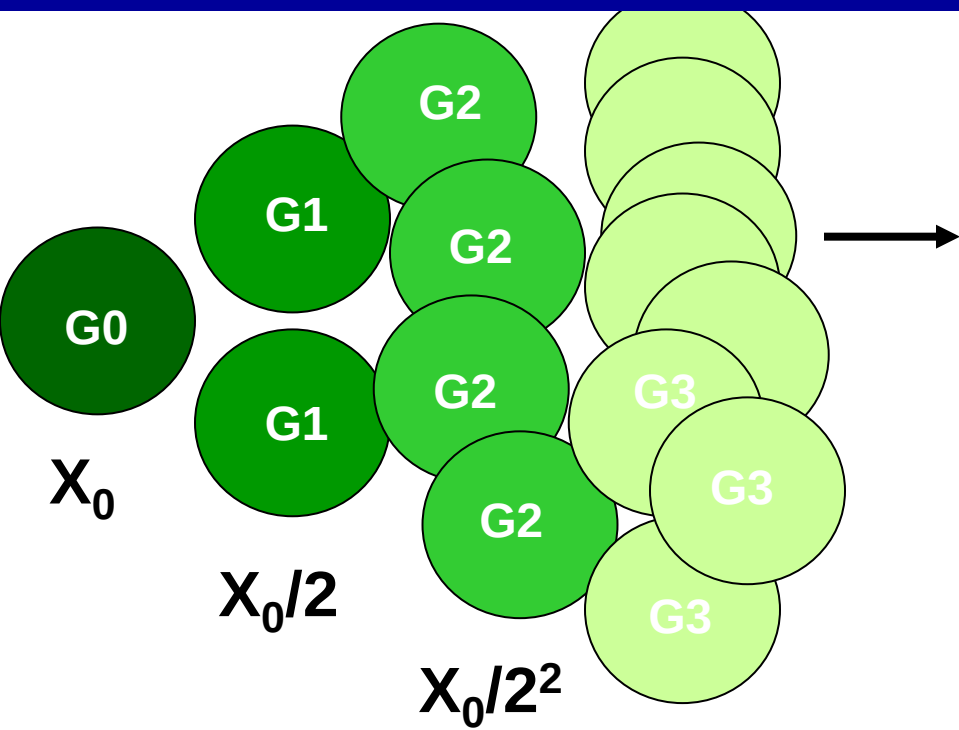
Bocharov G., Quiel J., Luzyanina T., Alon H., Chiglintcev E., Chereshev V., Meier-Schellersheim M., Paul W., Grossman Z. Feedback regulation of proliferation vs. differentiation rates explains the dependence of CD4 T-cell expansion on precursor number. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2011, 108 (8): 3318-3323.

Бочаров Г.А., Данилов А.А., Василевский Ю.В., Марчук Г.И., Черешнев В.А., Людевиг Б. Моделирование защитного поля интерферона в лимфоидных органах с учетом их структурно-функциональной организации // Доклады академии наук «Физиология», 2011, Т.439, №3. С. 413-415.

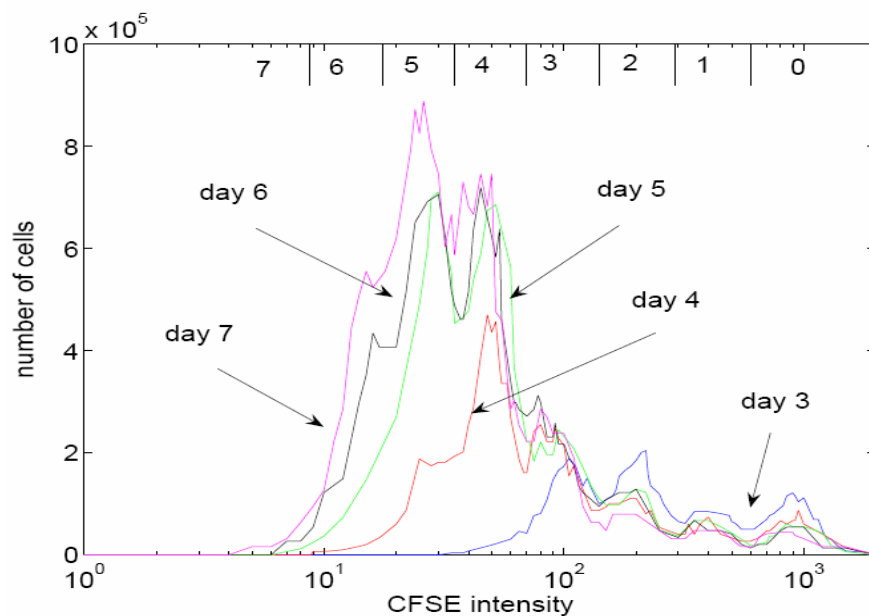
Скорости деления Т-лимфоцитов по данным гистограмм распределения CFSE, полученных с помощью проточной цитофлуориметрии

- Техника быстрого оптического анализа отдельных клеток (уровень флуоресценции химических соединений входящих в состав клеточной стенки)
- Возможность исследования большого числа клеток $> 10^5$
- Возможность определения ~ 10 параметров клетки (размер, антигенные свойства, содержание белка, степень гетерогенности популяции)

Пролиферационные эксперименты с Т-клетками мечеными флуоресцентным красителем CFSE (сукцинилимидный эфир карбоксифлуоресцеина)

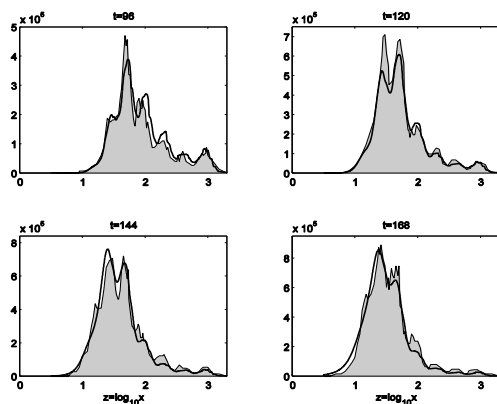


Данные проточной цитометрии по распределению интенсивности флуоресценции клеток и числу сделанных делений



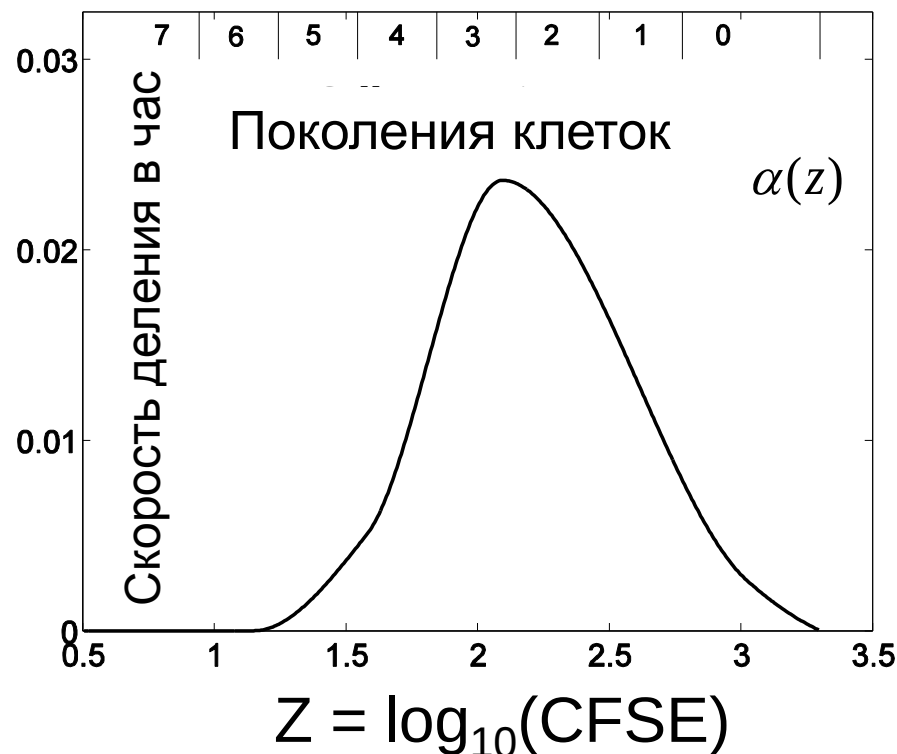
Популяционная динамика Т-лимфоцитов

Модель динамики клеток непрерывно распределённых по уровню по экспрессии CFSE



$$\frac{\partial}{\partial t} n(t, x) - \frac{\partial}{\partial x} (v(x)n(t, x)) = -\beta(x)n(t, x) - \alpha(x) \cdot n(t, x) + 2 \cdot \gamma \cdot \alpha(\gamma x) \cdot n(t, \gamma x)$$

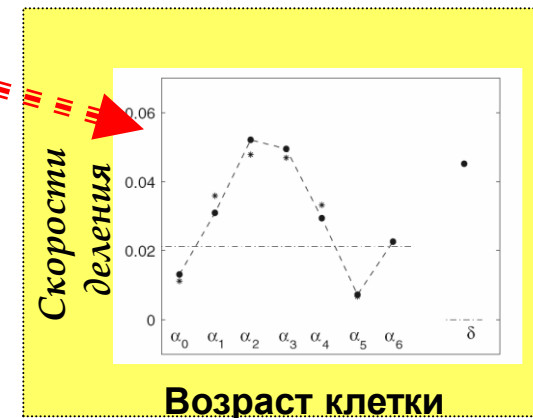
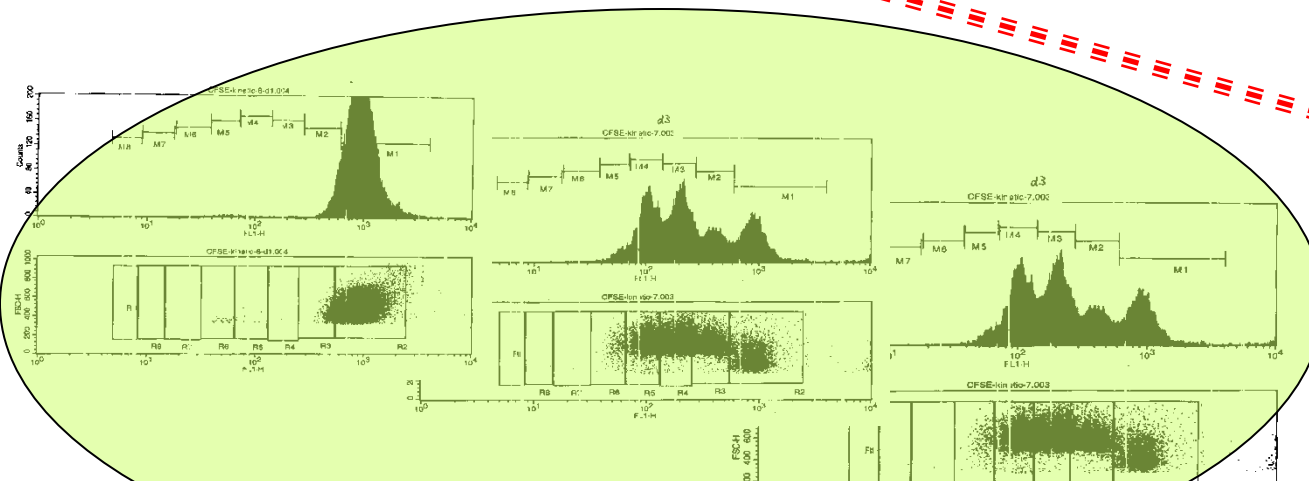
Идентификация параметров модели по данным гистограмм распределения клеток



Скорость деления Т лимфоцитов как функция числа проделанных делений полученная и оцененная методом максимального правдоподобия на основе модели с распределёнными параметрами и данных проточной цитометрии, характеризующих эволюцию распределений Т-лимфоцитов по уровню экспрессии CFSE

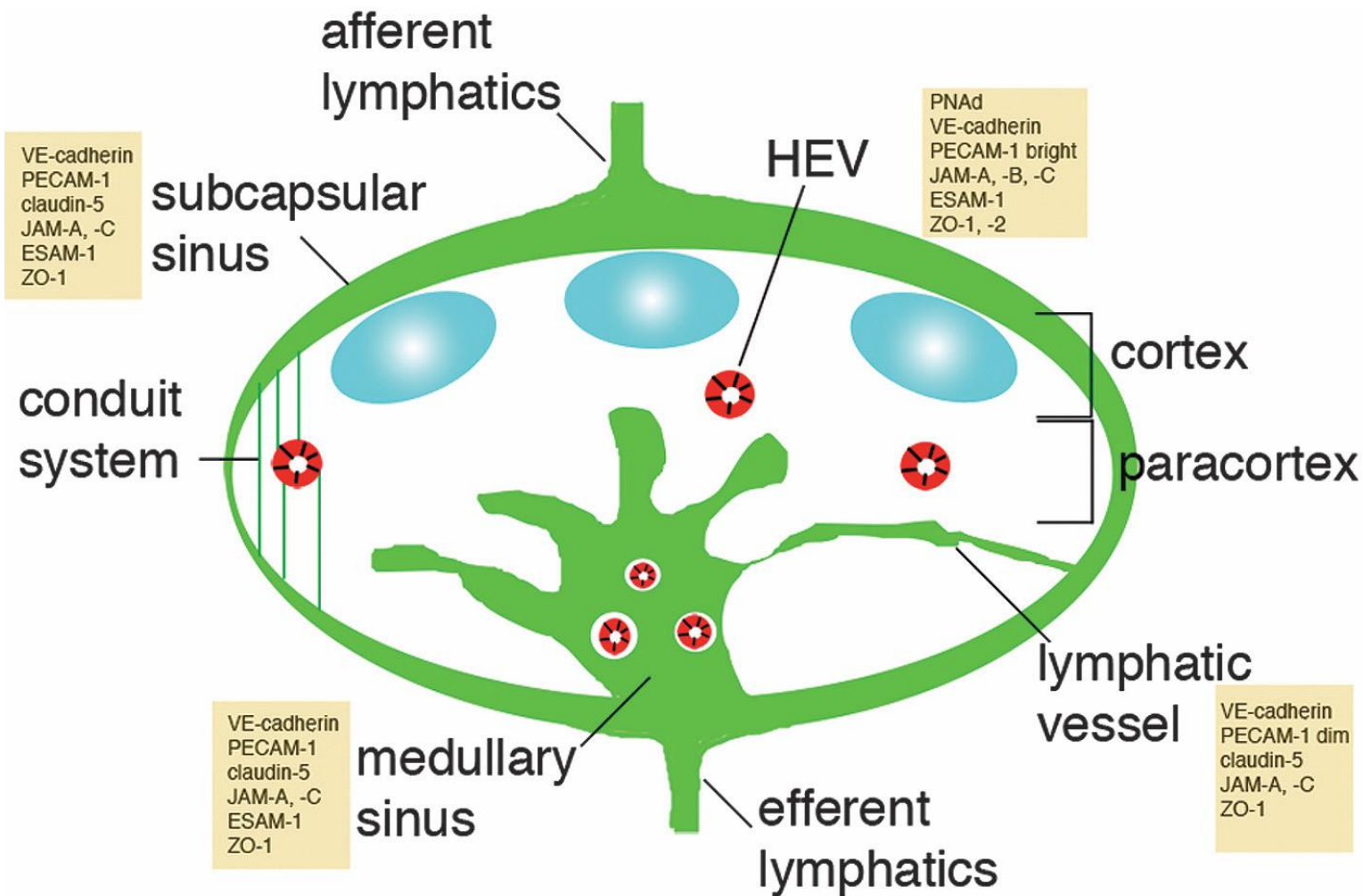
Информация о процессах деления клеток, полученная на основе моделей по данным цитометрии с применением CFSE

- Разработан робастный алгоритм оценивания скоростей деления и гибели клеток по данным проточной цитометрии с помощью математических моделей
- Создана основа для более содержательной интерпретации данных проточной цитометрии
- Скорости деления и гибели клеток зависят от числа проделанных делений – «возраста» клетки
- Проллиферационный статус T-клеток (индивидуальный для каждого организма)



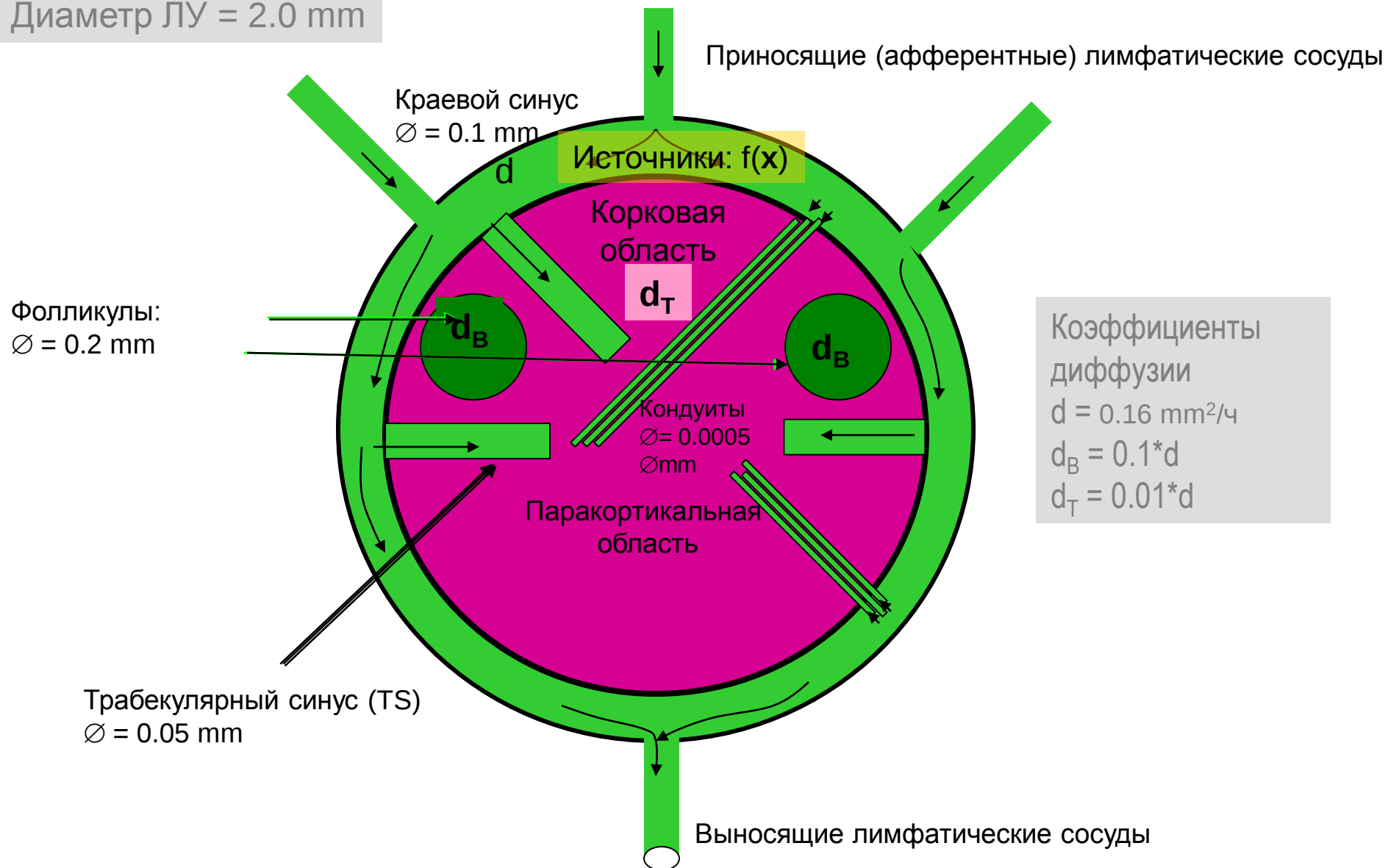
Дальнейшее развитие: дву- и трехмерные гистограммы клеточных распределений (CFSE + BrdU + Ki-67).

Биологическая схема строения лимфатического узла

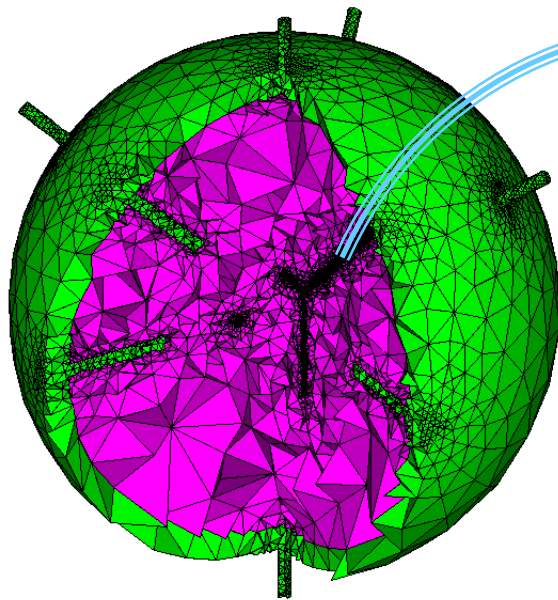


Геометрическая модель лимфатического узла (построена комбинацией сфер и цилиндров)

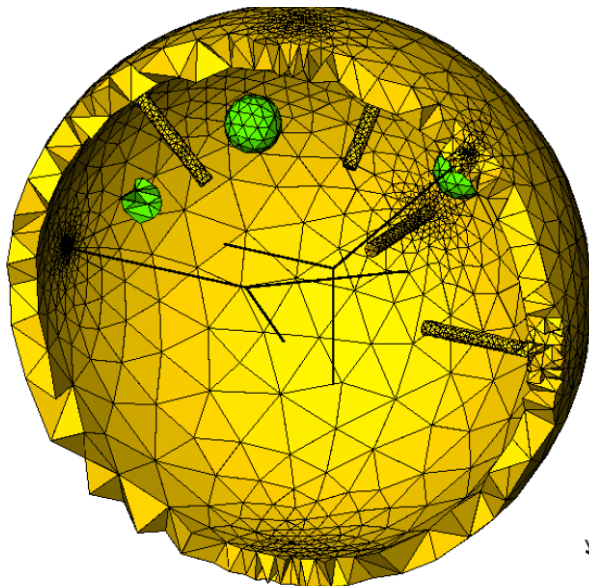
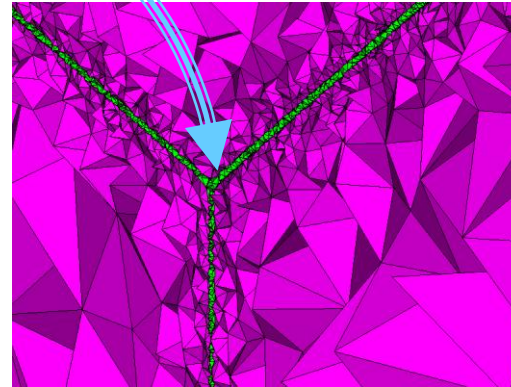
Диаметр ЛУ = 2.0 mm



Пространственная (3-х мерная) сеточная модель лимфоузла



Система
кондуитов

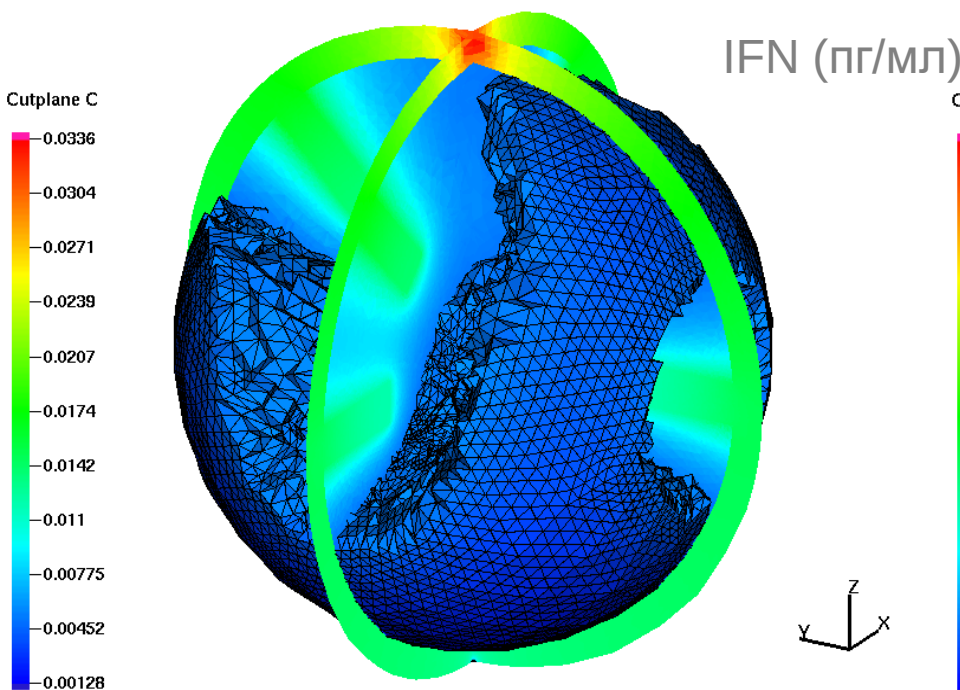


**Сеточная аппроксимация геометрической модели лимфатического узла, построенная с помощью вычислительной технологии генерации адаптивных тетраэдральных сеток (ИВМ РАН, Данилов А.А., Василевский Ю.В.).
Состоит из 10^6 тетраэдров и 10^5 треугольников**

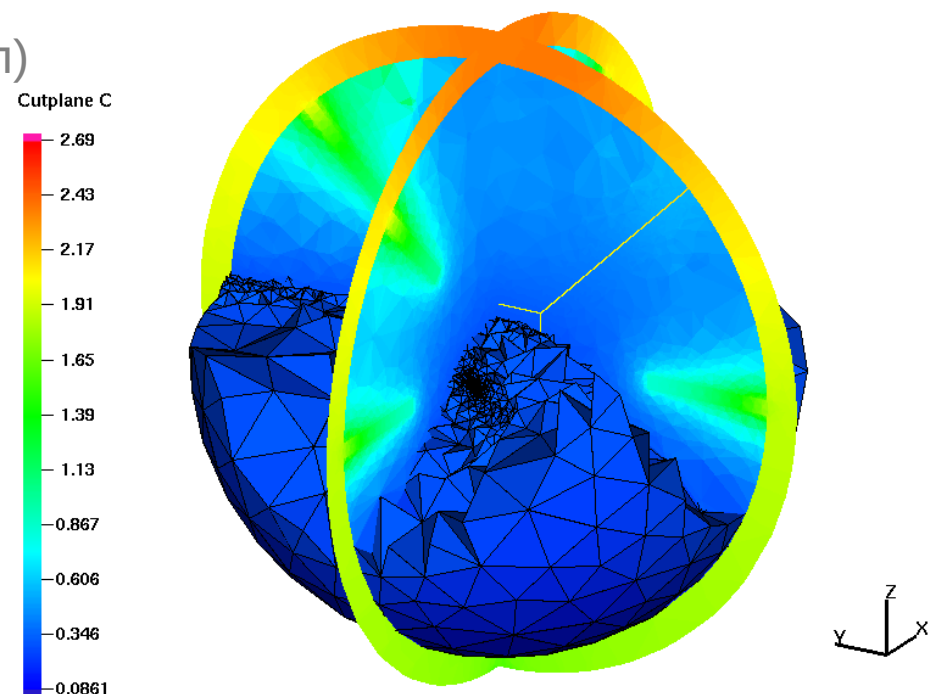
Пространственное распределение интерферона в лимфоузле

(получено путем численного решения стационарного уравнения
диффузии-синтеза и деградации интерферона)

1 плазмацитоидная
дендритная клетка



100 плазмацитоидных
дендритных клеток



Сечения плоскостями OXZ и OYZ. Число активированных плазмацитоидных дендритных клеток, секретирующих интерферон 1 (слева) и 100 (справа). Предполагается, что они расположены случайным образом вблизи полюса. Протективная концентрация интерферона для макрофагов ~1 пг/мл

- ❑ **Скорость пролиферации Т-лимфоцитов существенно зависит от числа проделанных делений. Её можно оценить по данным гистограмм распределений клеток по уровню флуоресцентного красителя CFSE с помощью математических моделей с распределенными параметрами**
- ❑ **Распределение интерферона во вторичных лимфоидных органах является существенно неоднородным. Существуют хорошо защищенные области (синусы и кондуиты) и области, в которых стационарная концентрация интерферона ниже в 10 (фолликулы) и 100 раз (корковая область)**

Bocharov G., Züst R., Cervantes-Barragan L., Luzyanina T., Chiglintcev E., Chereshnev V.A., Thiel V., Ludewig B. A Systems Immunology Approach to Plasmacytoid Dendritic Cell Function in Cytopathic Virus Infections // PLoS Pathogens. 2010, 6, Issue 7, e1001017: 1-14.

Ключевые факторы патогенеза ВИЧ инфекции

- **Высокая изменчивость вируса**: мутации, мульти-инфекция клеток мишеней, рекомбинация
- **Специфическая тропность**: иммунокомпетентные клетки, CD4⁺ Т-лимфоциты и макрофаги
- Ключевая **роль процессов первичной инфекции** в развитии болезни: цитокиновый шторм, истощение пула CD4⁺ Т-клеток в лимфоидной ткани кишечника, транслокация антигенов флоры кишечника
- **Хроническая активация** иммунной системы: увеличение числа клеток-мишеней, внешняя антигенная нагрузка
- **Нарушения в системе регуляции иммунного гомеостаза**: истощение регенеративного потенциала иммунной системы, архитектуры лимфоидных органов

Необходимо развитие интегративных подходов для анализа механизмов патогенеза ВИЧ инфекции на основе моделирования процессов взаимодействия ВИЧ с организмом человека и исследования чувствительности динамики вирусной популяции к изменениям параметров вирусной репликации и иммунофизиологических реакций.

Гилязова А.В., Корнилаева Г.В., Пономарев А.Н., Черешнев В.А., Карамов Э.В. Микробициды с анти-ВИЧ активностью на основе аддуктов углеродных нанокластеров //Российский иммунологический журнал, 2011, Т.5(14), №1, С.21-25.

1 декабря - Всемирный день борьбы со СПИДом



Спасибо за внимание!