

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБКИСТАН
САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АЛИШЕРА НАВОИЙ**

**Факультет естественных наук
Кафедра физиологии, генетики и биохимии**

Джуракулова Регина Алимжановна

**“Генетические и биохимические особенности вирусных заболеваний на
примере гепатита”**

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на получение степени бакалавр по направления «5420100-биология»

научный руководитель: доц. Кан С.В.

20____ г. «____»_____

Выпускная квалификационная работа выполнена на кафедре «Физиологии, генетики и биохимии». Обсуждена и рекомендована к защите на №____ заседании кафедры от «____»_____20__ г. (протокол №____).

Заведующий кафедрой:

доц. Бозоров Б.

Защита выпускной квалификационной работы состоялась на заседании ИГАК от «____»_____2012 г. и оценена _____баллов. (протокол №____).

Председатель ИГАК: _____

Содержание

Введение

| | |
|--|----|
| 1. Литературный обзор..... | 5 |
| 1.1. Строение и генетические особенности вирусов..... | 5 |
| 1.1.1. Классификация и химический состав вирусов..... | 5 |
| 1.1.2. Особенности строения вирусов..... | 13 |
| 1.2. Биохимические и генетические особенности вирусных заболеваний.. | 20 |
| 1.2.1. Классификация и патогенез вирусных инфекций..... | 20 |
| 1.2.2. Генетико-биохимические особенности вирусных инфекций..... | 31 |
| 1.2.3. Классификация и генетические особенности инфекционного процесса вирусов гепатита..... | 35 |
| 2. Материал и методы исследований..... | 45 |
| 2.1. Место проведения исследований..... | 45 |
| 2.2. Объекты исследования..... | 45 |
| 2.3. Методы исследований..... | 45 |
| 3. Результаты с исследований..... | 51 |
| 3.1. Биохимико-генетические исследования заболеваемости гепатитом А и В..... | 51 |
| 3.2. Медико-статистические показатели заболеваемости гепатитом А и В В Самаркандской области..... | 61 |
| Выводы..... | 66 |
| Рекомендации..... | 68 |
| Список используемой литературы..... | 69 |

Введение

Актуальность работы. В результате резкого увеличения численности населения, интенсивной индустриализации и урбанизации нашей планеты происходит загрязнение биосферы антропогенными факторами, способных оказывать неблагоприятное действие на живые организмы, в первую очередь на человека. К ним относят газообразные, жидкие, твердые отходы промышленных предприятий, пестициды, тяжелые металлы, нефтепродукты, лекарственные препараты.

В зависимости от своей природы, концентрации, времени действия на организм человека, они могут вызывать неблагоприятные последствия, увеличивая число сердечнососудистых, онкологических, аллергических, вирусных заболеваний, сопровождающихся иммунологическими нарушениями и функциональными расстройствами. Особую группу заболеваний представляют вирусные инфекции: грипп, герпес, краснуха, СПИД/ВИЧ инфекция, гепатит.

Инфекционные заболевания по степени распространения занимают третье место после сердечнососудистых и онкологических. Их возбудителями являются вирусы, бактерии, грибы, простейшие. Вирусно-инфекционный процесс может проявляться на всех уровнях организации биологических систем организма. Механизм развития патологических процессов, вызванных вирусами, может определяться не только их воздействием на чувствительные клетки, но и быть следствием нарушения защитных реакций организма хозяина, изменяя иммунологические механизмы уничтожения поврежденных клеток. К ним относятся вирусы герпеса и гепатита. Вирусные гепатиты - инфекционные болезни, которые характеризуются воспалительным поражением печени, протекающих с высокой интоксикацией и в ряде случаев с желтухой. Различные виды вирусных гепатитов характеризуются специфическим клиническим развитием и в разной степени поражают функции печени. К наиболее опасным формам относят вирусные гепатиты В, С. Переход заболевания в

хроническую форму предполагает ухудшение прогноза заболевания и длительное развитие воспалительных процессов в печени. Хронические формы вирусных гепатитов считают одними из самых распространенных причин цирроза печени и первичного рака.

В виду повсеместной распространенности и высокой заболеваемости вирусными гепатитами, изучение генетических и биохимических особенностей и патологических процессов является важнейшей медико-биологической и социальной проблемой во всем мире.

Целью наших исследований было изучение классификации и патогенеза вирусных инфекций, их биохимических и генетических особенностей на примере вирусных гепатитов.

Основными задачами является:

1. Изучение классификации, строения и генетических особенностей вирусов.
2. Изучение классификации и патогенеза вирусных инфекций человека.
3. Изучение биохимических и генетических особенностей вирусных инфекций на примере вирусного гепатита.
4. Проведение медико-статистического анализа заболеваемости гепатитами А и В за 2009 -2011 гг.

Научно-практическое значение работы Изучены особенности строения вирусов и их классификация. Рассмотрены биохимические и генетические особенности вирусных инфекций на примере вирусного гепатита. Проведен медико-статистический анализ заболеваемости гепатитами А и В по Самаркандской области.

Структура и объем работы. Работа изложена на 72 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследований, выводов, рекомендаций и списка использованной литературы, 3 главы, 7 параграфов, рисунков 8, таблиц 6 схема 1. В списке использованной литературы 41 источник, из них иностранных 9, использованы материалы из Интернета.

1. Литературный обзор.

1.1. Строение и генетические особенности вирусов

1.1.1. Классификация и химический состав вирусов.

Вирусы (от латинского вирус - яд) представляют неклеточные формы жизни, это объекты, геном которых представлен одним типом нуклеиновой кислоты ДНК или РНК. Вирусы были открыты в 1982 году русским ботаником Д.И. Ивановским, установившим фильтруемость возбудителя мозаичной болезни табака. В 1935 году Стенли впервые выделил вирус в кристаллическом виде, в результате чего появилась возможность изучать химический состав чистых препаратов вируса. Исследование морфологии и структуры вирусов стало возможным после изобретения электронного микроскопа. Размеры вирусных частиц колеблются в относительно широких пределах. Самые мелкие просто устроенные вирусы имеют диаметр 20 нм, вирусы средних размеров 100-150 нм, наиболее крупные 170-450 нм. Длина нитевидных вирусов растений может составлять 2000 нм. В онтогенетическом цикле вируса выделены две стадии – внеклеточная и внутриклеточная, и соответственно, две формы его существования - вирион и вегетативная.[12]

Вирион – это целая вирусная частица, состоящая из белка и нуклеиновой кислоты, часто устойчивая к воздействию факторов внешней среды и приспособленная для переноса генетической информации из клетки в клетку. Вегетативная форма вируса существует в едином комплексе вирус-клетка и только в их тесном взаимодействии вирион характеризуется собственной архитектурой, биохимическими и молекулярно-генетическими особенностями. Архитектура вирионов – это ультратонкая структурная организация этих надмолекулярных образований различающихся размерами, формой и сложностью строения. Изучение строения вирионов показало, что их формирование подчиняется строгим математическим законам построения пространственных структур – от кристаллов до архитектурных сооружений – законом, основанным на образовании структур с наименьшим уровнем свободной энергии.[12]

Обязательным структурным элементом вирусов является капсид-белковая оболочка, окружающая вирусную нуклеиновую кислоту. Морфологическими субъединицами капсида являются капсомеры. Структурными единицами капсида являются белковые субъединицы, состоящие из одной или нескольких молекул белка. Существует два типа строения капсидов: спиральный и кубический. Основной чертой вирусов является то, что они могут размножаться, только паразитируя в клетках зараженного организма. Вирусы не обладают собственным аппаратом для синтеза органических молекул, поэтому для самовоспроизведения они используют ресурсы клетки хозяина. [35]

По своей структуре вирусы могут быть простыми и сложными, которые включают несколько структурных элементов. Просто организованные вирусы представляют собой нуклеопротеиды или нуклеокапсиды, и состоят из нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и нескольких белков, образующих оболочку вокруг нуклеиновой кислоты – капсид. Примером таких вирусов является вирус табачной мозаики. Сложноорганизованные вирусы имеют дополнительную оболочку, белковую или липопротеиновую. Иногда в наружных оболочках сложно организованных вирусов помимо белков содержатся углеводы. Они имеют лишь один вид нуклеиновой кислоты - РНК или ДНК, выполняющих функции генома. Вирусный геном может быть представлен как одонитчатыми, так и двунитчатыми молекулами РНК и ДНК. Двунитчатая ДНК встречается у вирусов оспы человека, оспы овец, свиней, двунитчатая РНК служит генетической матрицей у некоторых вирусов насекомых. Непременным компонентом вирусной частицы является какая-либо одна из двух нуклеиновых кислот, белок и зольные элементы. Эти три компонента являются общими для всех без исключения вирусов, тогда как остальные два липоиды и углеводы - входят в состав далеко не всех вирусов. Вирусы, состоящие только из белка нуклеиновой кислоты и зольных элементов, чаще всего принадлежат к группе простых, так называемых минимальных,

вирусов, лишенных дифференциации, собственных ферментов и каких-либо специализированных структур. К таким вирусам относят вирусы растений, некоторые вирусы животных и насекомых. В то же время практически все бактериофаги, которые по химическому составу, принадлежат к группе минимальных вирусов, на самом деле являются очень сложными и высокодифференцированными структурами. Вирусы, в состав которых наряду с белком и нуклеиновой кислотой входят также липоиды и углеводы, как правило, принадлежат к группе сложно устроенных вирусов. Большая часть вирусов этой группы паразитирует на животных. [2]

Вирусы могут иметь следующий химический состав:

1. Белки. Белок всех исследованных до настоящего времени вирусов построен из обычных аминокислот, принадлежащих к естественному L-ряду. D-аминокислот в составе вирусных частиц не найдено. Соотношение аминокислот в вирусных белках достаточно близко к таковому в белках животных, бактерий и растений. В белках вирусов преобладают кислые дикарбоновые кислоты. Это справедливо как для вирусов с низким содержанием нуклеиновой кислоты, так и для вирусов с высоким содержанием РНК и ДНК.

2.. Вирусная ДНК. Главной структурной особенностью большинства вирусных молекул ДНК, является наличие двух спаренных антипараллельных цепей. В ДНК-геноме вирусов молекулы вирусных ДНК могут быть линейными или кольцевыми, двухцепочечными или одноцепочечными по всей своей длине или же одноцепочечными только на концах. Кроме того, выяснилось, что большинство нуклеотидных последовательностей в вирусном геноме встречается лишь по одному разу, однако на концах могут находиться повторяющиеся, или избыточные участки. Из всех описанных до сих пор вирусных ДНК наиболее сложно организована ДНК вируса герпеса. Геном здесь, по-видимому, состоит из двух больших соединенных сегментов, каждый из которых имеет повторяющиеся концевые последовательности.

Помимо очень интересных различий в форме молекулы и в структуре концевых участков вирусных ДНК существуют также большие различия в величине генома. Среди наименьших "полных" вирусов (т.е. вирусов, способных размножаться в клетке-хозяине) можно назвать папавирусы, паповирусы, вирусы полиомы и SV40. С другой стороны, у крупных бактериофагов и вирусов человека и животных (паповирусов, герпеса и осповирусов) геном значительно больше - от 1 до $1,5 \cdot 10^8$ дальтон, так что он мог бы кодировать более 100 белков. Действительно, у бактериофага T 4 сейчас идентифицировано больше ста генов. [13]

3. Вирусная РНК: Размеры вирионов РНК - вирусов сильно варьируют - от $7 \cdot 10^6$ дальтон у пикорнавирусов, до $>2 \cdot 10^8$ дальтон у ретровирусов; однако размеры РНК и, следовательно, объем содержащейся в ней информации различаются в значительно меньшей степени. РНК пикорнавирусов - вероятно, наименьшая из известных - содержит около 7500 нуклеотидов, а РНК парамиксовирусов - едва ли не самая крупная - почти 15000 нуклеотидов.

4. Вирусные белки. Кроме капсидных белков, образующих "футляр" для нуклеиновой кислоты, у вирусов с оболочками имеются и другие белки. Кроме белков, входящих в состав нуклеопротеидного "ядра", вирионы могут содержать еще вирус - специфические белки, которые были встроены в плазматические мембраны зараженных клеток и покрывают вирусную частицу, когда она выходит из клетки или "отпочковывается" от ее поверхности. Кроме того, у некоторых вирусов с оболочкой существует субмембранный матриксный белок между оболочкой и нуклеокапсидом. Вторую большую группу вирус специфических белков составляют некапсидные вирусные белки. Они в основном имеют отношение к синтезу нуклеиновых кислот вириона. [4]

Белок всех исследованных до настоящего времени вирусов построен из обычных аминокислот, принадлежащих к естественному L-ряду. Соотношение аминокислот в вирусных белках достаточно близко к таковому

в белках животных, бактерий и растений. Вирусные белки не содержат обычно большого количества основных аминокислот (аргинина, муцина), т.е. не принадлежат к группе белков типа гистонов и протаминов с ярко выраженными щелочными свойствами. Не учитывая нейтральных аминокислот, можно сказать, что в вирусном белке преобладают кислые дикарбоновые кислоты. Это справедливо как для вирусов с низким содержанием нуклеиновой кислоты, так и для вирусов с высоким содержанием РНК и ДНК. [22]

Белковый компонент вирусов, как и все прочие белки, построен из пептидных цепочек. Единственное своеобразие полипептидной цепочки вирусного белка связано с "маскировкой" обеих или какой-либо одной С- или N - концевой аминокислоты, что, видимо, является эволюционным приспособлением, затрудняющим разрушение вирусного белка под влиянием протеаз в клетках хозяина.

В вирусных частицах пептидные цепочки определенным образом взаимодействуют друг с другом, приобретая вторичную и третичную структуру. Именно в такой форме пептидные цепи являются структурными субъединицами вирусного белка, наблюдаемые обычно в электронном микроскопе. [22]

Механизм, благодаря которому генетическая информация ДНК "транскрибируется" в матричную РНК, а затем транслируется в белок, выяснился через несколько лет после того, как молекулярные биологи осознали, что нуклеотидные последовательности в ДНК генов прямо ответственны за аминокислотные последовательности белка. Тот факт, что некоторые вирусы растений и животных содержат в качестве генетического материала РНК и что вирусная РНК сама по себе инфекционна, уже говорит о вероятной промежуточной роли РНК в переносе генетической информации. Когда Жакоб и Моно предсказали существование короткоживущего, нестойкого посредника между генами и аппаратом белкового синтеза, поиски молекулы РНК с такими свойствами были уже начаты. Первые указания на

наличие фаговой РНК, которая вновь синтезировалась после фаговой инфекции и была ассоциирована с предсуществовавшими бактериальными рибосомами.[22]

В дальнейшем м-РНК была идентифицирована и изучена как в бактериальных, так и в животных клетках. Позже было показано, что многие молекулы м РНК, и вирусные и невирусные, способны программировать синтез специфических белков в самых разных клеточных экстрактах. Это подтверждало, что специфичность синтеза белка в различных системах зависит от м РНК, а не от системы, синтезирующей белок. Во всех клетках первым этапом экспрессии генов оказалась "транскрипция" ДНК с образованием соответствующей м РНК.[23]

5. Углеводы. Четвертым компонентом, обнаруживаемым иногда в очищенных вирусных препаратах, являются углеводы (в количестве, превышающем содержание сахара в нуклеиновой кислоте). Глюкоза и гентибиоза, обнаруживаемая в составе Т-четных и некоторых других фагов, - компоненты нуклеиновой кислоты и рассматриваются в разделе, посвященном составу ДНК и РНК. Помимо этих "экстра"-углеводов, в составе бактериофагов могут быть и другие полисахариды. Единственная группа вирусов, в которой наличие углеводов точно доказано, - вирусы животных, хотя различные авторы приводят весьма противоречивые данные как о количественном, так и о качественном составе их углеводного компонента. В составе элементарных телец вируса гриппа и классической чумы птиц находятся до 17 % углеводов.[15]

Было доказано, что присутствие в вирусных препаратах одного фермента представляет собой достаточно редкий феномен, установленный в настоящее время с полной достоверностью для лизоцимной и фосфатозной активностей бактериофагов и нейтраминидазной активности миксовирусов. Во всех остальных случаях либо не было получено убедительных доказательств собственно вирусного происхождения определяемого

фермента, либо, наоборот, твердо доказано происхождение активности фермента от клеточных загрязнений.

Одним из компонентов вирионов является двойной слой липидов, образующий основную массу наружной оболочки у тех вирусов у которых она имеется. Полагают, что липиды оболочек просто заимствуются из плазматической мембраны клетки-хозяина и поэтому, строго говоря, не могут считаться "вирус-специфическими". Действительно, парамиксовирусы, размножающиеся в различных клетках, могут содержать и соответственно разные липиды. Поэтому специфика вирусной оболочки зависит от вирусных гликопротеидов, находящихся на ее поверхности. Высокоочищенные препараты вирионов содержат ряд низкомолекулярных компонентов, функция которых в некоторых случаях понятна. У бактериофагов и вирусов животных и растений обнаружены полиамины. Возможно, что их единственная физиологическая функция состоит в нейтрализации отрицательного заряда нуклеиновой кислоты. Например, вирус герпеса содержит достаточно спермина, чтобы нейтрализовать половинку вирусной ДНК, а в вирусной оболочке, кроме того, присутствует спермидин. [15]

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, морфологию, стратегию генома и антигенные свойства. Важным признаком для классификации является стратегия вирусного генома, под которым понимают используемый вирусом способ репродукции, обусловленный его генетическим материалом. Для классификации вирусов в настоящее время используют следующие критерии: 1. Нуклеиновая кислота: тип, число нитей, процентное содержание, молекулярная масса, содержание гуанина и цитозина. 2. Морфология: тип симметрии или псевдосимметрии, число капсомеров для вирусов с кубической симметрией, наличие внешней липопротеиновой оболочки, форма, размеры вирионов. 3. Биофизические

свойства: константа седиментации, плавучая плотность. 4. Белки: количество структурных белков, их локализация, аминокислотный состав. 5. Липидный состав. 6. Размножение в тканевых культурах, особенности репликации. 7. Круг поражаемых хозяев, особенности патогенеза инфекционного процесса; онкогенные свойства. 8. Устойчивость к физическим и химическим факторам.[41]

По этим критериям группируются все вирусы независимо от круга их носителей (вирусы позвоночных, беспозвоночных, растений). Название всех вирусных родов оканчивается словом «virus», для названия семейств используется суффикс «idae», а подсемейств — «sheя». Из более чем 55 семейств вирусов, признанных Международным комитетом по таксономии вирусов, следующие 19 включают вирусы человека и животных. Из них 7-ДНК содержащих, 12 –РНК содержащих вирусов.[35].

Таблица 1.1.

Классификация вирусов.

| Тип нуклеиновой кислоты | Семейство | Молекулярная масса | Симметрия капсида | Наличие капсида | Размер вириона, нм |
|-------------------------|-----------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------|--------------------|
| ДНК-содержащие вирусы | Поксвирусы | $85 \cdot 10^6 - 240 \cdot 10^6$ | сложный | + | 130-240 |
| | Герпесвирусы | $90 \cdot 10^6 - 130 \cdot 10^6$ | кубический | + | 200 |
| | Гепаднавирусы | $1,6 \cdot 10^6$ | сложный | + | 45-50 |
| | Аденовирусы | $20 \cdot 10^6 - 30 \cdot 10^6$ | кубический | - | 70-90 |
| | Паповавирусы | $3 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$ | кубический | - | 45-50 |
| | Парвовирусы | $1,5 \cdot 10^6 - 2,2 \cdot 10^6$ | кубический | - | 18-26 |
| РНК-содержащие вирусы | Реовирусы | $12 \cdot 10^6 - 19 \cdot 10^6$ | кубический | - | 60-80 |
| | Тогавирусы | $4 \cdot 10^6$ | кубический | + | 30-90 |
| | Коронавирусы | $9 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 80-130 |
| | Парамиксовирусы | $5 \cdot 10^6 - 8 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 150-300 |
| | Рабдовирусы | $3 \cdot 10^6 - 4 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 70-175 |
| | Ортомиксовирусы | $5 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 80-120 |
| | Буньявирусы | $6 \cdot 10^6 - 15 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 90-100 |
| | Ареновирусы | $3 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$ | спиральный | + | 50-300 |
| | Ретровирусы | $7 \cdot 10^6 - 10 \cdot 10^6$ | сложный | + | 80-100 |
| | Пикорнавирусы | $2 \cdot 10^6 - 2,8 \cdot 10^6$ | кубический | - | 20-30 |
| | Калицивирусы | $2,6 \cdot 10^6 - 2,8 \cdot 10^6$ | кубический | - | 20-30 |

1.1.2. Особенности строения вирусов.

Вирусы — особое царство ультрамикроскопических размеров организмов, обладающих только одним типом нуклеиновых кислот, лишенных собственных систем синтеза белка и мобилизации энергии и, являющихся поэтому абсолютными внутриклеточными паразитами.

Существует и другой взгляд на природу вирусов: «...вирусы можно рассматривать как генетические элементы, одетые в защитную оболочку и способные переходить из одной клетки в другую». Однако эти же авторы там же называют репродукцию вируса в клетке его жизненным циклом. [21]

Молекулярно-генетическая организация вирусов.

Основой таксономии вирусов является вирион, который представляет собой конечную фазу развития вируса. Вирион состоит из геномной нуклеиновой кислоты, окруженной одной или двумя оболочками. По строению вирусы можно разделить на четыре типа, которые различаются по характеру упаковки морфологических субъединиц:

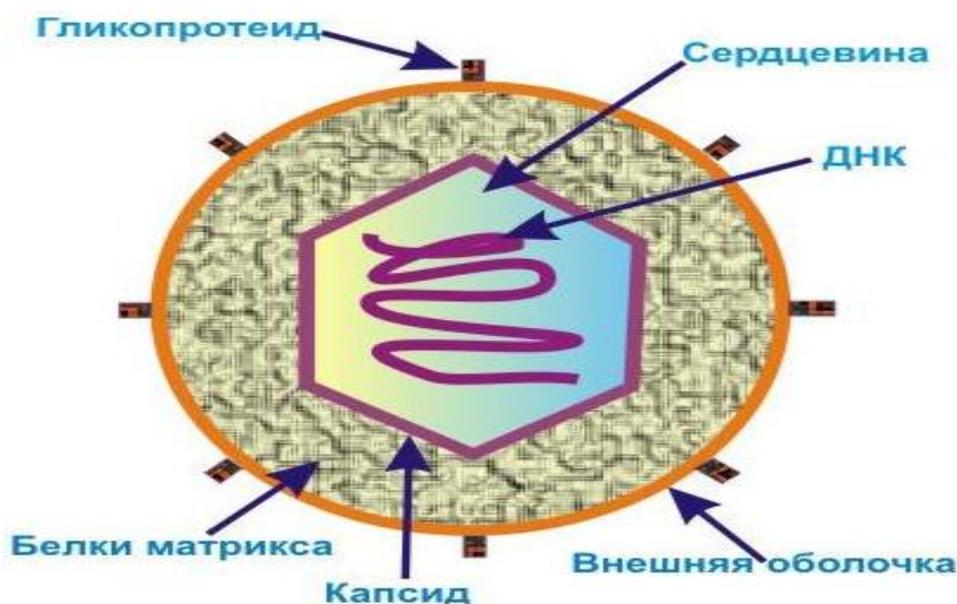
1. вирусы со спиральной симметрией;
2. изометрические вирусы с кубической симметрией;
3. вирусы с бинарной симметрией, например фаги: у них головка имеет кубический тип симметрии, а хвостик — спиральный;
4. более сложно организованные вирусы, имеющие вторую оболочку.

Оболочка, в которую упакована геномная нуклеиновая кислота, называется капсидом (греч. *capsa* — ящик). Наиболее просто организованные вирусы представляют собой нуклеокапсиды: они состоят только из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, построенной из идентичных пептидных молекул. Поскольку число аминокислотных остатков в белковой молекуле всегда меньше числа нуклеотидов в гене (код триплетный), то для того, чтобы упаковать геномную нуклеиновую кислоту, требуется большое число одинаковых белковых молекул. А многократное повторение белок-белковых взаимодействий возможно лишь при условии симметричного расположения субъединиц. Существует всего два способа упаковки

одинаковых белковых молекул в капсид, при которых он обладал бы стабильностью. Полимер будет стабильным, если он соответствует наименьшему уровню свободной энергии. Процесс образования такого полимера родствен процессу кристаллизации, он протекает по типу самосборки. Один из вариантов такой самосборки происходит с использованием спиральной симметрии, другой — кубической симметрии.[13]

Рисунок 1.1.

Строение вируса.



При спиральной симметрии (ее имеют нитевидные вирусы) белковые субъединицы располагаются по спирали, а между ними, также по спирали, уложена геномная нуклеиновая кислота. Лучше всего этот тип молекулярной организации вириона изучен у вируса мозаичной болезни табака. Он представляет собой нуклеопротеид, имеющий длину 300 нм и диаметр 18 нм. Молекулярная масса вириона 40 МД. Капсид вириона состоит из 2130 белковых молекул, винтообразно уложенных вокруг РНК, содержащей около 6000 нуклеотидов (рис. 76, а). Каждая белковая молекула имеет м. м. 18 240

Д и состоит из 158 аминокислотных остатков. С каждой белковой субъединицей связано три нуклеотида. Белковая спираль состоит из 130 витков, на каждый из которых приходится 16 % субъединиц. Период идентичности (3 оборота спирали) равен 6,9 нм.[15]

При спиральной симметрии белковый чехол лучше защищает геномную нуклеиновую кислоту, но при этом требуется большее количество белка, чем при кубической симметрии. Большинство вирусов с замкнутым чехлом обладает кубической симметрией. В ее основе лежат различные комбинации равносторонних треугольников, образующихся из сочетания шаровидных белковых субъединиц. Сочетаясь определенным образом друг с другом, они могут формировать замкнутую сферическую поверхность. Из различных сочетаний равносторонних треугольников, которые образуют общую вершину и общую ось симметрии, могут возникать различные варианты многогранников: тетраэдры, октаэдры и икосаэдры. Икосаэдры имеют 20 граней (каждая представляет равносторонний треугольник). Икосаэдры — самая эффективная и экономичная симметрия для формирования замкнутого чехла, так как в этом случае при его сборке используются строительные белки минимального размера и обеспечивается наибольший внутренний объем вириона. Видимо, поэтому сферические вирусы животных чаще всего имеют форму икосаэдра.[27]

К основным различиям между спиральными и сферическими вирусами относятся:

Спиральные вирусы

Самосборка происходит одним способом.

Взаимодействие между нуклеиновой кислотой (НК) и белком максимальное.

Площадь поверхности вириона большая.

Освобождение НК невозможно без разрушения вириона.

Сферические вирусы.

Возможны варианты самосборки.

Взаимодействие между НК и белком слабое.

Площадь поверхности вириона минимальна.

Освобождение НК возможно без разрушения вириона.

Упаковка по типу икосаэдра позволяет осуществлять переход от структурных единиц (белковых субъединиц) к морфологическим — капсомерам (греч. μέρος - часть). Например, 60 молекул субъединиц могут быть представлены в виде 30 молекул димеров или 20 молекул тримеров, морфологически такие олигомеры будут отличаться друг от друга. Число капсомеров для вирусов данного вида является постоянным, оно имеет диагностическое значение. Например, вирион аденовирусов имеет 252 капсомера, причем группы из 9 капсомеров располагаются на поверхности 20 граней (180 капсомеров), а группы из 6 капсомеров образуют 12 вершин (72 капсомера). Число капсомеров у парвовирусов — 32, у паповавирусов — 72.

Молекулярная организация всех простых вирусов сводится к использованию спиральной и кубической симметрии. [28]

Более сложно устроены вирусы, у которых имеется вторая оболочка. Вначале она получила название «пеплоса» (накидка греческих солдат). Позднее ее стали называть суперкапсидом. Он представляет собой обычную биологическую мембрану, состоящую из двух слоев липидов, имеющих клеточное происхождение, и заключенных в них гликозилированных суперкапсидных вирусных белков, которые выступают над наружной поверхностью вириона в виде своеобразных шипов. Суперкапсидные вирусные белки, образующие шипы, обладают жизненно важными для вируса функциями: они распознают клеточные рецепторы и связываются с ними, обеспечивают слияние вирусной мембраны с мембраной клетки и ее лизосом, способствуют распространению вируса в организме за счет слияния клеток, многие из них обладают свойствами протективных антигенов и т. д. Многие сложные вирусы, такие как ортомиксовирусы, парамиксовирусы, коронавирусы и др., устроены таким образом, что их нуклеокапсид, имеющий палочковидную спиральную структуру, свернутую определенным

образом, окружен суперкапсидной липопротеиновой оболочкой, придающей вириону сферическую форму. Вирионы рабдовирусов содержат спиральный нуклеокапсид, образующий цилиндрическую структуру, покрытую липидсодержащим суперкапсидом, который придает вириону пулевидную форму (рис. 78, 8). У других вирусов, например у тогавирусов, нуклеокапсид имеет форму икосаэдра, который окружен суперкапсидной оболочкой, придающей вириону шаровидную форму. Вирион ретровирусов имеет икосаэдрический капсид, внутри которого располагается спиральный нуклеокапсид, а сам вирион покрыт липидсодержащей оболочкой, придающей ему сферическую форму.[28]

Наиболее сложное строение имеют самые крупные вирусы, относящиеся к семейству поксвирусов. Их вирионы имеют форму параллелепипеда (или овоидную), размером 300—450x170—260 нм. Вирионы покрыты внешней оболочкой, под которой располагаются сложное образование из тубулярных структур и внутреннее ядро, состоящее из ДНК-содержащей сердцевины и одного или двух боковых телец. Вирион содержит более 30 структурных белков и несколько ферментов. Таким образом, структура вириона у каждого семейства вирусов имеет отличительные особенности. В природе помимо вирусов обнаружены другие очень мелкие загадочные инфекционные агенты с необычными свойствами. К ним относятся вириды и прионы.[40]

Вириды. Название «вириды» было предложено в 1971 г. Т. Динером. Оно свидетельствует о том, что симптомы заболеваний, которые вызывают эти агенты у различных растений, похожи на симптомы заболеваний, вызываемых у них вирусами. Однако вириды отличаются от вирусов по крайней мере по следующим четырем признакам. Вириды, в отличие от вирусов, не имеют белковой оболочки и состоят только из инфекционной молекулы РНК. Они не обладают антигенными свойствами и поэтому не могут быть обнаружены серологическими методами[12].

Вироиды имеют очень малые размеры: длина молекулы РНК вироидов равна $1 \cdot 10^6$ мм, она состоит из 300—400 нуклеотидов. Вироиды — самые маленькие способные к размножению единицы, известные в природе.

Молекулы вироидов представляют собой одноцепочечные кольцевые РНК. Такую кольцевую структуру имеет еще только один вирус — вирус дельта-гепатита.

Молекулы РНК вироидов не кодируют собственных белков, поэтому их размножение может происходить либо аутокаталитически, либо с участием клетки-хозяина. Вопрос о природе, происхождении вироидов и о том, каким способом они распространяются, остается открытым. Существует предположение, что вироиды образуются из нормальных клеточных РНК, однако убедительных подтверждений этому не было представлено. [12]

Название «прионы» предложил открывший их в 1982 г. С. Прузинер. Прионы — низкомолекулярные, не содержащие нуклеиновых кислот белки, которые вызывают так называемые трансмиссивные губкообразные энцефалопатии. Последние выделены в особую группу медленных летальных прионных инфекций, для которых характерны очень длительный инкубационный период, медленно прогрессирующее течение, дегенеративные изменения в ЦНС, отсутствие признаков воспаления и выраженного иммунного ответа и летальный исход. [35]

Синтез прионов контролирует ген ргпР, который несет у человека 20-я хромосома. Установлено 18 различных мутаций этого гена, которые связаны с различными прионовыми болезнями. [2]

Прионы состоят из особого белка, который существует в виде двух изомеров. Один из них — нормальный клеточный прионовый протеин — изоформа PrP^c. Он состоит из 254 аминокислотных остатков и имеет м. м. 33—35 кД. PrP^L растворим в детергентах, чувствителен к действию протеинкиназы К. Он, как полагают, участвует в регуляции суточных циклов многих гормонов. У здоровых животных содержание его составляет 1 мкг/г ткани мозга (больше всего его в нейронах). [35]

Другой изомер прионового протеина PrP^{Sc} — аномальный, имеет такую же м. м. Он отличается от PrP^C вторичной структурой, устойчив к протеолизу, не растворяется детергентами, способен к самоагрегации / олигомеризации. Конверсия PrP^C в PrP^{Sc} происходит очень медленно, но ускоряется в присутствии экзогенного приона. Прионы PrP^{Sc} — возбудители прионных медленных инфекций. Содержание PrP^{Sc} в ткани мозга больных животных в 10 раз больше, чем у здоровых. [2]

Известны 12 нозологических единиц прионных болезней, из них 6 наблюдаются у животных (скрепи у овец, губкообразные энцефалопатии крупного рогатого скота, экзотических копытных и кошачьих, хроническое истощение у лосей и трансмиссивная энцефалопатия норки). Шесть болезней прионной этиологии описаны у человека. [35]

Таким образом, изучена классификация, химический состав и строение вирусов, структурная организация которых характеризуется наличием или отсутствием липопротеиновых оболочек и типом симметрии капсиды. В связи с этим выделяют две большие группы вирусов ДНК содержащие и РНК содержащие вирусы.

1.2. Биохимические и генетические особенности вирусных заболеваний.

1.2.1. Классификация и патогенез вирусных инфекций.

В основу классификации вирусных инфекций 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. [33]

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. Примером генерализованной инфекции является корь, а очаговой — заболевания, вызываемые респираторно-синцитиальным вирусом, и другие острые респираторные вирусные инфекции. [32]

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 атипичной 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. *perzistens* — упорство, постоянство).[31]

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.[35]

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.[35]

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.[35]

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 норок и скрепи у овец.[29]

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 — иммунопатологические механизмы (подострый склерозирующий панэнцефалит, алеутская болезнь норок, лимфоцитарный хориоменингит).[29]

Персистентные инфекции являются серьезной проблемой современной вирусологии и медицины. Большинство вирусов человека и животных способны персистировать в организме и вызывать латентные и хронические инфекции, 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.[30]

На клеточном уровне вирусные инфекции делят на автономные и интеграционные.

При автономной инфекции вирусный геном реплицируется независимо от клеточного генома. При интеграционной инфекции вирусный геном включается в состав клеточного генома, интегрируется с клеточным геномом и реплицируется вместе с ним. При интеграционной форме инфекции вирусный геном реплицируется и функционирует как основная часть клеточного генома. Интегрироваться могут как полный геном, так и часть генома. Интегрироваться могут как полный геном, так и часть генома. При гепатите В возможна интеграция полного генома, при аденовирусных и герпесвирусных инфекциях обычно интегрируется 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.[30]

При интеграционных инфекциях клетка может сохранить нормальные функции. При ее делении вирусные последовательности могут переходить в геном дочерних клеток. Это наблюдается при 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 характерен для ДНК-содержащих вирусов (аденовирусов, паповавирусов, вирусов герпеса, вируса гепатита В) и РНК-содержащих вирусов (ретро-вирусов).[31]

Клеточные инфекции делят на продуктивную и abortивную. Продуктивная инфекция завершается образованием инфекционного потомства. В результате abortивной инфекции не происходит образования инфекционных вирусных частиц или они образуются в значительно меньшем количестве, чем при продуктивной инфекции. Abortивная инфекция возникает в результате следующих причин: 1) Заражение чувствительных клеток дефектным вирусом; 2) заражение чувствительных клеток в не разрешающих условиях; 3) заражение нечувствительных клеток стандартным вирусом.

Продуктивная и abortивная инфекции могут протекать в виде острой или хронической инфекции. Острой называется инфекция, при которой после образования вирусного потомства клетка либо погибает, либо выздоравливает и не содержит вирусных компонентов. Хроническая инфекция- форма инфекции, при которой клетка продолжает продуцировать вирусные частицы или вирусные компоненты в течение длительного времени и передает эту способность дочерним клеткам. [36]

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. [36]

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 116 при некоторых инфекциях причины, обуславливающие вирулентность вируса, могут определить и возникновение инфекции. Например, вирулентность вируса гриппа в разных клеточных системах, обусловлена степенью нарезания гемагглютенина-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 определит вирулентность вируса в данной клеточной системе.[24]

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

Вирус проникает в организм разными путями, которые определяются локализацией чувствительных клеток в организме и механизмом передачи вирусов от одного хозяина к другому.[15]

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.[7]

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 ткани, эти вирусы обуславливают генерализованную инфекцию, часто со вторичным поражением дыхательных путей. К таким вирусам относятся вирусы натуральной и ветряной оспы, кори, свинки.[7]

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).

Некоторые вирусы проникают в организм через поврежденную или даже неповрежденную кожу, например, вирусы бешенства (при укусе животных), коровьей оспы, папилломы. Половым путем в организм проникают вирусы герпеса, бородавок человека (семейство паповавирусов). Парентеральный 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. [12]

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 месяца беременности. Поражения плода могут вызывать вирусы цитомегалии, простого герпеса, Коксаки и др. [14]

В организм вирусы распространяются лимфатическим системам. 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 1 лимфатических узлов после подкожной противооспенной I вакцинации, при кори и краснухе, инфицирование миндалин и аденоидной ткани при аденовирусной инфекции. Инфицированные лимфатические узлы могут быть вторичным очагом инфекции. [35]

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 g 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. [22]

Распространение вирусов герпеса в организме при опоясывающем герпесе происходит не только гематогенным, но и нейрогенным 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. 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). 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-синцитиальные вирусы (семейство парамиксовирусов), риновирусы, вирусы Коксаки и ЕСНО (семейство пикорна-вирусов), 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-синцитиальный вирус и вирус парагриппа типа 3.[35]

Вирусы, вызывающие гастроэнтериты. Большинство вирусов не вызывают первичной инфекции желудочно-кишечного тракта, поскольку они гибнут при контакте с кислой средой желудка и желчью двенадцатиперстной кишки. Однако есть вирусы, которые не разрушаются при этих условиях и вызывают первичные поражения слизистой оболочки пищеварительного тракта. [33]

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

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.[5]

Острые вирусные гастроэнтериты являются широко распространенной инфекцией, которая встречается как в эпидемической, так и эндемической форме. Эти инфекции 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.[26]

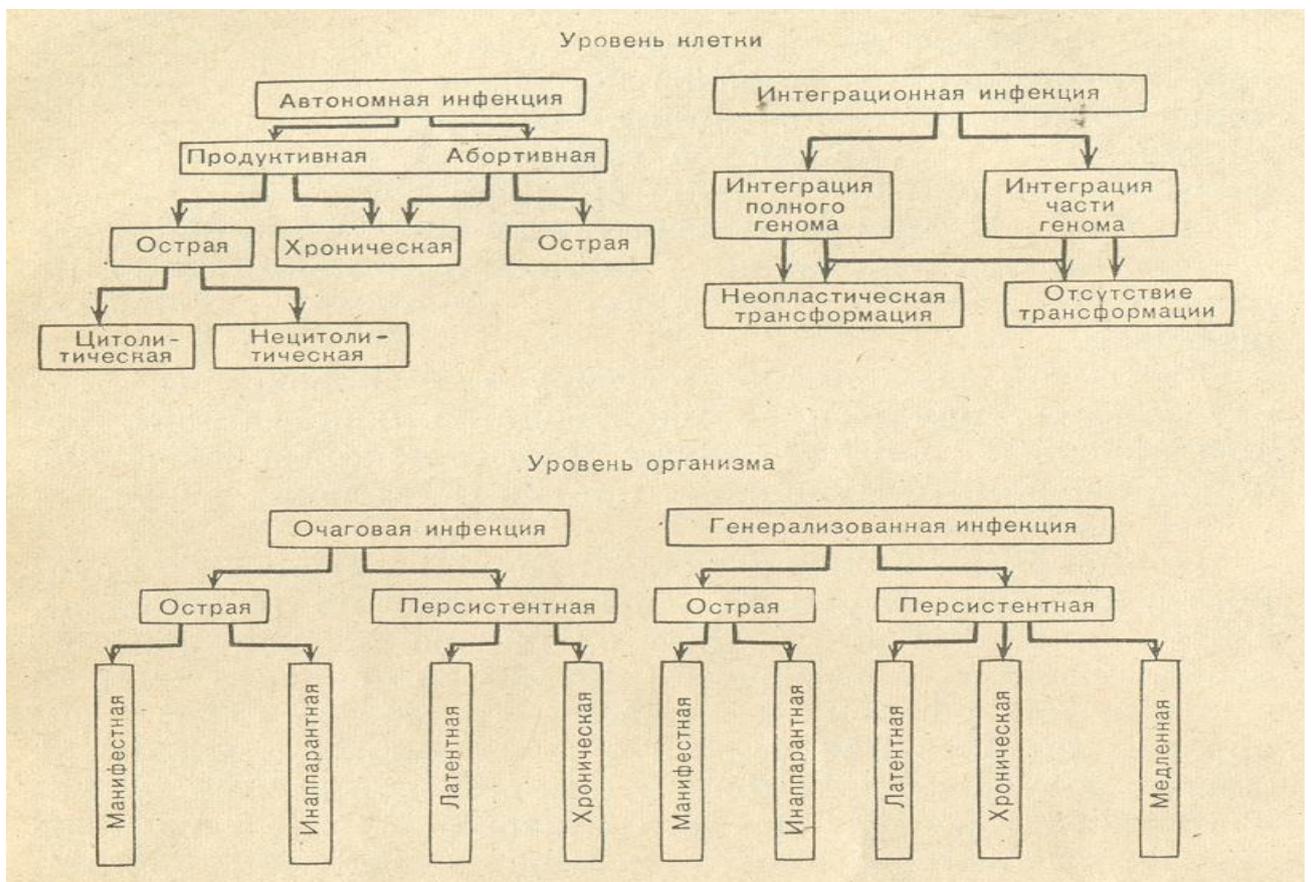
Основной трудностью в изучении этих вирусов является отсутствие адекватных методов их накопления и пассирования в лабораторных условиях. Для культивирования ротавируса человека требуются специальные условия, хотя ротавирусы животных сравнительно легко культивируются в культурах клеток. Вирус Норфолка, 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. [41]

Таким образом, вирусные инфекции разделяют на клеточном и организменном уровнях. На уровне клетки их можно разделить на автономные и интеграционные: на уровне организма их делят на очаговую и генерализованную, из которых наибольшую опасность представляют медленные инфекции.

Схема 1.1.

Классификация вирусных инфекций.



Классификация вирусных инфекций

1.2.2. Генетико-биохимические особенности вирусных инфекций.

В настоящее время вирусные инфекции вносят значительный вклад в общую картину инфекционной патологии. Большой интерес представляет изучение молекулярных механизмов трансформации клеток разными онкогенными вирусами, к числу которых можно отнести вирусы герпеса и гепатита. К особенностям опухолеродных вирусов относят простоту их генетической структуры, что позволяет изучать механизмы клеточной трансформации и малигнизации. Онкогенные вирусы внедряют в инфицированную клетку свой геном, трансформирующие гены которых вызывают изменения в клетках. В настоящее время известно около 40 вирусов, вызывающих лейкозы, рак и саркому у хладнокровных (лягушки), пресмыкающихся (змеи), птиц (куры) и млекопитающие (мыши, крысы, хомяки, обезьяны). При введении таких вирусов здоровым животным закономерно наблюдается развитие злокачественного процесса. В случае с трудностями подбора подходящего лабораторного животного для работы с вирусами – кандидатами на роль возбудителей рака и лейкоза человека. Онкогенные вирусы малоактивны. Они не способны разрушать клетку, но могут вызвать в ней наследственные изменения, причем опухолевые клетки не нуждаются в вирусах. В уже возникших опухолях вирусы часто не обнаруживаются. После заражения клеток онкогенными вирусами такие клетки сохраняют нормальный вид и признаков болезни обнаружить не удастся. При этом вирусы в клетках словно исчезают. В составе онкогенных РНК-содержащих вирусов обнаружен специальный фермент - обратная транскриптаза, осуществляющая синтез ДНК-копий на РНК-матрицах. После возникновения ДНК-копий они объединяются с ДНК клеток и передаются их потомству. Эти провирусы можно обнаружить в составе ДНК клеток животных, зараженных опухолевыми вирусами. Поэтому они должны быть и в организме человека. [35]

В результате интеграции вирусы долгое время не проявляют себя. При изучении оказывается, что присутствие вирусов можно обнаружить по

появлению новых антигенов на поверхностях клеток (поверхностные антигены). Клетки, содержащие в своем составе онкогенные вирусы, трансформируются, приобретают способность к безудержному росту, что является признаком злокачественности. Предполагается что трансформацию вызывает специальный белок, который закодирован в геноме вируса. Беспорядочное деление приводит к образованию очагов, или фокусов, трансформации. Когда это происходит в организме, возникает предрак. Появление на клеточных мембранах поверхностных опухолевых антигенов делает их «чужими» для организма, и они начинают распознаваться иммунной системой как мишень. [23]

Опухоли чаще возникают у пожилых людей, когда иммунная система становится менее активной. Возможно, скорость деления трансформированных клеток, которая носит безудержный характер, обгоняет иммунный ответ. Онкогенные трансформирующие вирусы подавляют иммунную систему или обладают иммуносупрессорным действием. Изучение опухолеродных вирусов позволило выявить в их составе онкогены – раковые гены, вследствие деятельности которых нормальные клетки в опухолевые. Онкогенные (опухолеродные) вирусы, согласно их молекулярной структуре генома, подразделяются на две категории: первая, содержащая в качестве генома ДНК; вторая – РНК. Онкогенные вирусы, обладающие ДНК-геномом, распределены по нескольким группам и обладают онкогенными свойствами .

Такие вирусы способны индуцировать опухоли у позвоночных, а также трансформировать культуры клеток. Они являются обязательной составной частью генетического аппарата вирусов и выполняют функции, необходимые для размножения самих вирусов. К ДНК-содержащим онкогенным вирусам относятся паповавирусы, аденовирусы, герпесвирусы и вирусы гепатита (гепаднавирусы). Онкогенные РНК- содержащие вирусы являются членами одного семейства – ретровирусов, которые не нужны для размножения вирусов. Они нередко делают их дефектными, неспособными к размножению

без вируса – помощника. Это семейство включает все вирусы, имеющие в качестве генома РНК и содержащие фермент РНК - зависимую ДНК-полимеразу (обратную транскриптазу). Эти онкогены имеют клеточное происхождение (и в нормальной клетке имеются гены, сходные с вирусными онкогенами). Поэтому их нередко называют протоонкогенами. В связи с тем, что геном онкогенных вирусов входит в состав клеточного генома (интегрирует с ним), то интеграция является обязательной стадией размножения опухолевых РНК – содержащих вирусов (онковирусов). В ходе репликации (размножения) геном онковируса может захватывать близлежащие клеточные гены, которые становятся вирусными онкогенами. [25]

Подобные процессы происходят и без участия вирусов, роль которых выполняют блуждающие гены, или транспозоны, имеющиеся в нормальных клетках. Они могут перемещаться в разные места генома. Их важной особенностью является наличие особых структур – промоторов, стимулирующих транскрипцию соседних с ними генов. При перемещении они могут захватывать соседние гены и перемещать их в соседние участки генома.

Таким образом, транспозоны могут либо переносить клеточные гены в необычные для них места, либо с помощью промоторов заставлять функционировать «молчащие гены». Эти гены играют важную роль в нормальной жизнедеятельности клеток (включая размножение), то перенос их в новое место или под сильный промотор (стимулятор синтеза и-РНК для синтеза соответствующих белков) резко нарушает жизнедеятельность клеток. При этом вирусные клеточные онкогены, происходящие от нормальных клеточных генов, претерпевают изменения вследствие мутации. Все ретровирусы имеют общие химические, биофизические и морфологические свойства, относящие их к одному семейству. Вирионы разных групп ретровирусов содержат 60-70% белков: в их числе продукты генов (gag-внутренние структурные белки, pol – обратная транскриптаза и env – белки

вирусной оболочки) ; 35-40 % липидов (происходящих из клеточной мембраны); 2-4% углеводов и 1% РНК. По ультраструктуре (морфологии) ретро-вирусы подразделяются на четыре типа А, В, С и D. Геномная РНК ретро-вирусов («плюс» -цепь РНК или положительный геном) представляет собой 60-70 Б-димерный комплекс двух идентичных субъединиц размером 8-10 тысяч оснований, которые по своей структуре соответствуют молекуле и-РНК. В 60-70 Б-комплекс входят две молекулы клеточной т-РНК. [33]

Для того, чтобы различать определенные трансформирующие элементы вирусного генома, используют трехбуквенные обозначения каждого из онкогенов. Обозначения трансформирующих последовательностей происходит от названия вируса, в котором впервые они были обнаружены, и не означает их специфичности для клетки-мишени или функции онкобелка. Родственные, но неидентичные вирусные онкогены часто обнаруживаются в независимых вирусных изоляторах, поэтому их названия соответствует первоисточнику, к которому добавляется лишь сокращенное наименование вирусного штамма. Вирусные и родственные им клеточные последовательности обозначают: “V” – вирусный и “C” – клеточный онкогены; вирусные и клеточные трансформирующие последовательности обозначают: Онк-ген или онкоген (то есть вирусный) или протоонкоген – его клеточный «родственник». Все индуцируемые вирусными онкогенами неопластические процессы имеют следующие патоморфологические характеристики: а) саркомы, возникающие из соединительно-тканых (мезенхимальных) элементов; б) лейкозы, связанные с трансформацией гемопоэтических клеток; в) карциномы (рак молочной железы у мышей).[33]

В настоящее время выделены три группы онкогенных вирусов, являющихся этиологическими факторами неопластических заболеваний человека .Это ретро-вирус Т лимфолейкоза взрослых людей, а также герпес-вирусы и вирусы гепатита В.[13]

1.2.3.Классификация и генетические особенности инфекционного процесса вирусов гепатита.

Вирусные гепатиты — группа заболеваний с общими клиническими синдромами — представляют собой серьезнейшую глобальную проблему. Только гепатитом А ежегодно в странах СНГ заболевало более 1 млн человек. Сколько человек ежегодно инфицируется вирусом гепатита В, сказать трудно во всяком случае не менее 50 млн человек. Если еще несколько лет тому назад в мире насчитывалось примерно 200 млн **носителей** вируса гепатита В, то теперь, по данным ВОЗ, носителей вируса гепатита В в мире более 2 млрд человек. Гепатит А занимает по уровню заболеваемости и причиняемому экономическому ущербу одно из первых мест среди инфекционных болезней человека.[12]

Впервые инфекционный гепатит был выделен в самостоятельную нозологическую единицу в 1888 г. выдающимся русским врачом С. П. Боткиным. Он сумел дифференцировать инфекционный гепатит (катаральную желтуху) от других болезней печени, сопровождающихся желтухой. Поэтому в нашей стране инфекционный гепатит в течение многих десятилетий называли болезнью Боткина. Заражение инфекционным гепатитом происходит фекально-оральным путем. Однако, начиная с 30-х гг. XX в., а именно, после того как начались массовые заболевания желтухой среди привитых против желтой лихорадки, стало ясно, что существуют две этиологически и эпидемиологически разные формы гепатита; одну из них называли инфекционным гепатитом, а другую — сывороточным, поскольку заражение в последнем случае связывали с парентеральными манипуляциями. Следует сказать, что название «сывороточный гепатит» явно не совсем удачное, так как последний тоже является инфекционным заболеванием, как и инфекционный гепатит. Поэтому еще в 1947 г. Ф. МакКаллум предложил называть инфекционный гепатит гепатитом А, а сывороточный гепатит — гепатитом В. Это предложение было узаконено ВОЗ только в 1973 г.[15]

В 1974 г. была выделена еще одна форма вирусного гепатита, а именно гепатит ни А ни В, а в 1977 г. был обнаружен возбудитель дельта-гепатита. Тот факт, что инфекционный и сывороточный гепатиты вызываются вирусами, был установлен давно в опытах на добровольцах, однако их истинные возбудители были обнаружены в 70-х гг. XX в. Это обусловлено тем, что, во-первых, указанные вирусы долгое время не удавалось выращивать в культурах клеток, во-вторых, долгое время не могли обнаружить восприимчивых к ним животных.[17]

Вирусный гепатит А — инфекционная болезнь человека, характеризующаяся преимущественным поражением печени и проявляющаяся клинически интоксикацией и желтухой. Вирус гепатита А был обнаружен в 1973 г. С. Фейнстоном с помощью метода иммунной электронной микроскопии и путем заражения обезьян - шимпанзе и мармозеток.

Вирус гепатита А имеет сферическую форму, диаметр вириона — 27 нм. Геном представлен однонитевой позитивной РНК с м. м. 2,6 МД. Суперкапсид отсутствует. Тип симметрии кубический — икосаэдр. Капсид имеет 32 капсомера, он образован четырьмя полипептидами (VP1—VP4). По своим свойствам вирус гепатита А отнесен к роду *Heparnovirus*, семейству *Picornaviridae*. В антигенном отношении вирус гепатита А (HAV — *hepatitis A virus*) является однородным. HAV хорошо размножается в организме шимпанзе, павианов, гамадрилов и игрунковых обезьян (мармозеток). Длительное время вирус не умели культивировать. Лишь в 1980-х гг. удалось получить культуры клеток, в которых HAV размножается. Вначале для этих Целей использовали перевиваемые линии клеток почки эмбриона макака-резус (культура FRhK-4), а сейчас — перевиваемую линию клеток почек зеленых мармышек (культура 4647).[13]

Гепатит В — инфекционное заболевание человека, характеризующееся избирательным поражением печени вирусом. Эта форма гепатита является

наиболее опасной по своим последствиям среди всех известных форм вирусных гепатитов. Его возбудителем является вирус гепатита В (HBV).

Впервые антиген вируса гепатита В был обнаружен Б. Блумбергом в 1964 г. в сыворотке крови австралийского аборигена, а сам возбудитель был обнаружен в 1970 г. Д. Дейном и получил название частиц Дейна, поскольку не было полной уверенности в том, что это действительно вирус, а не его компоненты. В последующем все сомнения отпали, так как в составе частиц Дейна были обнаружены геномная ДНК и вирусная ДНК-зависимая ДНК-полимераза. В составе вириона имеются три основных антигена, для которых в 1974 г. были введены следующие обозначения:[13]

Поверхностный антиген — HBsAg — существует в виде трех морфологически различных вариантов: 1) представляет суперкапсид цельного вириона; 2) в большом количестве встречается в виде частиц диаметром 20 нм, имеющих сферическую форму; 3) в виде нитей длиной 230 нм. Химически они идентичны. В составе HBsAg имеется один общий антиген *a* и две пары взаимоисключающих типоспецифических детерминантов: *A/y* и *w/r*, поэтому существуют четыре основных субтипа HBsAg (и соответственно HBV): *adw*, *adr*, *ayw* и *ayr*. Антиген *a* обеспечивает формирование общего перекрестного иммунитета ко всем субтипам вируса.

Собственно вирион — частица Дейна — имеет сферическую форму и диаметр 42 нм. Суперкапсид вириона состоит из трех белков: главного (основного), большого и среднего. Геном заключен в капсид и представлен двунитевой кольцевидной ДНК с м. м. 1,6 МД. ДНК состоит приблизительно из 3200 нуклеотидов, однако ее «плюс»-нить на 20—50 % короче «минус»-нити. С 5'-концом длинной нити ковалентно связан вирусспецифический белок. 5'-концы обеих нитей комплементарны и образуют «липкие» последовательности длиной в 300 нуклеотидов, благодаря чему нити замыкаются в кольцо. Содержание Г + Ц в вирионной ДНК 48—49 мол %. В сердцевине вириона находится кроме геномной ДНК-вирусная ДНК-зависимая ДНК-полимераза. «Минус»-нить ДНК HBV содержит всего четыре

гена (S, C, P и X), но они организованы очень компактно. Гены S, C, P, X сильно перекрываются и контролируют синтез следующих продуктов. Ген S кодирует синтез главного белка оболочки и содержит всю информацию о поверхностном антигене HBsAg. Кроме того, он кодирует синтез среднего и большого белков оболочки. Белки содержат общий COOH-конец, но их трансляция начинается с трех различных инициаторных кодонов. Ген C кодирует синтез капсидных белков (HBcAg и HBeAg); хотя эти белки кодируются одним геном, пути их трансляции различны. Ген P — самый большой. Он включает в себя часть всех трех других генов и кодирует ферменты, необходимые для репликации вируса. В частности, он кодирует обратную транскриптазу, домен фермента РНК-азы H, 5'-концевой белок «минус»-цепи. Ген X кодирует белки, регулирующие экспрессию (выражение) всех вирусных генов, в частности белок с м. м. 17 кД, который является трансактиватором транскрипции генов.[35]

Белки, образующие поверхностный антиген, существуют в гликозилированной (gp) и негликозилированной форме. Гликозилированными являются gp27, gp33, gp36 и gp42 (цифры обозначают м. м. в кД). Суперкапсид HBV состоит из главного, или основного, S-белка (92 %); среднего M-белка (4 %) и большого, или длинного, L-белка (1 %).

Главный белок — p24/gp27, или основной белок (белок S), является основным компонентом оболочки HBV. В отсутствие других оболочечных белков он полимеризуется и образует сферические частицы диаметром 20 нм, которые состоят из 100 полипептидных молекул. *Большой белок* — p39/gp42, или длинный белок (белок L), присутствует во всех трех формах HBsAg. Он играет важную роль в морфогенезе вирионов и в выходе их из клетки. L-белок содержит последовательность белка M, которая на N-конце дополнена последовательностями из 108 (ayw) или 119 (adw, adr, ауг) аминокислотных остатков, кодируемых пре-S1-областью S-гена.

Средний белок — gp33/gp36, или белок M, также присутствует во всех трех морфологических формах HBsAg. Белок M содержит на N-конце

участок из 55 аминокислотных остатков, кодируемых пре-52-областью S-гена. Предполагается, что этот участок играет важную роль в распознавании вирусом гепатита В клеток печени ограниченного круга хозяев (человек, обезьяна шимпанзе). Последовательности белков, кодируемых пре-S-областями S-гена, обладают высокой иммуногенностью, а их детерминанты расположены на поверхности вириона. Поэтому антитела против этих антигенов играют важную роль в формировании иммунитета против гепатита В.[18]

Синтез вирусных белков жестко контролируется на уровне транскрипции и трансляции. При транскрипции вирусного генома синтезируются два типа мРНК:

а) меньшая — 2100 нуклеотидов — кодирует главный и средний белки оболочки;

б) большая — 3500 нуклеотидов, т. е. длиннее самой геномной ДНК; она содержит концевые повторы длиной 100 нуклеотидов. Этот вид мРНК кодирует белок капсида и продукты гена Р. Она также является матрицей для репликации вирусной ДНК. В составе генома есть энхансеры (усилители транскрипции) — регуляторные элементы, которые активируют экспрессию всех вирусных генов и действуют преимущественно в клетках печени. В частности, ген S экспрессируется на очень высоко. Другие регуляторные элементы вируса гепатита В модулируют (контролируют) уровни синтеза отдельных белков. Например, большой белок синтезируется лишь в малом количестве. Больше всего его на поверхности инфекционных вирионов. А главный белок и, в меньшей степени, средний белок синтезируются в огромном количестве и покидают клетки в составе частиц поверхностного антигена, которых в сыворотке крови содержится во много раз больше, чем зрелых вирионов. Количество частиц поверхностного антигена может составлять 10^{11} — 10^{13} на 1 мл крови (несколько сотен мкг).[25]

Вирус гепатита В выделен в новое семейство вирусов — *Hepadnaviridae*, род *Orthohepadnavirus*. Сходные с ним гепаднавирусы обнаружены у различных животных (земляных белок, сурков, бурундуков, пекинских уток).[25]

Репродукция гепаднавирусов происходит несколько необычным образом. В частности, репликация геномной ДНК происходит через промежуточное звено — РНК, т. е. с механизмом обратной транскрипции.[16]

Вирус проникает в клетку с помощью механизма рецепторопосредованного эндоцитоза (окаймленная ямка -> окаймленный пузырек -> лизосома -> выход нуклеокапсида и проникновение вирусного генома в ядро гепатоцита). В ходе проникновения в клетку происходит удлинение (дотраивание) короткой («плюс») цепи ДНК. В ядре клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует РНК размером 3500 нуклеотидов (прегеном) и мРНК, меньшие по размерам, для синтеза вирусных белков. Затем прегеном и вирусная ДНК-полимераза упаковываются во вновь синтезированный капсид, который переносится в цитоплазму. Здесь и происходит обратная транскрипция прегенома. На нем синтезируется новая «минус»-нить ДНК. После завершения синтеза «минус»-нити ДНК прегеномная РНК разрушается. Вирионная ДНК-полимераза на «минус»-цепи синтезирует «плюс»-цепь. Вирусная ДНК, теперь уже двухцепочечная, может существовать в клетке довольно долго и возвращаться в ядро для следующего цикла репликации. Если новая вирусная частица не подвергается дальнейшей репликации, то сформировавшийся нуклеокапсид, проходя через мембрану клетки, покрывается суперкапсидом, отпочковывается от клетки, и в нем немедленно прекращается удлинение короткой «плюс»-цепи ДНК. Вот почему длина этой нити варьирует. При типичной острой форме гепатита В в крови последовательно появляются следующие серологические маркеры: HBsAg, HBeAg и антитела (IgM, IgG): анти-HBsAg, анти-HBeAg и анти-HBsAg.[15]

В составе вируса гепатита В нет онкогена, однако установлено, что, внедряясь в клеточную хромосому (в разные ее участки), вирусная ДНК может индуцировать в них различные генетические перестройки — делеции, транслокации, амплификации, которые и могут стать причиной развития рака печени — одного из самых тяжелых последствий вирусного гепатита В. [17]

Вирус гепатита Е (HEV) имеет сферическую форму, диаметр 27—34 нм, тип симметрии нуклеокапсида икосаэдрический, наружной оболочки нет. Геном представлен одноцепочечной нефрагментированной позитивной РНК из 7500 оснований, содержит три открытые рамки считывания, кодирующие вирусспецифические белки. На поверхности вириона имеются вдавления, напоминающие чаши (греч. *calyx*), поэтому первоначально вирус был включен в семейство *Cahciviridae* (род *Hepavirus*). Более подробное изучение генома HEV показало, что нуклеотидная последовательность его РНК уникальна и имеет лишь некоторое сходство с вирусом краснухи. HEV имеет и ряд других существенных отличий от калицивирусов. Поэтому в 1998 г. было решено исключить его из семейства *Cahciviridae* и отнести его к неклассифицированным вирусам. Возможно, что это самостоятельный вид отдельного семейства. [21]

Источник инфекции — только человек, возбудитель выделяется с испражнениями. Механизм заражения — фекально-оральный. Основной путь заражения — через загрязненную испражнениями воду. Заражающая доза по сравнению с вирусом гепатита А существенно выше. Восприимчивость к вирусу HEV всеобщая. Эпидемии могут охватить десятки тысяч людей при нарушении питьевого режима, особенно во время сезонных работ летом и осенью. [25]

Клинически болезнь протекает легче, чем гепатит А, перехода в хроническую форму не отмечено. У 85—90 % больных гепатит Е протекает в легкой или средней тяжести форме, часто бессимптомно. Однако у беременных женщин гепатит Е протекает тяжело — с летальностью до 20 %.

Для диагностики используют метод иммунной электронной микроскопии; предложена тест-система для обнаружения антител к антигенам HEV. Постинфекционный иммунитет прочный, пожизненный, обусловлен вируснейтрализующими антителами и клетками иммунной памяти. Для специфической профилактики предложена цельновиральная вакцина и разрабатываются живые и рекомбинантные вакцины. [13]

Вирус гепатита С (HCV) относится к семейству *Flaviviridae*, роду *Hepacivirus*; имеет суперкапсид, форма сферическая, диаметр 55—65 нм. Геном представлен однонитевой нефрагментированной РНК позитивной полярности длиной 9500—10 000 нуклеотидов. Образующийся при репликации вируса полипротеиновый предшественник разрезается клеточной и вирусной протеазами на белки: С (нуклеопротеин), 2 белка оболочки и 6 неструктурных белков, необходимых для регуляции репродукции вируса. Вирус отличается высокой изменчивостью всех генов. Известно до 14 геновариантов и более 50 их подтипов. Геновариант вируса определяет течение инфекции, переход ее в хроническую форму и в последующем — развитие цирроза и карциномы печени. Наиболее опасны геноварианты 1b и 4a. В России циркулируют генотипы 1b, 2a, 2b и 3a. Вирус гепатита С распространен повсеместно. По данным ВОЗ, около 1 % населения планеты инфицировано HCV. Источником инфекции является только человек. Вирус у больных и носителей обнаруживается в 100 % случаев в крови (2/3 всех посттрансфузионных гепатитов вызывает HCV), в 50 % — в слюне, в 25 % — в сперме, в 5 % — в моче. Это определяет пути заражения. [14]

Клиническое течение гепатита С легче, чем гепатита В. Вирус С называют «мягким убийцей». Желтуха наблюдается в 25 % случаев; до 70 % случаев заболевания протекают в скрытой форме. Независимо от тяжести течения в 50—80 % случаев гепатит С принимает хроническую форму, а у таких больных в 20 % случаев впоследствии развиваются цирроз, карцинома. В опытах на мышах установлено, что вирус гепатита С помимо гепатоцитов может поражать и нервные клетки, вызывая тяжелейшие последствия. Вирус

в культуре клеток размножается плохо, поэтому диагностика его затруднена. Это один из немногих вирусов, для которых определение РНК — единственный способ идентификации.[18]

Вирус гепатита G (HGV) открыт в 1995 г., относится к семейству *Flaviviridae* (род *Hepacivirus*). Геном вируса G — одноцепочечная нефрагментированная позитивная РНК длиной 9500 оснований. Структурная организация генома вируса G подобна таковой HCV. Геном содержит одну большую рамку считывания, которая кодирует полипротеин-предшественник, содержащий около 2800 аминокислотных остатков. Он разрезается клеточной и вирусной протеазами с образованием двух структурных и не менее пяти неструктурных белков. Гены, кодирующие структурные белки (сog и env), прилегают к 5'-концу вирусной РНК, а гены неструктурных белков (хеликазы, протеазы, полимеразы) — к 3'-концу. Установлено, что неструктурные гены HGV сходны с генами вируса гепатита С, а также вирусов GBV-A и GBV-B. Все эти вирусы выделены в один род *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae*. По строению структурных генов HGV не имеют ничего общего с GBV-A и HCV и лишь отдаленно напоминают GBV-B. Вирус гепатита G оказался идентичным вирусу GBV-C, выделенному также при изучении субпопуляции вирусов GBV от обезьян тамаринов, через которых пассировали РНК-вирус от больного острым гепатитом неустановленной этиологии, имевшего инициалы GB; в честь него все эти вирусы и получили название вирусов гепатита GBV-A, GBV-B, GBV-C. Вирус HGV (GB-C) имеет дефектный cog-белок и обладает менее выраженной изменчивостью, чем HCV. Выделено 3 типа и 5 субтипов генома HGV. Доминирует генотип 2a, в том числе и на территории России, Казахстана и Киргизии. Маркеры вируса G обнаружены у 2 % населения этих стран. Вирус G обнаруживается в разных странах мира у 1-2 % доноров крови, т. е. чаще, чем вирус гепатита С. Подобно гепатоцитным вирусам HBV/HCV этот вирус способен к персистенции, но реже ведет к хронической патологии, и протекает эта персистенция, вероятно, по типу здорового

носительства. Острые клинические проявления гепатита G также менее тяжелы, чем при гепатитах В и С. Для диагностики гепатита G используют ЦПР и ИФМ.[22]

Вирус открыт японским ученым Т. Нисизавой (Т. Nishizava) [и др.] в 1997 г. в сыворотке больного (ТТ — инициалы больного), но не в виде вириона, а как фрагмент его геномной однонитевой кольцевидной минус-ДНК размером 2,6 кД. Вирион диаметром 30—50 нм лишен липидной оболочки, капсид имеет кубический тип симметрии. ДНК содержит три открытые рамки считывания и нетранслируемый участок, содержащий много инвертированных повторов, за счет которого и происходят внутригеномные перестройки. Дифференцировано более 16 генотипов. Вирус идентифицирован как первый представитель нового семейства *Circinoviridae*. Диагностика основана на выявлении вирусной ДНК с помощью ПЦР. Вирусоносительство среди населения достигает 80 % и обнаруживается у 15—30 % людей с заболеваниями печени. Вирус способен размножаться в гепатоцитах, передается гемотрансфузионно и фекально-оральным путем. Однако вопрос о том, действительно ли вирус ТТ является возбудителем гепатита, остается открытым; высказываются различные версии. К числу возможных возбудителей гепатита относится также группа SEN-вирусов (SENV) (SEN-A—SEN-H).[23]

Таким образом, вирусные гепатиты – инфекционные болезни, которые характеризуются специфическим клиническим развитием и в разной степени нарушают функции печени. Наиболее опасные формы вирусных гепатитов В, С, D, для которых характерно острое и хроническое течение, что является первичными причинами цирроза и рака печени.

2. Материал и методы исследований.

2.1. Место проведения исследований. Исследования проводились в биохимической лаборатории инфекционной больницы 1. Самарканда.

2.2. Материал исследования. Материалами исследования служила периферическая кровь 10 взрослых людей с диагнозом гепатит А, гепатит В, взятых для проведения биохимических исследований.

2.3. Методы исследования.

Биохимические исследования проводились следующими методами:

2.3.1. Гемиглобин-цианидный метод. Основан на превращении гемоглобина в циан-метгемоглобин (стойкое соединение) при добавлении к крови реактива. Концентрацию циан-метгемоглобина измеряют фотометрически. Его принцип сводится к следующему: гемоглобин, взаимодействуя с ацетон-циан-гидрином, в присутствии железосинеродистого калия $K_3[Fe(CN)_6]$ образует гемиглобин-цианид красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию гемоглобина в пробе крови. Образующийся с ацетон-циан-гидридом окрашенный циан-метгемоглобин (гемиглобин-цианид) определяют колориметрически. Для этого в пробирку к 5 мл трансформирующего раствора, содержащего указанные реактивы (железосинеродистый калий и ацетон-ангидрид), добавляют 0,02 мл крови. При этом кровь разводится в 251 раз. Оставляют пробирки на 10 мин при комнатной температуре. Фотометрируют при зеленом светофильтре (длина волны 500—560 нм) в кювете с толщиной слоя 10 мм против дистиллированной воды. Стандартный раствор фотометрируют при тех же условиях, что и опытную пробу. Приготовленные разведения фотометрируют против дистиллированной воды («холостая» проба).

Концентрацию гемоглобина крови рассчитывают по формуле:

$$Hb = \frac{E_{оп}}{E_{ст}} * C * K * 0,01$$

где $E_{оп}$ — экстинкция опытной пробы;

$E_{ст}$ — экстинкция стандартного раствора;

С—концентрация гемиглобинцианида в стандартном растворе, мг%;

К—коэффициент разведения крови;

0,01—коэффициент для пересчета в мг/% в г/л.

2.3.2. Метод подсчета эритроцитов в счетной камере. В строго определенном объеме камеры подсчитывают под микроскопом клеточные элементы, а затем производят пересчет полученного результата на 1 мкл крови. Кровь предварительно разводят с целью уменьшения числа клеток, подлежащих счету. Самым удобным и достаточно точным является способ разведения крови в пробирки. Для этого берут 0,02 мл крови, разведенной в 200 раз в 4,0 мл изотонического раствора натрия хлорида. Перед заполнением камеры взвесью крови в изотоническом растворе содержимое пробирки несколько раз встряхивают. Пипеткой набирают небольшой объем взвеси крови и выпускают 1–2 капли на фильтровальную бумагу. После этого подносят каплю разведенной крови к краю покровного стекла, следя за тем, чтобы кровь равномерно заполняла всю поверхность камеры с сеткой, не затекая в боковые бороздки. После заполнения камеры ее оставляют на 1–2 минуты в горизонтальном положении для оседания эритроцитов. Подсчет эритроцитов проводят при малом увеличении микроскопа (например объектив 8х, окуляр 10х), в несколько затемненном поле зрения (при закрытой диафрагме и опущенном конденсоре). Эритроциты подсчитывают в 5 расположенных по диагонали сетки квадратах, разделенных на малые, т. е. в 80 малых квадратах. Количество эритроцитов в 1 мкл (1 мм^3) крови рассчитывают по следующей формуле $X = a \times 10^4$, т.е. количество эритроцитов в 1 мкл (X) равно числу форменных элементов крови, подсчитанных в 80 малых квадратах, умноженному на 104 [39].

2.3.3. Микро-метод в модификации Панченкова – для определения СОЭ. Принцип метода состоит в том, что смесь крови с цитратом при стоянии разделяется на два слоя: нижний – эритроциты, верхний – плазма. При этом СОЭ, т.е. величина столбика плазмы, бывает различной в зависимости от изменения физико-химических свойств крови. Для определения СОЭ перед

использованием химически чистый капилляр промывают цитратом натрия и заполняют им пробирку на $\frac{1}{4}$ (до метки 0,75). Кровью набирают полный капилляр и переносят в пробирку с цитратом. При этом получают соотношение крови и цитрата 4:1. Перемешивают содержимое пробирки и набирают до метки 0 смесь крови и цитрата. Капилляр устанавливают в штатив строго вертикально. Через час отмечают скорость оседания эритроцитов по высоте отстоявшегося слоя плазмы в миллиметрах. хъ

2.3.4. Метод подсчета в камере Горяева и подсчета в мазках крови по Фанио – используются при подсчете количества тромбоцитов. Для подсчета тромбоцитов в камере исследуемую кровь разводят в 200 раз, для чего в сухую пробирку наливают 4 мл 1% раствора оксалата аммония. Перемешивают и оставляют на 25-30 минут для гемолиза эритроцитов и затем заполняют счетную камеру. Производят подсчет тромбоцитов в 25 больших квадратах. Расчет производят по формуле: $X = a * 2000$, где X – число тромбоцитов в 1 мкл крови; а – число тромбоцитов, сосчитанных в 25 больших квадратах. Метод подсчета тромбоцитов по Фанио основан на подсчете числа тромбоцитов в окрашенных мазках крови на 1000 эритроцитов с расчетом на 1 мкл (или 1 л) крови, исходя из содержания в этом объеме количества эритроцитов. Капилляр Панченкова промывают 14% раствором сульфата магния или 6% раствором этилендиаминтетраацетата натрия (ЭДТА). Набирают реактив до метки 75 и переносят его в серологическую пробирку. Кровь из пальца берут тем же капилляром до метки 0 и перемешивают ее с реактивом. Одновременно берут кровь для подсчета эритроцитов. Из смеси крови с реактивом готовят тонкие мазки, высушивают их на воздухе, подписывают, фиксируют и окрашивают краской Романовского в течение 1—2 ч, Краску смывают водопроводной водой, мазки высушивают на воздухе. При окраске по Романовскому тромбоциты окрашиваются в фиолетовый цвет, эритроциты — в розовый. Окрашенный мазок микроскопируют с иммерсионной системой (ок. 7 или 10, об. 90), конденсор поднят, диафрагма открыта. Иммерсионное масло наносят на край

мазка в наиболее тонкой его части, ближе к «метелочке». Подсчет эритроцитов и тромбоцитов ведут одновременно, при этом прибегают к ограничению поля зрения, для чего в окуляр вкладывают кружок из черной бумаги с прорезанным посередине его ромбическим отверстием. В ограниченном поле зрения должно быть видно около 50 эритроцитов. Среди них располагаются отдельные тромбоциты, которые встречаются не в каждом поле зрения. Сосчитав 1000 эритроцитов, суммируют общее количество встретившихся тромбоцитов. Определяют количество эритроцитов в 1 л крови. Количества тромбоцитов рассчитывают по формуле $X = a \cdot v / 1000$, где x —количество тромбоцитов в 1 л крови; a —количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов; v —количество эритроцитов в 1 л крови.

2.3.5. Подсчет лейкоцитов в счетной камере Горяева – используют для подсчета количества лейкоцитов. Каплю крови, разведенной в 20 раз раствором уксусной кислоты, помещают в подготовленную счетную камеру Горяева. Заполненную камеру оставляют на 1 минуту для оседания лейкоцитов, а затем устанавливают на столик микроскопа и при малом увеличении подсчитывают лейкоциты в 100 больших квадратах сетки Горяева, не разделенных на малые квадраты и полосы. Расчет общего количества лейкоцитов проводят по формуле $X = a \times 50$, т.е., количество лейкоцитов в 1 мкл равно числу клеток, посчитанных в 100 больших квадратах, умноженному на 50. Подсчет лейкоцитарной формулы (процентное соотношение различных видов лейкоцитов в периферической крови) проводят при иммерсионной микроскопии окрашенных по Романовскому-Гимзе (смесь краски азур II, водорастворимого эозина, метиленового спирта и эозина) мазков. Эта окраска позволяет хорошо дифференцировать ядро и цитоплазму. Микроскопию мазков проводят по следующей методике. Мазок передвигают от верхнего края к нижнему, затем отодвигают на 2–3 поля зрения вдоль края и идут в обратном направлении до верхнего края и т. д. Идентифицируют и подсчитывают не менее 100 лейкоцитов. Если при этом обнаруживаются какие-либо отклонения от

нормы (появление дегенеративных форм клеток, не выявляемых у здорового человека, изменение нормального соотношения различных типов лейкоцитов), обязательно просматривают еще 100 лейкоцитов по описанной методике. Полученные результаты регистрируют с помощью клавишного счетчика [39].

Для изучения генетических особенностей заболеваемости использовался генеалогический метод, который позволяет преодолеть сложности, возникающие в связи с невозможностью скрещивания и малоплодностью человека. Генеалогический метод позволяет выяснить родственные связи и проследить наследование нормальных или патологических признаков среди близких и дальних родственников в данной семье на основе составления родословной — генеалогии.

При составлении родословных исследуется пробанд – индивид с признаками наследственной патологии, выявленный первым. Вслед за пробандом обследуются родители и сибсы (братья и сестры). В дальнейшем родословные расширяются за счет других родственников, охваченных клинико-генеалогическим изучением. При графическом составлении родословной используются стандартные символы .(рисунок 2.1.)

Медико-статистический анализ был проведен за период с 2009 по 2011 год. Данные были получены в управлении статистики Самаркандской области.

Статистическую обработку всех полученных данных проводили общепринятыми методами. .[38]

Стандартные обозначения, принятые при составлении родословных .

Лицо женского пола



Лицо мужского пола



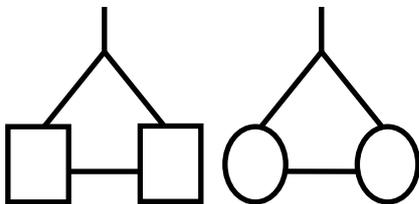
Пол неизвестен



Брак

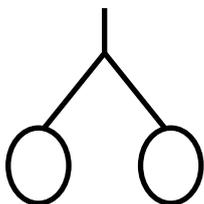


Родственный брак

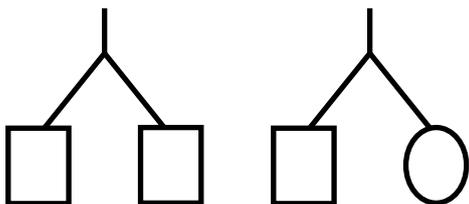


Однояйцевые

близнецы



Пробанд



Выкидыш



Аборт



Мертворожденный

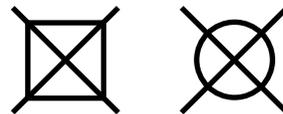


Бездетный брак



Гетерозиготная носительница

мутантного - гена в X- хромосоме



Умершие



3. Результаты исследований.

3.1. Биохимико-генетические исследования заболеваемости вирусными гепатитами А и В.

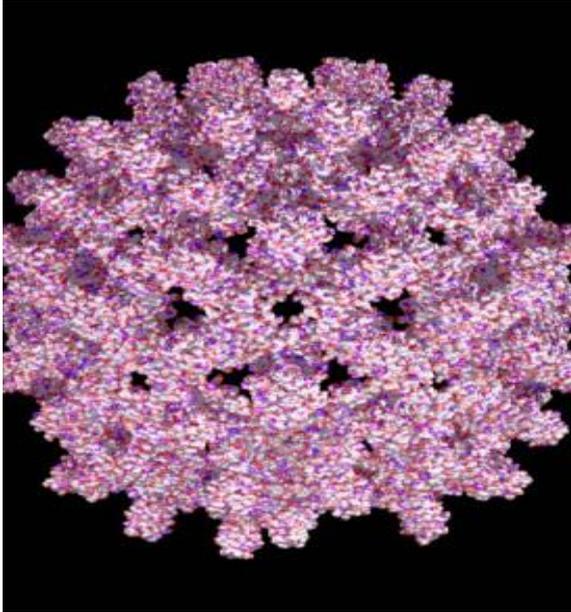
При многих острых и хронических заболеваниях внутренних органов оценка результатов биохимического исследования крови, особенно в динамике – в процессе развития болезни имеют большую диагностическую и прогностическую ценность. Изменения различных биохимических показателей, являясь в большинстве случаев неспецифическими позволяют судить о характере и степени нарушения процессов метаболизма как в целом организме, так и в отдельных органах сопоставление этой информации с клинической картиной заболевания и результаты других лабораторных и инструментальных методов исследования дает возможность оценить функциональное состояние внутренних органов, системы гомеостаза, составить представление о характере патологического процесса и его активности.

Биохимические и лабораторные исследования играют существенную роль для установления природы вирусного гепатита и его этнологии. Совокупность полученных данных о показателях обмена билирубина, сывороточных белков и ферментов позволяют обнаружить воспалительные процессы, происходящие в организме человека. Эти критерии не специфичны, но существенны для оценки функционального состояния печени.

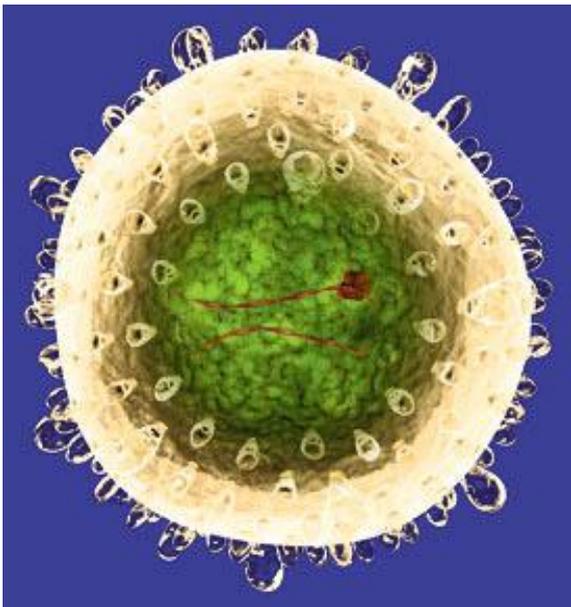
Мы изучали биохимические показатели крови больных с разными формами гепатитов, проходивших обследование и последующее лечение в отделениях инфекционных заболеваний инфекционной больницы. Для обследования были взяты 10 больных в возрасте от 20 до 40 лет с диагнозами гепатита А и В. Изучение и анализ биохимических показателей периферической крови больных гепатитом А показал достоверное снижение

Рисунок 3.1.

Вирусы гепатита А и В.



Вирус гепатита А.



Вирус гепатита В.

уровня гемоглобина, количества эритроцитов и лимфоцитов, что связано с анемическими синдромами. Установлено достоверное увеличение содержания общего, прямого, непрямого билирубина, , что является одним из ранних цитолитических процессов в печени.

Определение активности аланинаминотрансферазы является высокочувствительным показателем цитолиза гепатоцитов, что определяет ее ведущую роль в диагностике гепатитов разной этиологии. Достоверное увеличение АЛТ (аланинаминотрансферазы) является показателем заболеваемости гепатитом и означает начало массового некроза клеток печени.(таблица 3.1)

Изучение и анализ биохимических показателей периферической крови больных гепатитом В показал также достоверное снижение уровня гемоглобина, количества лейкоцитов и лимфоцитов, сопровождающееся снижением иммунной деятельности организма. Показатели общего , прямого и непрямого билирубина и АЛТ увеличены в 4-8 раз . Установлено, что гепатит В протекает намного тяжелее и переход его в хроническую форму может стать причиной первичного рака печени. (таблица 3.1.)

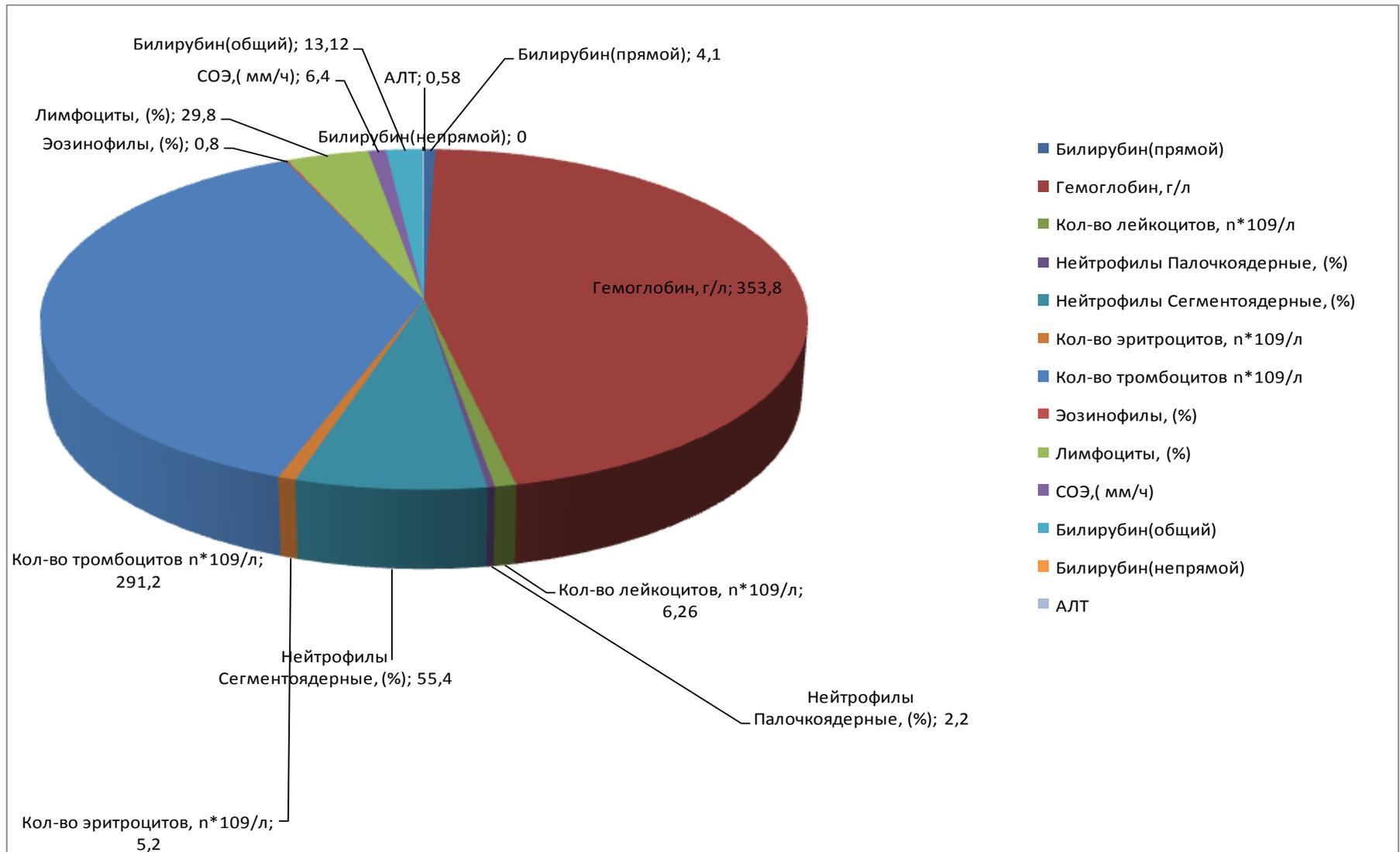
Вирусная инфекция гепатита В диагностируется по обнаружению HBs-антигена в крови больного. Цитотоксические Т-лимфоциты атакуют зараженные клетки печени, несущие вирусные антигены, что является причинами разрушения печени.

Таким образом, анализ периферической крови больных гепатитами А и В показал достоверное уменьшение гемоглобина , увеличение билирубина и АЛТ в 4-8 раз , ясно выраженную картину лейкопении и снижение иммунной деятельности организма больных . Высокий уровень билирубина в крови и АЛТ является одним из главных биохимических показателей гепатита А и В, но играют роль только при развитии желтухи. Безжелтушная форма и преджелтушная фаза вирусных гепатитов в большинстве своем остаются неопознанными.

Таблица-3.1.

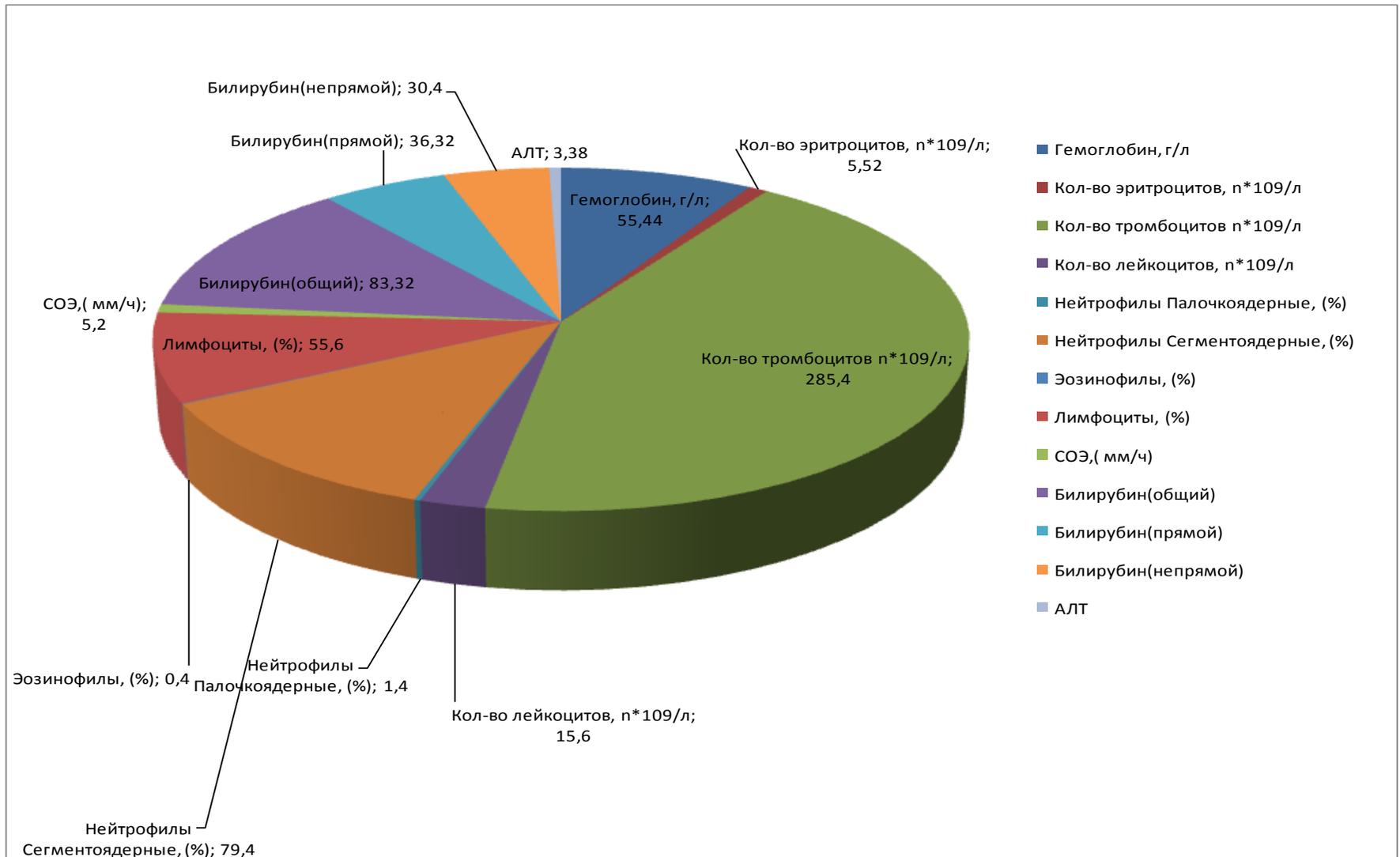
Биохимические показатели периферической крови здоровых и больных гепатитом В.

| Показатели | Здоровые | | | | | | Больные | | | | | | t |
|--|----------|------|-----|------|-----|--------------|---------|------|------|------|------|-------------|-------------|
| | п=4 | | | | | | п=4 | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| Гемоглобин, г/л | 130 | 142 | 140 | 1222 | 135 | 1,29+-4,81 | 7,2 | 74 | 64 | 62 | 70 | 68.4+-2.1 | 12,2<0,001 |
| Кол-во эритроцитов, п*10 ⁹ /л | 5,8 | 5,4 | 6,2 | 5,6 | 5.2 | 5.64+--.24 | 5,2 | 5,9 | 5,5 | 5,6 | 5.4 | 5.5+-0.32 | 0.4>0.1 |
| Кол-во тромбоцитов п*10 ⁹ /л | 265 | 245 | 320 | 345 | 281 | 291.2+-21.16 | 264 | 251 | 306 | 324 | 282 | 285.4+-14.8 | 2.4>0.1 |
| Кол-во лейкоцитов, п*10 ⁹ /л | 5,6 | 6,7 | 6,4 | 6,4 | 6.2 | 6.06+-0.34 | 14,2 | 13,6 | 14,6 | 16,2 | 19.4 | 15.6+-1.2 | 14.03<0.02 |
| Нейтрофилы Палочкоядерные, (%) | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2.2+-0.16 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1.4+-0.23 | 0.98>0.1 |
| Нейтрофилы Сегментоядерные, (%) | 58 | 51 | 52 | 56 | 60 | 55.2+-3.64 | 84 | 82 | 65 | 78 | 88 | 79.4+-6.21 | 3.6>0.1 |
| Эозинофилы, (%) | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0.8+-0.14 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0.4+-0.11 | 2.4>0.1 |
| Лимфоциты, (%) | 22 | 24 | 33 | 34 | 36 | 29.8+-3.31 | 64 | 56 | 58 | 42 | 58 | 55.6+-3.84 | 4.16<0.1 |
| СОЭ,(мм/ч) | 6 | 7 | 8 | 5 | 6 | 6.4+-1.24 | 6 | 4 | 5 | 5 | 6 | 5.2+-0.94 | 1.45>0.1 |
| Билирубин(общий) | 10,2 | 10,4 | 16 | 14 | 15 | 13.12+-2.67 | 84,6 | 78,2 | 88,4 | 80,6 | 84.8 | 83.3+-4.56 | 13.46<0.001 |
| Билирубин(прямой) | 2,4 | 3,6 | 2,6 | 4,1 | 4.1 | 3.36+-0.24 | 33,6 | 34,4 | 38,6 | 36,4 | 38.6 | 36.3+-2.13 | 14.3<0.01 |
| Билирубин(непрямой) | - | - | - | - | - | - | 34,3 | 27,6 | 30,4 | 27,6 | 32.1 | 30.4+-2.6 | - |
| АЛТ | 0,8 | 0,4 | 0,9 | 0,4 | 0.4 | 0.66+-0.12 | 3,6 | 3,1 | 3,5 | 2,9 | 3.8 | 3.4+-0.82 | 3.17<0.1 |



Биохимические показатели периферической крови здоровых людей.

Рисунок 3.2.



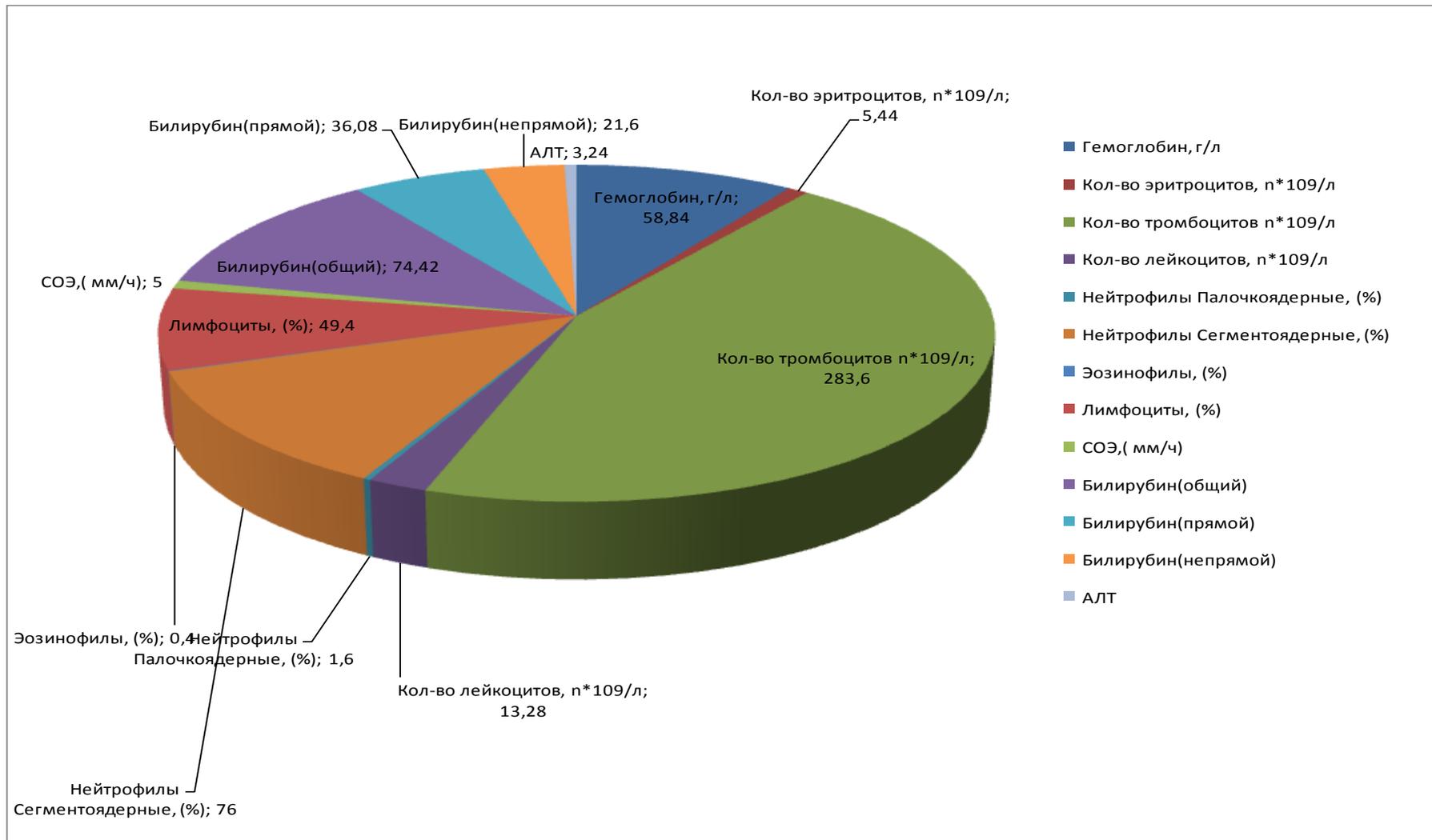
Биохимические показатели периферической крови здоровых и больных гепатитом В.

Рисунок 3.3.

Таблица 3.2.

Биохимические показатели периферической крови здоровых и больных гепатитом А.

| Показатели | Здоровые | | | | | | Больные | | | | | | t |
|--|----------|------|-----|------|-----|---------------------|---------|------|------|------|------|---------------------|-------------|
| | п=4 | | | | | $\bar{x}_k \pm m_k$ | п=4 | | | | | $\bar{x}_o \pm m_o$ | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| Гемоглобин, г/л | 130 | 142 | 140 | 1222 | 135 | 1,29+4,81 | 8.2 | 76 | 68 | 72 | 70 | 72.4+3,8 | 9.5<0.001 |
| Кол-во эритроцитов, п*10 ⁹ /л | 5.8 | 5.4 | 6.2 | 5.6 | 5.2 | 5.64+-24 | 5.1 | 5.4 | 5.2 | 6.1 | 5.4 | 5.5+0.36 | 0.2>0.1 |
| Кол-во тромбоцитов п*10 ⁹ /л | 265 | 245 | 320 | 345 | 281 | 291.2+-21.16 | 260 | 244 | 310 | 322 | 282 | 279.6+-12.7 | 23.5>0.1 |
| Кол-во лейкоцитов, п*10 ⁹ /л | 5.6 | 6.7 | 6.4 | 6.4 | 6.2 | 6.06+-0.34 | 10.8 | 12.4 | 14.6 | 16.2 | 12.4 | 14.6+-0.58 | 12.7<0.001 |
| Нейтрофилы Палочкоядерные, (%) | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2.2+-0.16 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1.6+-0.22 | 0.69>0.1 |
| Нейтрофилы Сегментоядерные, (%) | 58 | 51 | 52 | 56 | 60 | 55.2+-3.64 | 82 | 73 | 65 | 72 | 88 | 73.6+-4.81 | 3.8>0.1 |
| Эозинофилы, (%) | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0.8+-0.14 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0.4+-0.11 | 2.35>0.1 |
| Лимфоциты, (%) | 22 | 24 | 33 | 34 | 36 | 29.8+-3.31 | 53 | 48 | 46 | 42 | 58 | 49.8+-3.51 | 3.84<0.1 |
| СОЭ,(мм/ч) | 6 | 7 | 8 | 5 | 6 | 6.4+-1.24 | 4 | 6 | 5 | 4 | 6 | 4.8+-0.88 | 1.45>0.1 |
| Билирубин(общий) | 10.2 | 10.4 | 16 | 14 | 15 | 13.12+-2.67 | 68.4 | 64.5 | 74.2 | 80.2 | 84.8 | 73.1+-3.26 | 14.6<0.01 |
| Билирубин(прямой) | 2.4 | 3.6 | 2.6 | 4.1 | 4.1 | 3.36+-0.24 | 34.2 | 28.6 | 40.6 | 38.4 | 38.6 | 34.3+-2.71 | 11.05<0.001 |
| Билирубин(непрямой) | - | - | - | - | - | - | 20.3 | 19.6 | 18.6 | 17.4 | 32.1 | 19.6+-1.26 | - |
| АЛТ | 0.8 | 0.4 | 0.9 | 0.4 | 0.4 | 0.66+-0.12 | 2.8 | 3.2 | 3.6 | 2.8 | 3.8 | 3.2+-0.71 | 3.25<0.1 |



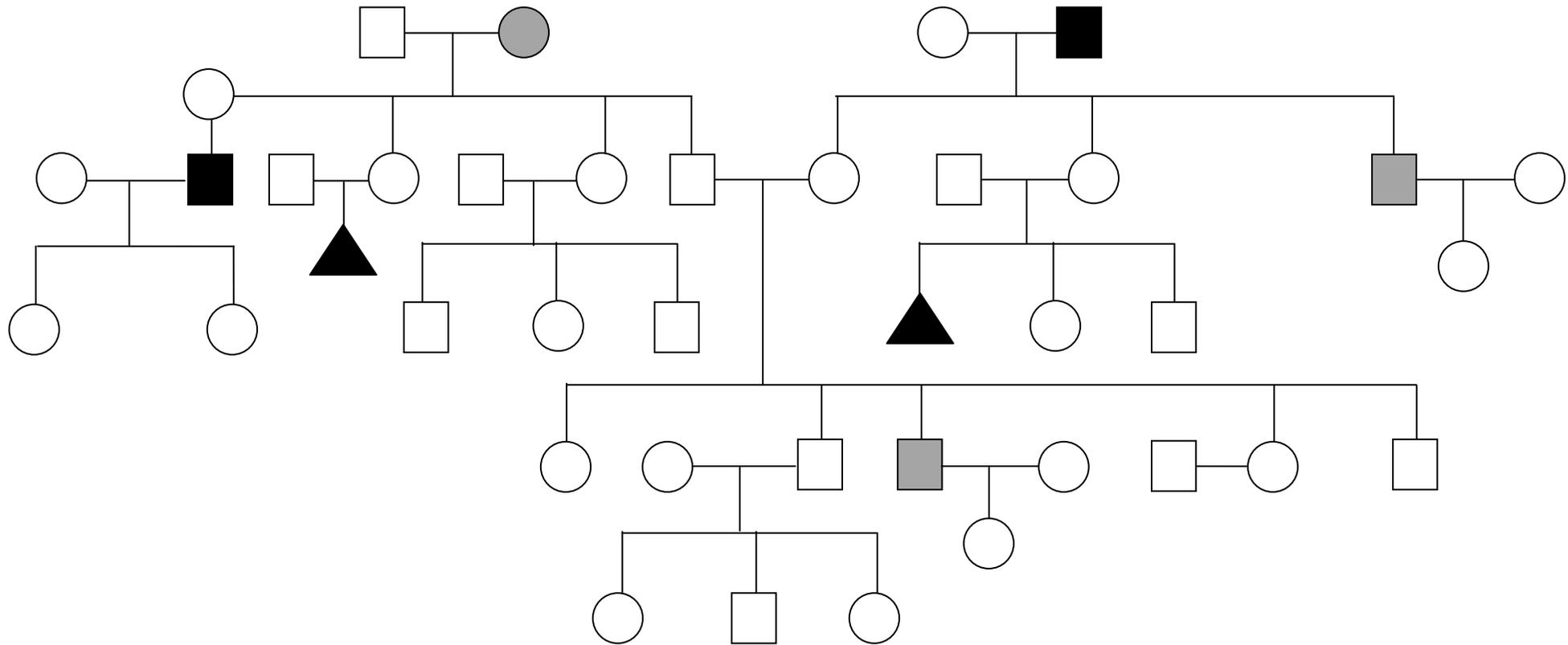
Биохимические показатели периферической крови здоровых и больных гепатитом А.

Рисунок 3.4.

К наиболее опасным формам относят вирусные гепатиты В, С. Переход заболевания в хроническую форму предполагает ухудшение прогноза заболевания и длительное развитие воспалительных процессов в печени. Хронические формы вирусных гепатитов считают одними из самых распространенных причин цирроза печени и первичного рака.

Мы с помощью генеалогического метода на примере одной семьи изучали наследование гепатита В у одного из пациентов В-ва, который является вторым ребенком в семье, возраста 26 лет, женат, есть 1 ребенок, проживает в городе Самарканде. В его семье никто из братьев, сестер и его родители гепатитами (А, В, С) не болели. Установлено, что гепатитами В и А болел дедушка со стороны матери и родной брат отца.. У бабушки со стороны отца была злокачественная опухоль груди. У родных сестер со стороны матери и отца наблюдались спонтанные аборт и выкидыши.

Таким образом, анализ генеалогических данных пациента больного гепатитом В позволяет предполагать некоторую наследственную предрасположенность к заболеванию. Установлена роль вируса гепатита как этиологического фактора канцерогенеза. Повышенная частота спонтанных аборт часто обусловлена хромосомными аномалиями.



□ - здоровый мужчина

■ - больной ОПА мужчина

■ - злокачественное образование

○ - здоровая женщина

● - больная ОПА женщина

▲ - выкидыш

- Родословная пробанда В-ва заболеванием гепатит В.

Рисунок 3.5.

3.2. Медико-статистические показатели заболеваемости гепатитами по Самаркандской области.

Основными статистическими показателями, свидетельствующими о причинах распространения инфекционными заболеваниями, в том числе гепатитами являются показатели заболеваемости и смертности. Структура их различна для каждого пола и возраста, что определяется физиологическими особенностями организма и подверженности факторам риска.

Согласно современной классификации различают гепатиты: инфекционные вирусные гепатиты, бактериальные, токсические (алкогольные, лекарственные), аутоиммунный, лучевой. Наиболее часто встречаются именно вирусные гепатиты. По данным ВОЗ (2010) наблюдается пандемическое распространение вирусного гепатита В, в развивающихся странах Африки и Азии заболеваемость вирусным гепатитом А среди детей достигает 100%.

Изучение заболеваемости гепатитом А за 2009-2011 года показало, что максимальная частота заболеваемости за этот период характерна для города Самарканда, Булунгурского, Джамбайского, Нарпайского и Тайлякского района, с максимальной частотой встречаемости в Джамбайском (134,14) и Пайарыкском районах (136,79), наименьшая для Иштыханского (34,88) и Пасдаргомского районов (29,88), эта же тенденция сохраняется и в 2011 (таблица 3.3.)

Форма гепатита В в 2011 с наибольшей частотой встречается в Самаркандском, Ургутском районах и в городе Каттакургане (3,28-3,39). В Акдарьинском, Джамбайском, Пасдаргомском и Тайлякском районах форма гепатита В не была установлена.(таблица 3.4.)

Мы изучали медико-статистические показатели заболеваемости гепатитами А и В в городе Самарканде и Каттакурган, а также по районам Самаркандской области(таблица3.5.) Изучение заболеваемости вирусными гепатитами А и В по Самаркандской области за 2008-2010 года показало, что с наибольшей частотой они встречаются в Ургутском, Тайлякском,

Пайарыкском и Джамбайском районах и в городе Самарканде (106,66-137,68) по интенсивному показателю за 2010 год, наименьшая, в Пасдаргомском, Иштыханском, Нурабадском районах (29,81-42,77).

Эта тенденция сохраняется и в 2011 году. Выявлено некоторое снижение частоты заболеваемости гепатитами А, В, С по сравнению с 2009 годом.

Таким образом, изучение частоты заболеваемости гепатитами А и В за период 2009-2011 годов по районам Самаркандской области было установлено, что они с наибольшей частотой встречается в Ургутском, Тайлякском, Пайарыкском и Джамбайском районах и в городе Самарканде, наименьшая в Пастдаргомском, Иштыханском и Нурабадском районах. Форма гепатита В встречается значительно реже.

Таблица 3.3.

Статистические показатели заболеваемости гепатитом А по Самаркандской области за 2009-2011 года.

| № | Наименование городов, районов | 2009 | | 2010 | | 2011 | |
|--------------|-------------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|
| | | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель |
| 1. | Самарканд (город) | 490 | 123,71 | 456 | 102,40 | 461 | 103,5 |
| 2. | Каттакурган (город) | 33 | 42,91 | 51 | 65,15 | 42 | 53,65 |
| 3. | Ақдарьинский район | 112 | 93,18 | 102 | 82,48 | 96 | 77,62 |
| 4. | Булунгурский район | 213 | 144,60 | 174 | 116,85 | 168 | 112,21 |
| 5. | Джамбайский район | 182 | 136,74 | 185 | 134,14 | 184 | 133,41 |
| 6. | Иштыханский район | 44 | 22,94 | 70 | 34,88 | 70 | 35,87 |
| 7. | Каттакурганский район | 184 | 85,11 | 112 | 51,68 | 106 | 48,91 |
| 8. | Кушрабадский район | 148 | 145,10 | 65 | 61,25 | 86 | 81,04 |
| 9. | Нарпайский район | 143 | 85,27 | 204 | 119,68 | 198 | 116,71 |
| 10. | Нурабадский район | 51 | 44,50 | 51 | 42,77 | 42 | 38,76 |
| 11. | Пайарыкский район | 315 | 157,26 | 307 | 136,79 | 298 | 132,77 |
| 12. | Пасдаргомский район | 114 | 41,70 | 89 | 29,81 | 92 | 31,81 |
| 13. | Пахтачискский район | 141 | 117,01 | 106 | 82,42 | 96 | 74,64 |
| 14. | Самаркандский район | 246 | 88,17 | 239 | 80,38 | 239 | 80,38 |
| 15. | Тайлякский район | 232 | 152,83 | 214 | 126,29 | 186 | 109,71 |
| 16. | Ургутский район | 328 | 86,07 | 326 | 79,03 | 324 | 78,54 |
| Итого | | 2976 | 96,88 | 2751 | 83,92 | 2688 | 82,18 |

Таблица 3.4.

Статистические показатели заболеваемости гепатитом В по Самаркандской области за 2009-2011 года.

| № | Наименование городов, районов | 2009 | | 2010 | | 2011 | |
|--------------|-------------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|
| | | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель |
| 1. | Самарканд (город) | 9 | 2,27 | 13 | 2,92 | 10 | 2,25 |
| 2. | Каттакурган (город) | 2 | 2,60 | 3 | 3,82 | 3 | 3,28 |
| 3. | Ақдарьинский район | - | - | - | - | - | - |
| 4. | Булунгурский район | 4 | 2,72 | 2 | 1,34 | 3 | 2,01 |
| 5. | Джамбайский район | - | - | - | - | - | - |
| 6. | Иштыханский район | 5 | 2,61 | 6 | 2,99 | 2 | 1,88 |
| 7. | Каттакурганский район | 2 | 0,93 | - | - | - | - |
| 8. | Кушрабадский район | 3 | 2,94 | 1 | 0,94 | 2 | 1,88 |
| 9. | Нурабадский район | - | - | - | - | 1 | 0,94 |
| 10. | Пайарькский район | 2 | 1,00 | 2 | 0,89 | 2 | 0,89 |
| 11. | Пахтачический район | 1 | ,083 | 4 | 3,11 | 3 | 2,33 |
| 12. | Самаркандский район | 7 | 2,51 | 9 | 3,03 | 10 | 3,37 |
| 13. | Тайлякский район | 1 | 0,66 | - | - | - | - |
| 14. | Ургутский район | 8 | 2,10 | 13 | 3,15 | 10 | 3,39 |
| Итого | | 44 | 1,43 | 53 | 1,62 | 49 | 1,49 |

Таблица 3.5.

Статистические показатели заболеваемости гепатитами по Самаркандской области за 2009-2011 года.

| № | Наименование городов, районов | 2009 | | 2010 | | 2011 | |
|--------------|-------------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------------|
| | | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель | Абсолютное число | Интенсивный показатель |
| 1. | Самарканд (город) | 500 | 126,23 | 475 | 106,66 | 471 | 105,71 |
| 2. | Каттакурган (город) | 35 | 45,51 | 54 | 68,98 | 45 | 57,48 |
| 3. | Ақдарьинский район | 112 | 93,18 | 102 | 82,48 | 96 | 78,1 |
| 4. | Булунгурский район | 218 | 148,00 | 176 | 118,20 | 171 | 114,6 |
| 5. | Джамбайский район | 182 | 136,74 | 185 | 134,14 | 184 | 133,41 |
| 6. | Иштыханский район | 49 | 25,55 | 76 | 37,87 | 75 | 37,37 |
| 7. | Каттакурганский район | 186 | 86,03 | 112 | 51,68 | 106 | 48,91 |
| 8. | Кушрабадский район | 151 | 148,04 | 66 | 62,19 | 88 | 82,92 |
| 9. | Нарпайский район | 143 | 85,27 | 204 | 119,68 | 198 | 116,47 |
| 10. | Нурабадский район | 51 | 44,50 | 51 | 42,77 | 43 | 36,06 |
| 11. | Пайарькский район | 317 | 158,26 | 309 | 137,68 | 300 | 133,6 |
| 12. | Пасдаргомский район | 114 | 41,70 | 89 | 29,81 | 92 | 31,01 |
| 13. | Пахтачиский район | 142 | 117,84 | 110 | 85,53 | 199 | 76,97 |
| 14. | Самаркандский район | 254 | 91,04 | 248 | 83,41 | 249 | 97,05 |
| 15. | Тайлякский район | 233 | 153,49 | 214 | 126,29 | 186 | 109,5 |
| 16. | Ургутский район | 336 | 88,17 | 339 | 82,18 | 334 | 80,79 |
| Итого | | 3023 | 98,40 | 2810 | 85,72 | 2737 | 83,43 |

Выводы:

1. Изучена классификация, химический состав и строение вирусов, структурная организация которых характеризуется наличием или отсутствием липопротеиновых оболочек и типом симметрии капсиды. В связи с этим выделяют две большие группы вирусов ДНК содержащие и РНК содержащие вирусы.

2. Рассмотрены типы вирусных инфекций на клеточном и организменном уровнях. На клеточном уровне их делят на автономные и abortивные, которые протекают в виде острой или хронической инфекции. На организменном уровне вирусные инфекции делятся на очаговые и генерализованные, которые протекают в острой и персистентной форме. Наибольшую опасность представляют медленные инфекции, ведущие к летальному исходу.

3. Изучены генетические особенности вирусных заболеваний. Установлены три группы онкогенных вирусов, являющихся этиологическими факторами неопластических заболеваний человека - это ретро-вирусы Т лимфолейкоза взрослых людей, герпес вирусы и вирусы гепатита В.

4. Рассмотрена классификация и генетические особенности вирусов гепатитов, наиболее опасными из которых являются вирусы В, С, D. Переход заболевания в хроническую форму предполагает ухудшение прогноза заболевания и длительное развитие воспалительных процессов в печени. Хронические формы вирусных гепатитов считают одними из самых распространенных причин цирроза печени и первичного рака..

5. Изучены биохимические особенности инфекционного процесса гепатита. Анализ периферической крови больных гепатитами А и В показал достоверное уменьшение гемоглобина, количества лейкоцитов, лимфоцитов, увеличение содержания общего, прямого, непрямого билирубина и АЛТ. Высокий уровень билирубина и АЛТ в крови является одним из главных биохимических показателей цитолиза гепатоцитов, что определяет их ведущую роль в диагностике гепатитов разной этиологии.

6 . Проведение генеалогического анализа больных гепатитом В позволяет предположить некоторую наследственную предрасположенность к заболеванию. Повышенная частота спонтанных абортов и выкидышей в семьях обусловлена хромосомными аномалиями.

7. Изучение частоты заболеваемости гепатитами А и В за период 2009-2011 годов по районам Самаркандской области было установлено, что они с наибольшей частотой встречается в Ургутском, Тайлякском, Пайарыкском и Джамбайском районах и в городе Самарканде. В Самаркандской области форма гепатита А встречается с наибольшей частотой .

Рекомендации:

1. Разработка и широкое использование современных молекулярно-генетических методов для точной идентификации вирусных инфекций, в том числе разных форм гепатита..
2. Анализ, как донорской крови, так и препаратов, приготовленных на ее основе, на маркеры вируса гепатита В. Разработка использование высокоэффективных вакцин против вируса гепатита В и других его форм.
3. Материалы исследований данной работы могут быть использованы в профилактической и просветительской деятельности среди учащихся школ , лицеев и колледжей.

Список используемой литературы:

- 1 .Ада Г. Вакцины и вакцинация. Международный медицинский журнал-2002-№1.
2. Блашкович Д. Круговорот вирусов. Прага: Изд. Чех АН , 1970, 140 с.
3. Букринская А.Г. «Вирусология» - М : медицина, 1986 -336 с.
4. Букринский М.И. Строение генома и экспрессия генов вируса иммунодефицита человека. (Обзор иностранной литературы). «Вопросы вирусологии», 1987, 649-656 с.
5. Бутонин Е.Г. «Биохимические константы биологических жидкостей человека» справочное пособие, 1995, 53с.
6. Гаврилов О.К., Шишков В.П., Хохлова М.П., Саутинова В.О. Современное состояние проблемы лейкозов. // Клиническая медицина, 1981, № 1. - с. 6-9
7. Губергриц А.Я. Клиническая оценка данных лабораторных исследований», 1949 176 с.
8. Гусева С.А. Воднюк В.П. Бальшин М.Д. Болезни системы крови. К.: Логос 2001 с 248-542
9. Долгов В.В. Луговская С.А. Морозова В.Т. и др. Лабораторная диагностика анемий. Пособие для врачей. Тверь 2001 с 7-22
10. Домарадский И.В. Основы вирусологии для экологов. М , 2007, 80 с.
11. Домшлак М.Ч. Путешествие в неведомый мир. //Первое сентября, 2003,
12. Еримов Г.И. Общая вирусология. М, 1998, 657-742 с.
13. Жданов В.М. и Львов Д.К. Экология возбудителей инфекционных болезней - М, 1984, 272 с.
14. Жданов В.М. Эволюция вирусов. М, Медицина, 1990, 376 с.
15. Исаева Е.И., Ровнова З.И., Колобухина Л.В., Алипова Т.А., Меркулова Л.Н., Стаханова В.М. Этиологическая структура заболеваемости гриппом в 1988–1996 гг. Эпидемиол и инфекц бол 1996;3:10-4.
16. Кабринович Ю.О. Вирусы. М.: 2007,
17. Казанцев А.П., Матновский В.С . Справочник по инфекционным болезням. М.: 1985, 320 с.

18. Камышников В.С. « Методы клинических лабораторных исследований», учебное пособие, 2001.
19. Каштаненко А.М. « Клинический анализ лабораторных исследований», М., 1985, 237 с.
20. Козловская Л.В. Учебное пособие по клиническим и лабораторным методам исследования. М, медицина, 1984-288 с.
21. Козловская Л.В. Николаева А.Ю. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам. // Под. ред. Тареева Е.М. М.- Медицина. 1985 с25-60
22. Колобаев В.И, «Избранные общеклинические методы исследований», 1991-123 с.
23. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. Пособие для биол. Спец. Вузов – 4-е изд., перераб и доп. М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
24. Лимфогрнулематоз. //Под.ред Симбирцева Л.П Холсти Л.-М.: Медицина, 1985
25. Любина А.Я.Ильичева Л.Л. Петросова С.А.и др..Клинические лабораторные исследования. М.-Медицина.1984 с 36-70
26. Погорелов В.М., Козинец Г.И., Шмаров Д.А. и др. Клетки крови: современные технологии исследования. М.: Триада-фарм, 2002. с. 451
27. Покровский А.А. Биохимические исследования в клинике. М.,1969,с.351
28. Поллак Дж, Норден С. Введение в иммуноцитохимию: современные методы и проблемы. М.: Мир, 1987. - 238 с.
29. Лурия С. И Дариски Дж. «Общая вирусология». М, Мир, 1970 - 424 с.
30. Новикова Н.А., Новиков В.В., Добротина Н.А., Мазена В.Н. «Вирусология», учебное пособие, 2002-242 с.
31. Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И., Шипулин Г.А., Кравченко А.В., Серебровская Л.В., Покровский В.В. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов. Вопр вирусол 1998;2:91-5.

32. Bennet J. M., Berger R., Catovsky D.D. et al. Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias // *Ann. Intern. Med.*, 1998; Vol. 1, № 1. - p. 1-15
33. Narod S.A. Genetics of breast and ovarian cancer. *Br. Med. Bull.*, 1994, v. 50, p. 656-676.
34. Westbrook C. The molecular basis of neoplasia. In: *Hematology: basic principles and practice*. R. Hoffmann (ed). Philadelphia, Elsevier Inc.; 2005. - p. 941—52.
35. Konen E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger, Washington C.W. Jr., editors. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p.1177-265.
36. Cherry W.B. Immunofluorescence techniques. In: Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J.Jr., Tenover J.C., editors. *Manual of clinical microbiology*. 3d ed. Washington: D.C. Am Soc Microbiol 1980: 501-8.
37. Gardner P.S., McQuillin J. *Rapid Virus diagnosis: application of immunofluorescence*. 2nd ed. London: Butterworth; 1980.
38. Averameas S., Ternynck T., Guesdon JL. Coupling of enzymes to antibodies and antigens. *Scand J Immunol* 1978;8:7-23.
39. Fox J.C., Griffiths P.D., Emery V.C. Quantification of Human Cytomegalovirus DNA using the polymerase chain reaction. *J Gen Virol* 1992;73:2405-8.
40. Walmsley S., Mazzulli T., Krajden M. Long-Term Predictive Value of a Single Cytomegalovirus (CMV) DNA PCR Assay for CMV Disease in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *J Clin Microbiol* 1998;36(1):281-3.
41. Yolken R.H., Lennette D.A., Smith T.F., Waner J.L. Algorithms for detection and identification of viruses. In: Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C., Tenover F.C., Yolken R.H., editors. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed.; 1999. p.843-6.