

УДК: 616.98:578.828HIV:578.7

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СОВРЕМЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ ВИЧ-1, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ ОСНОВНЫЕ РОССИЙСКИЕ ГЕНОВАРИАНТЫ ВИРУСА

Н.В. Унагаева¹, Н.А. Бледных¹, А.В. Тотменин¹, Ф.О. Мирджамалова²,
Н.Я. Черноусова², Н.М. Гашникова¹

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Новосибирская область

²ГБУЗ НСО «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Кольцово, Новосибирская область

Создана репрезентативная коллекция инфекционных ВИЧ-1, включающая основные варианты вируса, определяющие эпидемию ВИЧ-инфекции в России. Выделено и описано 65 инфекционных ВИЧ-1: CRF63_02A1, субтипа А, В и CRF02_AG.

Ключевые слова: *изоляты ВИЧ-1, генетические варианты ВИЧ-1, коллекция ВИЧ-1*

CREATING A COLLECTION OF UP-TO-DATE ISOLATES OF HIV-1 INCLUDE MAJOR RUSSIAN GENOVARIANTS VIRUS

N.V. Unagaeva¹, N.A. Blednyh¹, A.V. Totmenin¹, F.O. Mirdzhamalova², N.Y. Chernousova²,
N.M. Gashnikova¹

¹State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia,

²GBUZ VAT "Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases", Koltsovo, Russia

We created a representative collection of infectious HIV-1 isolates including major variants of virus that determine HIV/AIDS epidemic in Russia. We isolated and described 65 infectious HIV-1 CRF63_02A1, subtype A, B and CRF02_AG.

Keywords: *HIV-1 isolates, genetic variants of HIV-1, collection of HIV-1*

Выделение изолятов ВИЧ-1 и изучение их биологических характеристик крайне важны для более глубокого понимания биологии вируса и мониторинга развития инфекции ВИЧ-1. Учитывая активное распространение более агрессивных и жизнеспособных генетических вариантов вируса среди населения различных регионов мира, работы по созданию и охарактеризации коллекций изолятов ВИЧ-1 приобретают глобальное значение. Изучение биологических характеристик циркулирующих и появляющихся новых вариантов ВИЧ-1 представляется крайне актуальным в связи с тем, что генетические варианты вируса могут различаться по своим биологическим свойствам – по скорости эволюции вируса и прогрессирования заболевания, могут иметь преимущества при определенных путях трансмиссии [1].

Целью работы являлось создание коллекции современных изолятов ВИЧ-1, изучение репродуктивных и цитопатических особенностей генетических вариантов А, В и циркулирующей рекомбинантной формы (circulating recombinant forms) CRF63_02A1 ВИЧ-1 при культивировании вирусов на моноклеарных периферических клетках крови (МПК) и сравнительный анализ биологических характеристик изолятов ВИЧ-1 различных субтипов, выделенных в период с 2009 по 2012 годы.

Материалы и методы

Выделение ВИЧ проводили путем сокультивирования моноклеаров периферической крови (МПК) инфицированного ВИЧ-пациента и двух серонегативных доноров. Репликацию вируса оценивали иммуноферментным анализом количественного накопления белка р24 ВИЧ-1 в культуральной среде [3].

Результаты и обсуждение

В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» с 2009 года на постоянной основе осуществляются работы по созданию репрезентативной коллекции ВИЧ-1. Коллекция содержит 65 современных изолятов ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих в Сибирском федеральном округе и других регионах России. Коллекция включает основные генетические варианты циркулирующих в стране ВИЧ-1: субтипы А, В и циркулирующие рекомбинантные формы CRF02_AG и активно распространяющуюся в Сибирском регионе CRF63_02A1.

С 2009 по 2012 гг. для выделения ВИЧ было отобрано 134 образца крови от ВИЧ-инфицированных пациентов в острой начальной стадии (70% образцов) и в стадии хронического течения инфекции (30% образцов). Выделено и описано 65 инфекционных ВИЧ-1: CRF63_02A1 (n=36), субтипа А (n=18), В (n=8) и CRF02_AG (n=3).

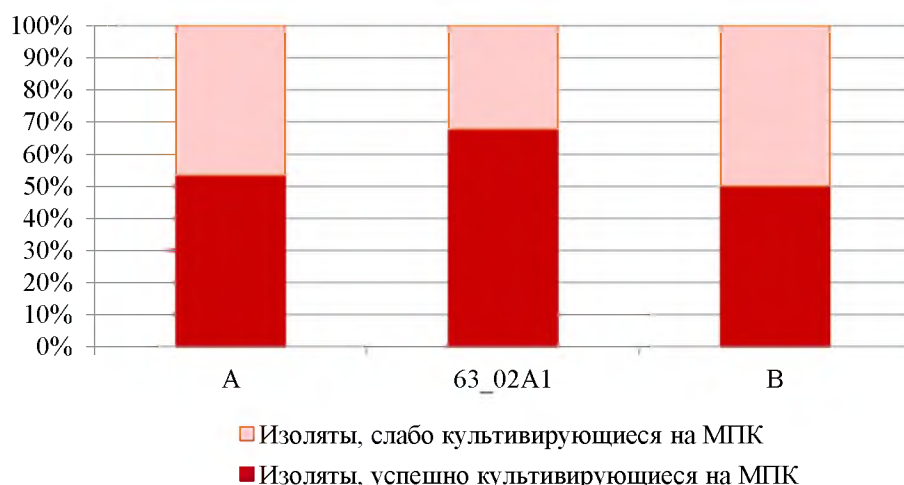


Рисунок 1. Эффективность выделения изолятов ВИЧ-1 из клинических образцов крови в 2009-2012 годах

Эффективность выделения вируса из периферической крови – это процесс, показывающий его способность к воспроизводству, а также его инфекционность. Лучшими репродуктивными свойствами обладали CRF63_02A1 ВИЧ-1, эффективность выделения которых составила 68%. Среди вирусов субтипа А чаще встречались изоляты, которые слабо культивировались на МПК (количество

вируса недостаточно для инфицирования чистой культуры клеток, <20000 пкг в вирусном стоке), они были исключены из коллекции, эффективность выделения составила 53% (рис. 1). Лица, инфицированные субтипом В и CRF02_AG ВИЧ-1, встречались редко, поэтому данные генетические варианты в коллекции представлены в малом количестве. Эффективность выделения изолятов субтипа В составила 50% (Рис.1).

Нами отмечены следующие особенности динамики роста p24 для изолятов ВИЧ-1 представленных вариантов. Для изолятов CRF63_02A1 максимальное накопление p24 происходило на 11-17 сутки культивирования, максимум накопления выходит за отметку 500000 пкг (у 8 изолятов из 30). Для субтипа А также характерны высокие темпы роста и концентрации p24, но по динамике накопления наблюдается широкий диапазон скорости выхода в логарифмическую фазу роста. Максимальное накопление белка p24 колеблется между 17 и 27 сутками культивирования. Наблюдая цитопатическое действие вируса на культуре МПК, мы также выявили отличия между субтипами ВИЧ-1. Цитопатическое действие вируса анализировали визуально при микроскопировании инфицированной культуры лимфоцитов периферической крови. Множественные синцитии чаще образовывались на культуре клеток с изолятами ВИЧ-1 субтипа А. При этом наблюдалась ЦПД среднего уровня (гибель клеток, пикноз, клеточный дебрис). На культуре клеток, инфицированной CRF63_02A1, синцитии обнаруживались единично, эффект ЦПД у большинства изолятов был выражен слабо. Чрезмерное цитопатогенное действие вируса может быть неблагоприятным фактором, влияющим на его репродуктивные функции. Клеточная культура быстро деградирует и вирус не успевает размножиться и накопиться. Чаще такая картина наблюдалась при изолировании ВИЧ-1, культивирование которых не закончилось успешным выделением вируса. Можно предположить, что умеренная цитодеструкция культуры клеток, напротив, способствует наибольшей репродукции и быстрому размножению ВИЧ-1. Изоляты CRF63_02A1 показывали описанный выше фенотип. Подобная картина «мягкого» ЦПД и высокой скорости репродукции была замечена в схожих с нашими исследованиях с генетически близким рекомбинантом CRF02_AG [2]. Данное свойство вирусов может способствовать более быстрому распространению их в популяции, что дает им преимущество перед другими вариантами ВИЧ-1.

Выводы

1. Создана репрезентативная коллекция современных изолятов, включающая субтипы А, В и CRF63_02A1, CRF02_AG ВИЧ-1, наиболее распространенные в России. Проведено изучение биологических и генетических особенностей первичных изолятов вируса, проанализированы отличия биологических свойств ВИЧ-1, выявленные при культивировании вирусов на МПК.
2. Лучшими репродуктивными свойствами обладали изоляты CRF63_02A1 ВИЧ-1, накопление вирусного белка p24 в культуре клеток в высоких концентрациях отмечалось уже на 11-17 сутки культивирования. Новый вариант отличался и по воздействию на клеточную культуру, цитопатическое действие можно было описать как умеренное, без активной цитодеструкции.
3. Для субтипа А ВИЧ-1 характерно выраженное цитопатическое воздействие на клеточную культуру. Субтип А ВИЧ-1 длительное время циркулирует на территории России.
4. Ранее доминировавший и в Сибирском регионе субтип А, в последние годы вытесняется новой циркулирующей рекомбинантной формой CRF 63_02A1 ВИЧ-1.
5. Для изолятов субтипа В был характерен умеренный темп репродукции и средний уровень цитопатического воздействия на клеточную культуру.

Литература

1. Easterbrook, P.J. Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy / P.J. Easterbrook [et al.] // J. Int. AIDS Soc. – 2010. – V. 13. Published online 2010 February 3. doi: 10.1186/1758-2652-13-4
2. Fischetti, L. Higher viral load may explain the dominance of CRF02_AG in the molecular epidemiology of HIV in Ghana. / L. Fischetti, O. Opare-Sem, D. Candotti, H. Lee, JP. Allain // AIDS. – 2004. – V. 18. – P. 1208–1210. – doi: 10.1097/00002030-200405210-00017.
3. WHO-UNAIDS Guidelines for Standard HIV Isolation and Characterization Procedures // Second Edition, Produced by WHO-UNAIDS HIV Vaccine Initiative. – 2002.

Сведения об авторах

Унагаева Наталья Владимировна – младший научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» e-mail: unadaeva_nv@vector.nsc.ru