© Москалюк В.Д., Андрущак М.О., 2015
УДК 616.98:578.828:575.113(048.8)
DOI

В.Д. Москалюк, М.О. Андрущак

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ПРИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

Буковинський державний медичний університет

Проаналізовано захворюваність на ВІЛ-інфекцію та дослідження поліморфізму генів. Особливу увагу приділено мутаціям з генотипом CCR5 Δ32 та CCR-2 варіант 64I, їх взаємозв'язку з іншими мутаціями, встановлено їхній вплив на перебіг ВІЛ-інфекції. З'ясовано вплив хемокінів, цитокінів та інтерлейкінів у ВІЛ-інфікованих на генний поліморфізм.

Ключові слова: *ВІЛ-інфекція, поліморфізм генів, генотип, хемокіни, цитокіни.*

Поряд з численними даними науково-методичної літератури про ВІЛ-інфекцію, її загрозу для людства, статистику про невпинне зростання цієї недуги, рекомендацій щодо можливого запобігання їй, існує діаметрально протилежна думка ряду вчених, відповідно до якої «СНІДу не існує, а люди вмирають з інших причин». До такого висновку схиляються проф. П. Дюсберг (Каліфорнія), проф. Мулліс, які стверджують, що «гіпотеза ВІЛ/СНІДу – це не просто наукова недоробка, а пекельна помилка» [1]. Вони також стверджують, що вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) ніколи не виділяється у людей в лабораторних умовах, називають вірус «безпечним для людини», просто «вірусом-супутником», а смерть від СНІДу відносять до «ненаукової фантастики». Навіть властивість ВІЛ швидко розмножуватися в організмі людини не визнають як причину подальшого вираженого стійкого імунодефіциту.

П. Дюсберг вважає ВІЛ вигаданим, а гіпотезу ВІЛ/СНІДу як таку, що «народила дивовижний список 30 відомих раніше захворювань, які тепер можуть бути діагностовані як СНІД» [2]. Ідеї угорця А. Макка відносно постійного акцентування на невиліковності даної хвороби з метою отримання грошей на дослідження та розробку препаратів проти СНІДу, які є токсичними, руйнівними для імунної системи, стають просто шкідливими для прогресу.

Доктор Д. Лорицен (США) також вказує на матеріальну зацікавленість, бізнес, пов'язані зі СНІДом. Деякі вітчизняні автори приєднуються до вищеназваних авторів, висловлюючи сумніви з приводу ВІЛ/СНІДу [3].

Вперше ВІЛ-інфекція була відкрита вченими у Франції та США, коли Центр контролю за хворобами у щотижневому віснику від 05.06.1981 р. повідомив про 5 випадків тяжкого перебігу запалення легень (пневмоцистної пневмонії). Аналізуючи зазначені 5 випадків хвороб легень та наявність у хворих деяких шкірних патологічних ознак, американський імунолог М. Готліб (1982) встановив їх залежність від прогресуючого ураження імунної системи організму людини. Тоді вперше був сформульований так званий синдромний діагноз – синдром набутого імунодефіциту (СНІД) – Acquired Immunodeficienty Syndrome (AIDS). Ця назва отримала загальне визнання про самостійну, набуту, а не природжену неповноцінність імунної системи. Пізніше стало відомо, що СНІД – це в значній мірі термінальна стадія хвороби. У всьому світі її стали називати ВІЛ/СНІД. Це означало, що існує попередня багаторічна прихована вірусна інфекція, що може бути встановлена тільки шляхом виявлення спеціальних ознак ВІЛ. Згідно з наведеною інформацією про 5 випадків смерті від пневмонії, всі 5 хворих мали гомосексуальну орієнтацію, що дозволило охарактеризувати СНІД як «хворобу гомосексуалістів». Однак у наступних публікаціях з'явилися повідомлення про хворих на СНІД чоловіків і жінок з гетеросексуальною орієнтацією, які свідчили про те, що гомосексуальний шлях передачі хвороби не може розглядатися як єдиний [4, 5].

Існує також думка, що вірус ВІЛ-інфекції має інше походження. Віруси, виділені від мавп з Африканського континенту, мають дуже схожу будову до ВІЛ [6]. В 1983 р. майже одночасно у двох лабораторіях – L. Montagnier (Інститут Пастера, Франція) та R.C. Gallo (Національний інститут раку, США) від хворих з ознаками СНІДу виділено віруси-збудники. Спочатку вони мали 2 різні назви: французький LAV (АВЛ-асоційований вірус лімфаденопатії) та американський HTLV (ТЛВЛ – Т-клітинний лейкемічний вірус людини). Рішенням Міжнародного Комітету експертів з таксономії вірусів у 1986 р. збудник дістав назву HIV (ВІЛ) – вірус імунодефіциту людини. В тому ж році в лабораторії L. Montagnier було доведено існування варіантів ВІЛ: перший, що реєструється повсюди – ВІЛ-1; другий – переважно у Західній Африці – ВІЛ-2 [5]. В 1982 р. ВІЛ-інфекція спостерігалась в 16 країнах світу у 711 чоловік, а в 1989 р. була вже в

130 країнах і близько 140 тис. чоловік були інфіковані. Останні дані ВООЗ свідчать про те, що розповсюдження ВІЛ-інфекції серед населення земної кулі відбувається швидше, ніж передбачалося раніше, і на сьогодні воно вже набуває ознак широкомасштабної енідемії. Згідно з прогнозом ООН, до 2020 р. від СНІДу на планеті може померти 16 млн людей. Зважаючи на те, що біля 95 % із 36 млн ВІЛ-інфікованих проживають у країнах третього світу, вимирання в першу чергу загрожує їм. Кількість ВІЛ-інфікованих у Східній Європі та Центральній Азії сьогодні досягла 1 млн 600 тис. осіб, що у 10 разів перевищує показник попереднього десятиріччя. 75 % інфікованих – люди віком до 30 років [4, 5].

В Україні з 1987 по 2015 рр. зареєстровано 272 тис. випадків хвороби, з яких – 79 тис. захворювань на СНІД. Поширення ВІЛ-інфекції залежить також від шляху передачі. В період 1995-2007 рр. провідним був парентеральний шлях передачі. З 2008 р. статевий шлях передачі був вищий за показниками за парентеральний. На даний час передача ВІЛ-інфекції здійснюється переважно за допомогою парентерального та статевого шляху передачі [6, 7]. Попри те, що ВІЛ-інфекція належить до повільних інфекцій, у частини хворих може спостерігатися швидко прогресуючий перебіг захворювання з розвитком III-IV клінічних стадій (які раніше мали назву пре-СНІД та СНІД) [8, 9].

ВІЛ/СНІД став потужним чинником, що призводить до багатофакторного деструктивного впливу на соціальне та економічне життя суспільства. У найбільш уражених СНІДом регіонах відзначено зниження середньої очікуваної тривалості життя на 15-20 років. Для країн з негативним приростом населення масштабна епідемія ВІЛ-інфекції посилила існуючі демографічні проблеми. За статистичними даними, на початок 2015 р. в країні були інфіковані 272 тис. осіб. Показник поширеності ВІЛ-інфекції у віковій групі 15-49 років становив 0,62 % та залишається одним з найвищих серед країн Західної Європи. Ці дані відрізняються від даних офіційної статистики щодо кількості ВІЛ-позитивних осіб, які на кінець відповідного періоду перебували під медичним наглядом у спеціалізованих закладах охорони здоров'я (134,3 тис. осіб). Відмінність між цими показниками свідчить про те, що на сьогодні тільки кожна друга людина, яка живе з ВІЛ, звернулася за медичною допомогою та перебуває на обліку у закладі, що здійснює медичний нагляд за ВІЛ-позитивними особами [7]. Також різко зменшилася передача інфекції від матері до дитини. Незважаючи на те, що ВІЛ-інфекція належить до повільних інфекцій, у частини хворих може спостерігатися швидкопрогресуючий перебіг захворювання з розвитком III-IV клінічних стадій ВІЛ-інфекції уже на першому році хвороби. Поширеність швидкопрогресуючого перебігу ВІЛ-інфекції сьогодні варіює від поодиноких випадків в економічно розвинених країнах до 60-70 % у країнах Африки.

Смерть безпосередньо від захворювань, обумовлених СНІДом, вже стала реальною загрозою для тисяч ВІЛ-інфікованих мешканців країни. Так, в 2007 році від СНІДу померло понад 2,5 тис. осіб, у тому числі 23 дитини. На противагу в 2014 році показник смертності становив приблизно 3,5 тис. осіб. Отже, можна зробити висновок про негативну динаміку цього показника [9].

Специфічних симптомів, які б давали змогу визначити початкові стадії ВІЛ-інфекції, немає, водночас існують відмінності в клінічних проявах захворювання в різних регіонах, пов'язані в тому числі з високою поширеністю в країнах Африки, Азії, Латинської Америки шигельозу, малярії, амебіазу, шистосомозу, лейшманіозу, гельмінтозів. Також для цих країн характерний низький економічний рівень розвитку, що призводить до розповсюдженості білково-калорійної недостатності, полігіповітамінозу, недостатності мікроелементів, які також можуть впливати на перебіг ВІЛ-інфекції. Не можна виключити генетичні відмінності між представниками різних регіонів, які можуть впливати на перебіг ВІЛ-інфекції [10-12].

Вірус, що викликає ВІЛ-інфекцію, належить до родини ретровірусів. Суттєвою ознакою ретровірусів є наявність ферменту ревертази, або зворотної транскриптази, який забезпечує синтез дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК). Цей процес дістав назву зворотної транскрипції. ДНК містить спадкову інформацію клітини-хазяїна, а РНК переносить її. Ретровіруси здійснюють цей процес у зворотному порядку, причому швидкість такої транскрипції в тисячу разів більша, ніж у інших вірусів, чим пояснюється блискавична швидкість розмноження ВІЛ. Вірус ВІЛ-інфекції має відношення і до групи лентивірусів, куди потрапили також і віруси імунодефіциту мавп, кішок, овець. Для лентивірусів інфекційних захворювань характерний повільний перебіг із багаторічним прихованим періодом та наступним бурхливим перебігом із загрозою летального кінця. ВІЛ характеризується великою мінливістю, яка вища, ніж у вірусу грипу, у 30-100 разів.

Структура ВІЛ досить складна: збудник має діаметр близько 100 нм, характерну для ретровірусів конічну форму основного білка нуклеокапсиду (р24). У цьому протеїні закладено 2 одноланцюгові РНК та пов'язані з ними білки. В центрі р24 локалізуються ферменти та гени, що координують усі етапи життєвого циклу ВІЛ. Оболонка вірусу представлена фрагментом клітини-хазяїна, або ендоплазматичним ретикулом. У ліпідному шарі локалізуються глікопротеїни довжиною в 160 кД. Вони відіграють ключову роль у механізмі розпізнавання вірусом клітини-мішені хазяїна та проникнення всередину. Обов'язковою умовою для розвитку інфекційного процесу є розпізнавання клітин-мішеней та проникнення

в них. На поверхні клітини-мішені є рецептор – диференційований клітинний антиген CD4+. Найбільше їх мають клітини імунної системи – Т-лімфоцити, особливо їх субпопуляція Т-хелпери. Рецептор CD4+ знаходиться на поверхні клітин крові – моноцитів, макрофагів, еозинофілів. Важливе значення належить оболонковим глікопротеїнам. Найбільший глікопротеїн gp120 та менший за розміром gp41 зв'язуються з клітинним білком, завершуючи процес зв'язування. Відбувається злиття оболонки ВІЛ та мембрани клітини-хазяїна з проникненням вірусу всередину. На поверхні вірусу містяться численні глікопротеїнові відростки оболонки під сферичною оболонкою сплетіння, що утворює симетричну структуру «скелет», який підтримує серцевину вірусу у певному положенні. В конусоподібній середині вірусу в її розширеній частині «запаковані» тяжі РНК – геном вірусу, що за допомогою транскриптази вбудовується у генетичну інформацію клітини людини [5].

За останні роки багатьма дослідженнями доведено, що навіть в умовах відсутності CD4+ рецептора деякі клітини мають властивості вибірково адсорбувати на своїй поверхні ВІЛ, таким чином сприяючи його трансформуванню в організм. До таких клітин, зокрема, належать сперматозоїди та клітини слизової оболонки прямої кишки. Зазначені клітини відіграють особливо важливу роль у статевому шляху зараження. Певну чутливість до ВІЛ мають деякі клітини нервової системи. В процесі розмноження вірусу заражені клітини хазяїна гинуть. При ураженні клітин крові (лімфоцитів, макрофагів) у людини розвивається імунодефіцит, організм стає беззахисним перед бактеріями, іншими вірусами, факторами, що викликають виникнення онкологічних захворювань. Внутрішньоклітинна трансформація вірусу починається зі звільнення нуклеокапсиду від оболонки. При цьому допускається, що оболонка вірусу стає частиною мембрани клітини-мішені хазяїна. При цьому частково використовуються азотовмісні сполуки з цитоплазми клітини, далі утворений провірус проникає з цитоплазми в ядро, де вбудовується в геном клітини-хазяїна у вигляді молекул спіральної форми. Ця фаза життєвого циклу характеризується як латентна, або прихована, і відповідає безсимптомному перебігу ВІЛ-інфекції, що продовжується тривалий час. Закінчення латентної фази характеризується оживленням, активацією вірусу, його зворотною транскрипцією у матричну РНК. Починається продукування його копій із синтезом усіх компонентів вірусу. Спочатку утворюються довгі ланцюги білка-попередника за допомогою вірусного ферменту протеїнази. Утворення нових вірусних часточок відбувається біля мембрани інфікованої клітини, далі вони переміщуються на клітинну мембрану, формуючи сферичні утвори, що є зрілими дочірніми вірусами. Кінцевий етап внутрішньоклітинних перетворень ВІЛ-визволених дочірніх вірусів з інфікованої клітини-хазяїна відбувається шляхом відмежування. Таким чином, у клітині-мішені хазяїна відбувається утворення нових дочірніх віріонів, які мають здатність занурюватися в інші клітини-мішені. Руйнування вірусом клітин CD4+ обумовлює дезорганізацію функцій усіх частин імунної системи, що призводить до імунодефіциту [5, 13].

Хемокіни – це секреторні білки, що беруть участь в процесі дозрівання та рециркуляції лімфоцитів. Відкриття останніх років виявили тісний зв'язок між хемокінами, хемокіновими рецепторами та ВІЛ-інфекцією. Імунологічні або генетичні зміни, які впливають на рівень хемокінів, також впливають на сприйнятливість до ВІЛ-інфекції. Основною причиною мінливості ВІЛ є те, що у зворотній транскрипції вірусу відсутній механізм корекції помилок, це зумовлює виникнення точкових мутацій під час транскрипції вірусної РНК на провірусну ДНК. Швидкість мутаційного процесу становить 1 на 10 000 нуклеотидів у кожному циклі реплікації. Рекомбінація та висока реплікативна активність вірусу є додатковими механізмами мінливості [14].

Під час вивчення варіабельності геному ВІЛ-1 найбільшу увагу привертає одна з гіперваріабельних ділянок поверхневого глікопротеїду gp120 – V3-петля, в позиціях 303-307, які утворюють дисульфідний зв'язок. Навіть поодинокі заміни амінокислот у межах V3-петлі впливають на антигенні властивості gp120, інфекційність вірусу, його тропізм, швидкість репродукції, здатність нейтралізуватися антитілами.

Всі ізоляти ВІЛ-1 розподілені на дві основні групи: M (main) і O (outline). За варіантами будови гену *env* виділяють субтипи, або клайди, які позначають літерами латинського алфавіту A-K. В межах одного субтипу відмінності нуклеотидних послідовностей гену *env* не перевищують 15 %, а відмінності між субтипами, поєднаними в групу M, досягають 35 %. У переважній більшості спостережень, ВІЛ-інфекція спричинена вірусами групи M і включає 11 субтипів (груп гомології) для гену *env*. Група O містить лише невелику кількість варіантів, які виявляють у країнах Західної Африки. Під час вивчення субтипової структури ВІЛ-1 на території країн СНД встановлено, що в ранній фазі епідемії ВІЛ-інфекції визначали всі субтипи ВІЛ-1 [15].

До 1996 р. переважав субтип B, яким були інфіковані чоловіки гомосексуальної орієнтації і майже 25 % хворих, інфікованих гетеросексуальним шляхом [16]. Нозокоміальний спалах ВІЛ-інфекції у дітей в м. Елісті (Росія, 1989 р.) був викликаний субтипом G. Інші не B субтипи поширювались переважно гетеросексуальним шляхом. Характерною особливістю ранньої стадії епіде-

мії було не тільки розмаїття субтипів ВІЛ-1, а й суттєві розбіжності в межах одного субтипу [17].

Хемокінових рецепторів відомо більше 10, але основним є В-хемокіновий рецептор 5(CCR5) і А-хемокіновий рецептор 4(CXCR4). CCR5 – основний вторинний рецептор для М-тропних рецепторів і до ВІЛ-1, забезпечує проникнення в клітини-мішені Т-лімфоцитів. CCR5 відіграє основну роль при передачі вірусу, оскільки М-тропні ізоляти складають понад 90 % усіх відомих варіантів ВІЛ-1. Поліморфізм гена CCR5 пов'язують зі спадковою схильністю до ВІЛ-інфекції. Згідно з прийнятим визначенням, поліморфізм поодиноких нуклеотидів (single nucleotide polymorphisms – SNP) – це однонуклеотидні позиції у геномі ДНК, для яких у деякій популяції є різні варіанти послідовностей (алелі) [18]. Іншими словами, SNP являє собою заміну одного нуклеотиду у структурі ДНК, яка не позначається на структурі кінцевих продуктів гену та не призводить взагалі ні до яких змін у білкових продуктах, але може позначатися на функції білка, якщо мутація відбулася у кодуючій або регуляторній частині гену. Позначається SNP за назвою і номером нуклеотиду, за назвою амінокислоти, що кодується геном, за рестриктазою або за стандартним номером [19].

На сьогодні генотип CCR5del32/CCR5del32 є єдиним, який забезпечує високий рівень захисту від ВІЛ-інфекції, незалежно від шляху передачі. CCR5del32 реєструється переважно в популяціях європейського походження. Частота його найбільш висока в країнах Північної Європи (до 15-18 %), тоді як у більшості азіатських популяцій частота цього алеля не перевищує 3-5 %. У популяціях африканського походження і у корінного населення Америки цей алель практично відсутній. В осіб європеоїдної раси цей алель зустрічається з частотою 2-25 % в гетерозиготному стані і з частотою біля 0,2-2 % у гомозиготному. В той же час делеція практично не зустрічається в осіб інших рас [20, 21]. В Європі має місце градієнт частоти цього алеля: найбільша частота спостерігається на півночі у народів фіно-угорської групи, найменша – у народів, які мешкають на узбережжі Середземного моря. Встановлено, що частина синтезованих дефектних рецепторів CCR5 не фосфорилюється, внаслідок чого затримується в ендоплазматичному ретикулумі та не досягає клітинної мембрани [22]. Очевидно, це і є причиною впливу гетерозиготного генотипу на перебіг інфекційного процесу *in vivo*, збільшуючи середню тривалість безсимптомного періоду захворювання на декілька років [23]. Припускають, що стійкість до зараження ВІЛ-інфекцією пов'язана лише з відсутністю білка CCR5 на поверхні клітин-мішеней; в той же час тривалість безсимптомного періоду при ВІЛ-інфекції залежить як від концентрації цього рецептора на клітинній поверхні, так і від первинної структури цього білка. Очевидно також, що концентрацію CCR5 на клітинній поверхні можуть визначати заміни в інших генах клітини людини, прямо або опосередковано асоційованих з регуляцією експресії гена CCR5 і транспортом його продукту. Ще як мінімум дві мутації пов'язують зі швидкістю розвитку симптомів СНІДу. Вони локалізовані в генах, що кодують ліганди хемокінових рецепторів – SDF1-3'A і RANTES-28G [24-26]. Швидкість розвитку клінічних ознак у ВІЛ-інфікованих може бути пов'язана також з поліморфізмом інших генів людини, в першу чергу генів білків основного комплексу гістосумісності. В багатьох роботах показано, що швидкість розвитку клінічних проявів ВІЛ-інфекції пов'язана з деякими гаплотипами або окремими алелями основного комплексу гістосумісності I, II і III класів [3, 27]. Ця кореляція характерна як для дорослих, так і для дітей, і виявляється серед представників різних рас і етнічних груп. Цікаво, що особливо сприятливий прогноз має місце при комбінації алеля CCR5 Δ32 з певними гаплотипами генів основного комплексу гістосумісності класів I і II [28]. Швидкість розвитку симптомів СНІДу зростає у людей-носіїв певних замін у промоторних ділянках генів інтерлейкіну 10 (IL-10) і маннан-зв'язуючого лектину (MBL) [29, 30]. Показано, що у носіїв алеля IL-10-5'A підвищується вірогідність інфікування. Існують дані, що швидкість розвитку СНІДу асоційована з певними замінами в промоторній ділянці гена, що кодує фактор некрозу пухлин (TNF-α) [30]. Слід зазначити, що стійкість до зараження ВІЛ пов'язана з відсутністю на поверхні клітин рецепторів CCR5, проте не можна виключати й існування інших, досі не описаних змін, що впливають на резистентність людини до вірусу. На швидкість розвитку клінічних ознак, очевидно, можуть впливати різні мутації в різних генах людини, як уже відомі, так і не ідентифіковані, а також різноманітні комбінації таких мутацій у різних генах людини, як у межах однієї хромосоми, так і в геномі в цілому.

Індивіди, гомозиготні за CCR5del32, частка яких в європейських популяціях становить 1-2 %, володіють високою, але не абсолютною стійкістю до інфікування. Серед ВІЛ-інфікованих гомозиготні носії CCR5del32 реєструються дуже рідко – описано всього 12 таких випадків із понад 20 000 обстежених, і у більшості з них вірус володіє тропізмом до рецептора CXCR4, але не до CCR5 [31]. Захисний ефект у гомозиготних носіїв за алелем CCR5del32 підтверджений як у ряді епідеміологічних досліджень (збільшення частоти гомозигот серед ВІЛ-негативних індивідуумів сприяло ризику інфікування), так і при інфікуванні *in vitro* клітин $CD4^+$, отриманих від індивідів з різними генотипами. В експериментах *in vitro* показано, що клітини з таким генотипом стійкі до М-тропних варіантів вірусу. Його присутність збільшує рівень експресії гена CCR5 і прискорює розвиток СНІДу.

В гетерозиготному стані може призводити до збільшення безсимптомного періоду на 2-4 роки, підвищує вірогідність народження здорової дитини від ВІЛ-інфікованої матері. Припускають, що у людей з гетерозиготним генотипом, що містить цю мутацію, внаслідок взаємодії з продуктами гена CCR5, ускладнюється зв'язування цього рецептора з глікопротеїнами оболонки вірусу [32].

С.А. Боринская на основі метааналізу опублікованих даних вперше оцінила вплив гетерозиготного носійства делеційного алеля CCR5del32 на ризик ВІЛ-інфікування в популяціях європейського походження (без урахування шляхів зараження, серотипу вірусу і відмінностей в проведенні антиретровірусної терапії). Якщо вірогідність інфікування гетерозигот знижена на 13 %, то в популяції в цілому частота інфікування знижена на 3,3 %.

Таким чином, на популяційному рівні захист від інфікування ВІЛ та зниження смертності ВІЛ-інфікованих навіть у групах з високою частотою CCR5del32 (15 %) невелика. Крім CCR5del32 є інші гени, які впливають на сприйнятливість до ВІЛ-інфекції [31].

Доведено, що варіант 64I рецептора CCR-2 може утворювати димери з білком CXCR4, він замінює CCR5. Припускають, що CCR-2 64I затримує розвиток СНІДу шляхом уповільнення зміни CCR5 на CXCR4 у пацієнтів, що є переломним моментом у виснаженні CD4 Т-лімфоцитів і початком прояву СНІДу. Тиркус М.Я. досліджувала мутацію CCR-2 варіант 64I і дійшла висновку, що в гетерозиготному стані виявлено мутацію майже у 13 %, а в гомозиготному – у 1,36 %. Є також гендерна відмінність: у жінок у 2 рази частіше виявляли мутацію в гетерозиготному стані, ніж у чоловіків [14].

Стромальний фактор 1 (SDF1) – ліганд рецептора CXCR4, мутація – заміна G на A в 3' – нетранслюючій ділянці гена SDF1 (SDF1-3'A). Частота алеля SDF1-3'A у представників європеоїдної раси складає 19,8 %, у корінних мешканців Африки не перевищує 1 %. Гомозиготність за цією мутацією прямо пов'язана зі збільшенням безсимптомного періоду. Припускають, що наявність мутації веде до зростання рівня експресії SDF1 і, відповідно, блокування рецептора CXCR4.

Встановлено, що у людей з гомозиготою SDF1-3'A/3'A в поєднанні з однією з двох мутацій, CCR5del32 або CCR2-64I, безсимптомний період може тривати 10-15 і більше років, проте ці дані суперечливі [4, 24]. Хемокін RANTES – основний ліганд рецептора CCR5, мутація RANTES-29G локалізована в промоторній ділянці гена. Наявність цієї мутації також пов'язують з уповільненням процесу зниження кількості $CD4^+$-лімфоцитів у ВІЛ-інфікованих. Це, очевидно, пов'язано з підвищенням рівня експресії хемокіна RANTES, зв'язування якого з рецептором CCR5 може призводити до обмеження розмноження М-тропних варіантів вірусу ВІЛ. Частота прояву алеля найвища у японців і складає 17 % фенотипів [4, 25].

При дослідженні поліморфізму гену TNF-α (-308g/a) у ВІЛ-інфікованих осіб було встановлено характер розподілу алельних варіантів промотерної ділянки гену TNF-α у позиції -308 у ВІЛ-інфікованих українців європеоїдного походження. Ген, що кодує TNF-α, розміщений у 6 хромосомі (розташування – 21.3). Детекцію поліморфізму гену TNF-α проводили методом ПЛР з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів на базі лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету, кафедри інфекційних хвороб. Для порівняння частот алелей між різними дослідними групами використовували критерій χ^2, а при необхідності, коли кількість спостережень була меншою за 5 – точний тест Фішера. А.І. Піддубна в своїй роботі дійшла висновку, що розподіл алельних варіантів промотерного регіону гену TNF-α у позиції -308 серед українців характеризується домінуванням гомозигот за основним алелем, що співпадає з даними в інших європеоїдних популяціях. Відмічено певні відмінності у частоті генотипів серед ВІЛ-інфікованих осіб, які обумовлені підвищеним вмістом гетерозиготного G/A варіанту і відсутністю A/A варіанту гену. Визначено, що гетерозиготи за основним алелем гену TNF-α є сприйнятливими щодо інфікування ВІЛ незалежно від статі [33].

При дослідженні поліморфізму гену IL-4 (-590C/T) встановлено, що розподіл генотипів серед ВІЛ-інфікованих пацієнтів не залежав від наявності інфекційних захворювань бактерійного походження. Серед пацієнтів з клінічною картиною мікозів гетерозиготи C/T IL-4 зустрічалися у 2,3 разу частіше порівняно з особами без вказаної патології. При порівнянні розподілу генотипів у хворих з вірусними інфекціями встановлено, що гомозиготний варіант за основним алелем C/C IL-4 має тенденцію до асоціації з захворюваннями вірусного ґенезу [34].

Н.Ф. Сухаленцева в 2011 р. дослідила розподіл алелей і генотипів досліджених поліморфних ділянок генів цитокінів серед ВІЛ-інфікованих хворих і здорових донорів. Аналіз алельного поліморфізму T-330G промоторної ділянки гена ІЛ-2 дозволив встановити, що серед здорових донорів переважав генотип TT (59 %), гетерозиготний варіант TG – 34 % випадків, GG – 7 %. Серед пацієнтів з ВІЛ-інфекцією гетерозиготний генотип TG зустрічався в 53 % випадків, гомозиготний варіант G – у 6 %, а TT – у 40 %. Ступінь ризику прогресування, рецидивуючого перебігу був позитивно асоційований з алелем G промоторного регіону T-330G гена ІЛ-2. Алель T і гомозиготний генотип TT поліморфізму T-330G гена IL-2 обумовлювали ефект відносно швидкого прогресування ВІЛ-інфекції з генотипом TT до поліморфізму

T-330G гена IL-2 [35]. Багато вчених вказують на зниження продукції IL-2 при прогресуванні повільних вірусних інфекцій, що викликає зміщення балансу на користь Th2 і є частиною стратегії виживання вірусу [36-38]. У ході подальшого імуногенетичного дослідження розподілу алелей і генотипів поліморфізму C-590T гена IL-4 серед здорових осіб було виявлено переважання гетерозиготного генотипу CT (70 %) над гомозиготними варіантами CC (26 %) і TT (4 %). Серед пацієнтів з ВІЛ-інфекцією генотип CT промоторного регіону C-590T гена IL-4 зустрічався у 37 %, варіант TT – у 6 %, переважаючим виявився гомозиготний генотип CC (57 %). Зареєстровано збільшення частоти генотипу CC промоторного регіону C-590T гена IL-4 у ВІЛ-інфікованих порівняно з тотожними параметрами у здорових осіб.

Доведено, що поліморфізм C-590T у промоторних регіонах визначає рівень продукції ІЛ-4, а ген IL-4 частіше піддається транскрипції. Протизапальний ІЛ-4, будучи продуктом у $CD4^+$ Т-лімфоцитів з фенотипом Th2, виступає в якості антагоніста Т-активних цитокінів, сприяючи тим самим поляризації імунної відповіді в напрямку гуморального типу реагування [35, 38]. Розподіл алельних варіантів генів цитокінів серед пацієнтів з ВІЛ-інфекцією характеризується домінуванням генотипу TG, поліморфізмом T-330G гена IL-2 і генотипу CC поліморфної ділянки C-590T гена IL-4. Імунологічним фактором, що володіє прогредієнтним ефектом щодо схильності до ВІЛ-інфекції, є алель T і гомозиготний генотип TT поліморфізму T-330G гена IL-2. Ступінь ризику швидкого прогресування і несприятливого перебігу ВІЛ-інфекції залежить від алеля G промоторної ділянки T-330G гена IL-2, а також від гомозиготних генотипів CC промоторної ділянки C-590T гена IL-4 [39].

Ген MX2 зовсім нещодавно відкритий і ще до кінця не вивчений. Вчені провели експерименти на людських клітинах у лабораторії, вводячи вірус ВІЛ у дві різні клітинні лінії. В одній ген MX2 був в активному стані, в іншій менш активний або відсутній. Результати досліджень показали, що в клітинах з експресією MX2-гена вірус не мав здатності до самостійної реплікації, таким чином, його поширення було обмежено. В цей же час в клітинах з пригніченим або відсутнім геном реплікація і вірусне поширення тривало [40].

Висновки

1. Поліморфізм гену CCR5 пов'язують із спадковою схильністю до ВІЛ-інфекції, а генотип CCR5Δ32/CCR5Δ32 є єдиним, який забезпечує високий рівень захисту від ВІЛ-інфекції, незалежно від шляху передачі. Проте спостерігається відмінність у гомозиготів та гетерозиготів за даним генотипом. В останній час отримані дані, що люди з гомозиготним генотипом захищені майже на 97-98 % від ВІЛ-інфекції.

2. На відміну від гену CCR5, ген 64I рецептора CCR-2 уповільнює прогресування ВІЛ-інфекції на термінальну стадію – СНІД. Тут переважають індивіди з гетерозиготним генотипом і гендерна відмінність, жінки переважають над чоловіками.

3. Поліморфізм гену SDF1 у поєднанні з мутаціями вищеописаних генів призводить до тривалого безсимптомного періоду, який може продовжуватися до 15 років. При дослідженні поліморфізму більшості генів основною відмінністю є генотип за гомозиготним і гетерозиготним типом**.**

4. Вірус ВІЛ-інфекції не здатний до розмноження та реплікації за наявності гену MX2. Проте ще не до кінця відомо, в яких генотипах переважає ген та чи є гендерна відмінність. Тому поліморфізм гену MX2 потребує подальшого вивчення та дослідження.

Література

1. Duesberg P.H. Infectious AIDS: Have We Been Misled? / P.H. Duesberg. – North Atlantic Books, Berkeley, California, 1995. – 582 p.

2. Duesberg P.H. Inventing the AIDS virus / P.H. Duesberg. – Regnery Publishing, Inc., D.C. Washington, 1996. – 723 p.

3. Сазонова И.М. ВИЧ-СПИД «виртуальный вирус, или провокация века» / И.М. Сазонова. – М.: ООО «Изд-во «Олимп»: ООО «Изд-во АСТ», 2003. – 365 с.

4. Кучменко О.Б. Проблеми СНІДу в Україні та методика подолання / О.Б. Кучменко // Проблеми освіти. – 2006. – № 48. – С. 27-31.

5. Чорнецька В.Д. Деякі медико-біологічні аспекти формування у студентів уявлення про небезпеку ВІЛ/СНІД / В.Д. Чорнецька // Проблеми освіти. – 2006. – № 48. – С. 32-37.

6. Чоба Н.В. СНІД – реалії, профілактика, фізична реабілітація / Н.В.Чоба // Фізичне виховання, спорт і культура здоров'я у сучасному суспільстві: зб. наук. праць. – 2011. – № 4 (16). – С. 82-86.

7. ВІЛ-інфекція в Україні. Інф. бюлетень № 35. – К.: МОЗ України, Інф. Центр профілактики і боротьби зі СНІДом, 2011. – 62 с.

8. ВИЧ-инфекция у детей / [А.Г. Рахманова, Е.Н. Виноградова, Е.Е. Воронин и др.] – СПб: Питер, 2003. – 440 с.

9 ВІЛ-інфекція в Україні. Інф. бюлетень № 44. – К.: МОЗ України, Інф. Центр профілактики і боротьби зі СНІДом, 2015. – 24 с.

10. Chakraborty R. HIV-1 infection in children: A clinical and immunologic overview / R. Chakraborty // Current HIV Research. – 2005. – Vol. 3. – P. 31-41.

11. Mortality in HIV-infected and uninfected children of HIVinfected and uninfected mothers in rural Uganda / [H. Brahmbhatt, G. Kizogi, F. Wabwire-Mangen et al.] // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2006. – Vol. 41, N 4. – P. 504-508.

12. Onankpa B. Pattern of Pediatric HIV/AIDS: A Five-Year Experience in a Tertiary Hospital / B. Onankpa // J. Nat. Med. Ass. – 2008. – Vol. 100, N 7. – P. 56-60.

13. Заплатиський В.М. Питання профілактики ВІЛ/СНІДу у галузевих стандартах вищої школи / В.М. Заплатиський, В.Д. Чорненька // Безпека життя і діяльності людини – освіта, наука, практика. Матеріали IV наук.-метод. конф. – К.: НАУ, 2005. – С. 87-92.

14. Тиркус М.Я. Частота мутацій CCR2-64I гена хемокінового рецептора CCR2, що асоціюється з уповільненням прогресування

СНІДу, у жителів Західної України / М.Я. Тиркус // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2013. – Т. 13. – С. 334-338.

15. Кравченко О.М. Субтипова структура популяції ВІЛ-1, що циркулює на території України / О.М. Кравченко, М.Г Люльчук, А.М. Щербінська // Укр. журн. дермат., венерол., косметол. – 2002. – № 1. – С. 101-102.

16. Козлов А.П. ВИЧ в России, Белоруссии и на Украине / А.П. Козлов // Рус. журн. ВИЧ/СПИД и родственные проблемы. – 2000. – Т. 4, № 1. – С. 11-14.

17. Рекомбинантные вирусы иммуннодефицита человека / А.Ф. Бобков, Т.В. Казеннова, Л.М. Селимова // Журн. микробиол. – 1999. – № 1. – С. 45-47.

18. Brookes A.J. The essence of SNPs / A.J. Brookes // Gene. – 1999. – Vol. 46, N 2. – P. 236-244.

19. Enthusiasm mixed with skepticism about single nucleotide polymorphism markers for dissecting complex disorders / [A.C. Syvanen, U. Landegren, F. Issakson et al.] // Eur. J. Hum, Genet. – 1999. – Vol. 7, N 1. – P. 98-101.

20. CTL escape and increased viremia irrespective of HIV-specific $CD4^+$ T-helper responses in two HIV-infected individuals / [M.J. Geels, C.A. Jansen, E. Baan et al.] // Virology. – 2006. – Vol. 345, N 1. – P. 209-219.

21. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure / [W.A. Paxton, S.R. Martin, D. Tse et al.] // Nat. Med. – 1996. – Vol. 2, N 4. – P. 412-417.

22. Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by ccr5delta32 / [M. Benkirane, D.Y. Jin, R.F. Chun et al.] // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, N 49. – P. 30603-30606.

23. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CRR5 structural gene / [M. Dean, M. Carrington, C. Winkler et al.] // Science. – 1996. – Vol. 273, N 5283. – P. 1856-1862.

24. Petersen D.C. Risk for HIV-1 infection associated with a common CXCL12 (SDF1) polymorphism and CXCR4 variation in an African population / D.C. Petersen, R.H. Glashoff, S. Shrestha // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2005. – Vol. 40, N 5. – P. 521-526.

25. Analysis of genetic polymorphisms in CCR5, CCR2, stromal cell-derived factor-1, RANTES, and dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in seronegative individuals repeatedly exposed to HIV-1 / [H. Liu, Y. Hwangbo, S Holte et al.] // J. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 190, N 6. – P. 1055-1058.

26. Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects HIV-1 disease progression / [H. Liu, D Chao, E.E. Nakayama et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – Vol. 96, N 8. – P. 4581-4585.

27. Consistent associations of HLA class I and II and transporter gene products with progression of human immunodeficiency virus type 1 infection in homosexual men / [I.P. Keet, J. Tang, M.R. Klein et al.] // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 180, N 2. – P. 299-309.

28. Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF1, and HLA genes can predict the long-term in human immunodeficiency virus-1-infected individuals / [M. Magierowska, I. Theodorou, P. Debre et al.] // Blood. – 1999. – Vol. 93, N 3. – P. 936-941.

29. Genetic restriction of HIV-1 pathogenesis to AIDS by promoter alleles of IL10 / [H.D. Shin, C Winkler, J.C. Stephens et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – Vol. 97, N 26. – P. 14467-14472.

30. Presence of the variant mannosebinding lectin alleles associated with slower progression to AIDS / [J. Maas, M. Brouwer, A. Krol et al.] // AIDS. – 1998. – Vol. 12, N 17. – P. 2275-2280.

31. Borinskaya S.A. Risk of HIV Infection and Lethality Are Decreased in CCR5del32 Heterozygotes: Focus Nosocomial Infection Study and Meta-analysis / S.A. Borinskaya, Zh.M. Kozhekbaeva, A.V. Zalesov // Acta Naturae. – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 42-52.

32. Hendel H. Distinctive effects of CCR5, CCR2, and SDF1 genetic polymorphisms in AIDS progression // H. Hendel, A. Lebuanec, N. Lachgar Henon // J. Acquir Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. – 1998. – Vol. 19. – P. 381-386.

33. Піддубна А.І. Поліморфізм гену TNF-α (-308g/a) у ВІЛ-інфікованих осіб / А.І. Піддубна // Матер. Всеукр. наук.-метод. конф. і пленуму Асоціації інфекціоністів Сумщини, 19-20 червня 2013 р. – Суми.: Сум ДУ, 2013. – С. 81-83.

34. Піддубна А.І. Поліморфізм генів цитокінів у хворих на ВІЛ- інфекцію / А.І. Піддубна, М.Д. Чемич // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – N 2 (Suppl. 1). – P. 29-37.

35. Анализ полиморфных вариантов генов цитокинов у пациентов с ВИЧ-инфекцией / [Н.А. Сухаленцева, И.О. Наследникова, А.С. Чернов и др.] // Мед. иммунология. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 79-82.

36. Соколова Ю.В. Особенности секреции цитокинов и их рецепции в динамике ВИЧ-инфекции / Ю.В. Соколова, Л.П. Сизякина // Иммунология. – 2007. – № 6. – С. 324-327.

37. Shrestha S. Behavioral Risk Exposure and Host Genetics of Susceptibility to HIV-1 Infection / S. Shrestha, A. Strathdees, N. Galai // J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 193. – P. 16-26.

38. Mogensen T.H. Molecular Pathways in Virus-Indused Cytokine Production / T.H. Mogensen, S.R. Paludan // Microbiol. Biol. Rev. – 2001. – Vol. 65, N 1. – P. 131-150.

39. Коненков В.И. Полиморфизм промоторных регионов генов IL-4 и -10 и фактора некроза опухолей α у ВИЧ-инфицированных / В.И. Коненков, М.В. Смольникова // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – № 4. – С. 449-451.

40. Human MX2 is an interferon-induced post-entry inhibitor of HIV-1 infection / [C. Goujon, O. Moncorgé, H. Bauby et al.] // Nature. – 2013. – N 502. – P. 559-562.

GENE POLYMORPHISM OF HIV-INFECTION

V.D. Moskaliuk, M.O. Andrushchak

SUMMARY. Analyzed the incidence of HIV infection and gene polymorphism studies. Particular attention is paid mutations with genotype CCR5 Δ32 and CCR-2 variant 64I, their relationship with other mutations, found their influence on the course of HIV infection. The influence of chemokines, cytokines and interleukins in HIV-positive at genetic polymorphism.

Key words: *HIV-infection, gene polymorphism, genotype, chemokines, cytokines.*

Отримано 15.10.2015 р.