

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ДЕРМАТОЛОГИИ, ВЕНЕРОЛОГИИ  
И ВИЧ/СПИД ИНФЕКЦИИ**

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

Посвящен  
90-летию со дня рождения профессора Б.А.Задорожного

Под редакцией проф. А.М.Дашука

Харьков  
2013

ББК 55.83

УДК 616.5+616.97+687.55+614.2

Редакційна колегія: чл.-кор. НАМН України, проф. В.Н.Лесової, проф. Б.Г.Глухенький, проф. А.М.Дашук (отв. редактор), проф. Ю.В.Андрашко, проф. Л.А.Болотная, проф. А.Д.Дюдюн, проф. Л.Д.Калужная, проф. О.Н.Ковалева, проф. В.Г.Кравченко, проф. Я.Ф.Кутасевич, проф. А.И.Литус, проф. В.В.Мясоедов, доц. Н.А.Пустовая (секретарь), проф. В.И.Степаненко, проф. В.П.Федотов

Адрес редакційної колегії: Україна, 61002, Харків, ул.Революції, 15, кафедра дерматології, венерології і СПИДа, тел. (057)700-41-33, e-mail: [kafedraderma@i.ua](mailto:kafedraderma@i.ua)

В збірнику кафедри дерматології, венерології і СПИДа Харківського національного медичного університету освітлена історія створення і становлення кафедри. Згадано внесок професорів І.Ф.Зеленева, Л.А.Соболева, І.С.Попова, Б.А.Задорожного і др. в розвиток дерматовенерології. Розглянуто питання етіопатогенезу, клініки, діагностики і лікування ряду кожвенболезней.

Для наукових працівників, спеціалістів.

Актуальні питання дерматології, венерології, і ВІЛ/СНІД інфекції: Збірник наукових праць. – Х.: видавництво «С.А.М.», 2013. - 402с.

У збірнику наукових праць кафедри дерматовенерології Харківського національного медичного університету висвітлено історію утворення і становлення кафедри. Відзначено внесок професорів І.Ф.Зеленева, Л.А.Соболева, І.С.Попова, Б.А.Задорожного та ін. у розвиток дерматовенерології. Розглянуто питання етіопатогенезу, клініки, діагностики та лікування низки шкірно-венеричних хвороб.

Для науковців, спеціалістів

*Ответственность за содержание, подбор и изложение фактов в статьях несут авторы.*

ISBN

ББК 55.83

© Харківський національний медичний університет, 2013

## ПРОБЛЕМА В ОБЛАСТИ КОНСТРУИРОВАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ/СПИД ИНФЕКЦИИ.

*А.М.Дацук, О.М.Карабан*

*Харьковский национальный медицинский университет,  
Харьковская академия последипломного образования*

**Ключевые слова:** ВИЧ, СПИД-инфекция, вакцина

В настоящее время трудно назвать более значительную и важную проблему, которая стоит перед медицинской наукой и практическим здравоохранением - проблема борьбы со СПИД/ВИЧ инфекцией. Эпидемия этой болезни имеет пандемическое распространение, охватила почти все континенты и представляет собой новый вид чрезвычайной ситуации в глобальном масштабе. Прошло более трех десятилетий, когда впервые был идентифицирован вирус иммунодефицита человека. С этого времени начались активные работы по изучению патогенеза, диагностики, лечения и профилактики. Большинство исследователей считают как эффективный и перспективный метод специфической иммунопрофилактики - вакцину против ВИЧ инфекции, которая должна стимулировать индукцию антител для нейтрализации вируса в организме человека. Такие вакцины разрабатываются во многих экономически развитых странах, используя при этом новейшие технологии. Вместе с тем проблема получения эффективных вакцин остается до настоящего времени не решенной.

Нами был проведен аналитический обзор данных литературы по конструированию вакцин против ВИЧ инфекции. Надо отметить, что существуют несколько направлений в этой области - это метод получения рекомбинантных вакцин, для их разработки используются плохореплицирующиеся вирусы или бактерии. В качестве вирусного вектора могут быть использованы вирус оспы канареек, аденовирус, полиовирус и др., в качестве бактериального вектора - сальмонелла, листерия. Прежде всего, необходимо выбрать наиболее активный иммуноген. Следует отметить, что ген ВИЧ инфекции кодирует более 12 генных продуктов, любой из которых может использоваться в качестве иммуногена для вакцины. Синтез этих вирусных белков регулируется трансактиваторами вируса, включая белки, образующиеся неинформационной РНК, синтезированной на вирусной РНК после ее глубокого сплайсинга, что происходит на ранних стадиях инфекции. Другие белки синтезируются на информационной РНК, образующихся из не подвергнутых сплайсингу вирусных РНК, синтезированных на поздних стадиях жизненного цикла вируса в клетке. Некоторые из этих вирусных белков важны для структуры вируса и синтезируются в больших количествах: это белки матрикса и капсида. Другие информационные РНК кодируют синтез регуляторных белков, моделирующих экспрессию генов вируса, но они синтезируются в малых количествах. Ряд исследований были сосредоточены на использовании белков **Gag** в качестве иммуногенов для индукции цитотоксических Т-лимфоцитов, белок **Env**, который находится на поверхности вируса, экспонирование этого белка на неповрежденных вирусных частицах представляет мишень для нейтрализующих антител. Считается, что эти два компонента являются важными для конструирования высокоэффективной вакцины.

Среди вирусных РНК продуктов с высокой интенсивностью происходит экспрессия и-РНК для **Nef** [1, 2, 3]. Кроме этого регуляторные белки **Tat** и **Rev** обладают мощными регуляторными свойствами [4]. Ряд авторов приводят данные исследований возможности использования белка **Tat** в качестве компонента для создания вакцины, что показано в эксперименте на низших приматах [5-7].

Для создания высокоэффективной вакцины против ВИЧ инфекции используются различные адъюванты, которые могут стимулировать иммунный ответ на специфические антигены. Ряд адъювантов были исследованы в рамках клинических изысканий, такие как олиголизин, липопептиды и сополимеры на основе полилактоида [8]. Изучались также хорошо известные гидроокись алюминия, неполный адъювант Фрейнда; гемоцианин пиявки и бупивикаин (для ДНК вакцин). Кроме того, использовались новейшие технологии, включая использование цитокинов или векторов, экспрессирующих ДНК цитокины, применение иммуностимулирующих ДНК последовательностей и получение новых комплексов для создания микрочастиц, которые могут способствовать захвату клеток, содержащих антиген.

Существует ряд предположений (механизмов), объясняющих действие адъюванта: избирательная (селективная) стимуляция специфических популяций Т-лимфоцитов [9]; доставка антигена антигенсодержащим клеткам [10]; направление антигена на путь МНС класса I и МНС класса II [11]; образование депонированной формы антигена [12]; стабилизация эпитопов [13]. Надо отметить, что до настоящего времени не имеется какого-то конкретного (предпочтительного) адъюванта для использования в вакцинах против СПИДа.

Таким образом, рекомбинантная вакцина против СПИДа остается предметом многочисленных исследований, которые не выходят за рамки экспериментальных изысканий.

Одним из новых направлений получения вакцины против СПИДа является создание ДНК вакцины. Это направление сегодня рассматривается многими учеными как наиболее перспективное. В организм человека вводится фрагмент ДНК соответствующий гену, кодирующий определенный белок ВИЧ. В результате этого в организме человека вырабатывается один из вирусных безопасных белков, к которому иммунная система интенсивно вырабатывает антитела, что и препятствует развитию болезни.

Необходимо отметить, что по сравнению с рекомбинантными вакцинами, полученными в клетках бактерий или дрожжей, экспрессированные с использованием ДНК-вакцины имеют нативную конформацию. Антитела, образовавшиеся в ответ на введение таких иммуногенов, с большой вероятностью могут распознавать нативные неденатурированные белки возбудителя и обеспечивать защиту от них. Кроме того, синтез антигенов в клетках приведет к более эффективному процессингу МНС класса I и воспроизведению антигенов, что будет стимулировать ЦТЛ ответ [14].

Исследования на макаках-резус показали, что животные, которые получали ДНК-вакцину с рекомбинантной плазмидой, кодирующей интерлейкин-2, отвечали хорошим ЦТЛ ответом и отсутствием признаков клинического заболевания после введения патогенного гибридного рекомбинантного ВИЧ/ВИО [15].

Вместе с тем, несмотря на обнадеживающие результаты экспериментального испытания у грызунов, вакцинация ДНК вакциной у приматов оказалась менее эффективной.

Ряд исследователей [16, 17] с целью улучшения таких вакцин предлагают разные подходы к их конструированию. Один из них - это использование более мощной экспрессии генов, когда применяются сильные энхансеры или проводится амплификация гена. Другой - в модификации транскрипционной и трансляционной эффективности чужеродной ДНК за счет использования кодонов.

Ниже приведен перечень вакцин, разрабатываемых в настоящее время [18].

**Рекомбинантные субъединичные вакцины.** Технология рекомбинантной ДНК состоит в том, что отрезок генома (отвечающий за продукцию нужного антигена) вируса, встраивается в геном другого микроорганизма-носителя – например, дрожжевую клетку, безвредный для человека вирус и т.п. Размножающийся организм-носитель попутно производит нужный антиген.

Классическим представителем рекомбинантных вакцин против ВИЧ-инфекции является AIDS VAX (Vaxgen Inc., США), содержащая поверхностный белок вируса (gp120) - первая вакцина, которая была испытана на людях.

состояние разработки субъединичных рекомбинантных вакцин:

- gp120 - фаза III (AIDS VAX, пр-ва Vaxgen Inc., США)
- gp120 - фаза II (ALVAC (Авентис Пастер, Франция и Кайрон, США)
- р24 (основной белок оболочки сердцевины (core) вируса) - фаза I

**Инактивированные субъединичные вакцины.**

Вакцина на основе Tat-белка (или токсина) вируса, созданная в лабораториях "Авентис Пастер". Tat-белок обладает токсическими свойствами, является внутренним регуляторным белком ВИЧ, в присутствии которого происходит размножение вируса. Начальные исследования показали, что отсутствие Tat-токсина способно останавливать репликацию вируса, то есть антитела к этому белку теоретически могут иметь и профилактический, и терапевтический эффекты. Вакцина на основе Tat-токсина, возможно, способна как защищать от инфекции, так и останавливать ее течение.

В настоящее время проходит доклиническая разработка такой вакцины.

**ДНК-вакцины.** Препараты основаны на принципе "обнаженной ДНК" (naked DNA) и представляют собой очищенные нуклеотидные последовательности ДНК вируса. Принцип действия основан на поглощении клетками организма генетического материала вируса, эндогенном синтезе вирусных белков, которые бы представляли собой вакцину. На основе этого подхода были созданы несколько эффективных экспериментальных вакцин, в числе которых препарат для профилактики у животных инфекции вирусом иммунодефицита обезьян (Simian Immunodeficiency virus, SIV).

В настоящее время проходит I фазу разработки.

**Живые рекомбинантные вакцины на основе вирусных векторов.** Существует множество вирусных векторов, которые теоретически могут быть использованы при создании ВИЧ-вакцины: альфавирусные векторы, аденовирус-ассоциированный вирус (AAV) и осповирусы (вирус птичьей оспы, вирус куриной оспы). Несмотря на существование большого числа разработок, в клинических испытаниях участвуют только две вакцины.

Вакцина на основе вируса птичьей оспы (ALVAC (Авентис Пастер, Франция и Кайрон, США) проходит II фазу разработки.

Препарат на основе вакцинного вируса натуральной оспы проходит I фазу разработки.

**Живые рекомбинантные вакцины** на основе бактериальных векторов. Генетический материал вируса иммунодефицита человека встраивается в геном бактерии. Преимуществами таких вакцин являются относительное недорогое производство и простота введения (перорально). В настоящее время в качестве бактериальных носителей рассматриваются представители родов Salmonella (вызывают брюшной тиф, паратиф, сальмонеллез), Shigella (дизентерия), Listeria (листериоз) и БЦЖ.

Вакцина на основе бактериальных векторов Salmonella проходит I фазу разработки.

**Живые аттенуированные (ослабленные) вакцины** широко используются по всему миру для профилактики таких вирусных инфекций, как полиомиелит (ОПВ), корь, паротит, краснуха, ветряная оспа.

Главной проблемой в создании живых ВИЧ-вакцин, является безопасность. Как показал опыт создания вакцины против вируса иммунодефицита обезьян, в небольшом проценте случаев вакцинация приводила к клинически выраженной инфекции у животных, привитых SIV-вакцинами на основе определенных штаммов.

Разработок аттенуированных вакцин пока нет.

**Цельновирионные инактивированные вакцины.** Вакцины подобного типа широко используются для профилактики других инфекций (грипп, гепатит А). Преимуществом является наличие в вакцине полного спектра вирусных антигенов при отсутствии опасности размножения вируса. Ввиду технологических и других проблем к настоящему времени была разработана только одна вакцина-кандидат. В клинических испытаниях она оказалась неэффективной в предотвращении ВИЧ-инфекции.

Разработок таких вакцин нет.

**Вакцины на основе вирусоподобных частиц.** Такие вакцины содержат небольшое количество синтезированных белков вируса, которые при введении в организм создают иллюзию присутствия целого вируса.

Вакцин на основе вирусоподобных частиц в клинических исследованиях нет.

**Синтетические пептидные вакцины.** Состоят из небольших, наиболее иммуногенных отрезков белков вируса, являющихся достаточными для формирования иммунного ответа.

Разработки синтетических пептидных вакцин в клинических исследованиях:

- p17 (один из белков сердцевины вируса) проходит I фазу разработок
- Липопептиды проходят I фаза разработок
- Основанные на V3 (одна из фракций белка gp120) проходит I фаза разработок

**"Дженнеровские" вакцины.** В случае ВИЧ-инфекции подобными, но не идентичными возбудителями являются вирус иммунодефицита обезьян (SIV), более слабый штамм вируса иммунодефицита ВИЧ-2 и лентивирусы других видов, таких как вирус энцефалита и артриты коз.

Разработки таких вакцин нет.

**Комплексные вакцины.** Принцип действия таких вакцин состоит в том, чтобы индуцировать иммунный ответ не к самому вирусу, а к рецепторам на поверхности клеток, в которые этот вирус может проникнуть. В случае ВИЧ, необходимо блокировать особые рецепторы вируса на клетках человека такие как CD4 и CCR5.

Разработки таких вакцин нет.

**Комбинированные вакцины** сочетают в себе одновременно несколько подходов в формировании иммунного ответа к ВИЧ. Одна из существующих разработок состоит из векторной вакцины и рекомбинантного gp120, в другой используется ДНК для первичного стимулирования иммунной системы.

Вакцина на основе вируса птичьей оспы + gp120 разработана и проходит I фазу испытаний.

Таким образом, трудности в создании эффективной вакцины против ВИЧ инфекции связаны с рядом вопросов: прежде всего, с тем, что вирус иммунодефицита человека имеет чрезвычайно высокую генетическую изменчивость, которая не позволяет создать такой биопрепарат, который был бы активным не только в отношении вариантов вируса, но и его разных субтипов [1]. Немаловажным является также отсутствие должных иммуногенных коррелятов, а также адекватной экспериментальной модели.

#### **Литература:**

1. Дашук А.М., Черникова Л.И. ВИЧ/СПИД-инфекция. Харьков, 2006. – С.538-541.
2. Kesoler, H. W. III et al. Importance of the nef gene for maintenance of high virus loads and for development of AIDS. - 1991. - 65. - P.651-662.
3. Schwartz O., Marïchal Y., Le Gall S., Lemonnier F. & Heard J. M. Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein // Nature Med.-1996.-2.-P.338-342.
4. Emerman M. & Malim M.H. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology // Science. - 1998. - 280. -P. 1880-1884.
5. Safaro A. et al. Control. of SHIV-89.6P-infection of cynomolgus monkeys by HIV-1 Tat protein vaccine // Nature Med. - 1999. - 5. -P.643-650.
6. Pauza CD. et al. Vaccination with tat toxoid attenuates disease in simian/HIV-challenged macaques: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97. -2000.-P.3515-3519.
7. Mascola I.R et al. Protection of macaques against vaginal transmission of a pathogenic HiV-1/SIV chimeric virus by passive infusion of neutralizing antibodies // Nature Med. - 2000. -6.-P.207-210.
8. Mascola J.R et al. Protection of macaques against simian/human immunodeficiency virus 89.6PD by passive transfer of neutralizing antibodies // J. Virol. - 1999. - 73. - P.4009-4018.
9. Rowland-Jones S.L. et. al. Cytotoxic T-cell response to multiple conserved epitopes in HIV-resistant prostitutes in Nairobi // J. Clin. Invest. - 1998. - 131; - P. 1758-1765.
10. Saag M.S. et at. Extensive variation of human immunodeficiency virus type-1 in vivo //Nature. - 1988. - 3J4, - P.440-444 0-
11. Melnick J.L. in Fields Virology (eds Fields B.N., Knipe D.M. & Howley P.M.) -Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996. - P.655-712. .
12. Chanock R.M. Reminiscences of Albert Sabin and his successful strategy for the development of the live oral poliovirus vaccine: Proc. Assoc. Am. Phys. - 1996. -108- - P I 17-126.
13. Luciw P.A. in Fields Virology (eds Fields B.N., Knipe D.M. & Howley P.M.) - Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996. - P. 1881 -1952.

14. Wang R. et al. Induction of antigen-specific cytotoxic T-lymphocytes in humans by a malaria DNA vaccine // *Science*. - 1998. - 282. -P.476-480.
15. Barouch D.H. et al. Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination // *Science*. - 2000. - 290. - P.486-492.
16. Schwartz S. et al. Mutational inactivation of an inhibitory sequence in human immunodeficiency virus type J results in Rev-independent gag expression // *J. Virol.* - 1992. - 66. -P.7176-7182.
17. Andre S. et al. Increased immune response elicited by DNA vaccination with a synthetic gp 120 sequence with optimized codon usage // *J. Virol.* - 1998. - 72 - - P. 1497-1503.
18. Бекзентеев Р.Р. Перспективы разработки вакцин против ВИЧ-инфекции./ *Вакцинация и ВИЧ-инфекция* №2 (14). – 2001.

#### **ПРОБЛЕМА В ГАЛУЗІ КОНСТРУЮВАННЯ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВІЛ/СНІД ІНФЕКЦІЇ.**

*А.М.Дащук, О.М.Карабан*

*Харківський національний медичний університет,*

*Харківська академія післядипломної освіти*

Розглядається розробка вакцин проти ВІЛ/СНІД інфекція яка триває протягом багатьох років. Здійснено аналіз наявних вакцин, їх теоретична та практична значимість. Досліджено фази розробки.

#### **PROBLEM IN INDUSTRY OF CONSTRUCTING OF VACCINE AGAINST HIV/AIDS OF INFECTION.**

*A.M.Daschuk, O.M.Caraban*

*Kharkiv national medical university,*

*Kharkiv academy of postgraduate education*

Development of vaccines is examined against HIV/AIDS infection that lasts during many years. The analysis of present vaccines is carried out, them theoretical and practical meaningfulness. The phases of development are investigational.