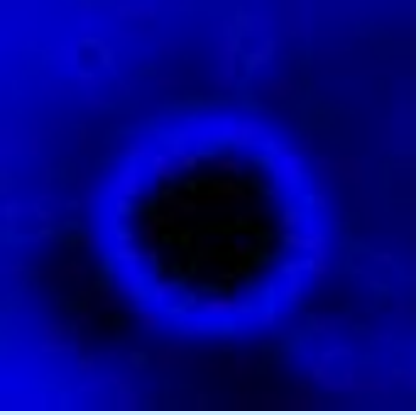
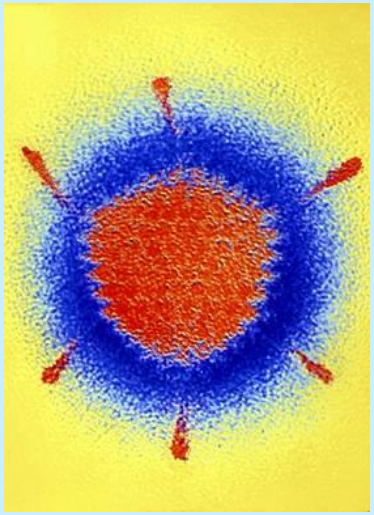
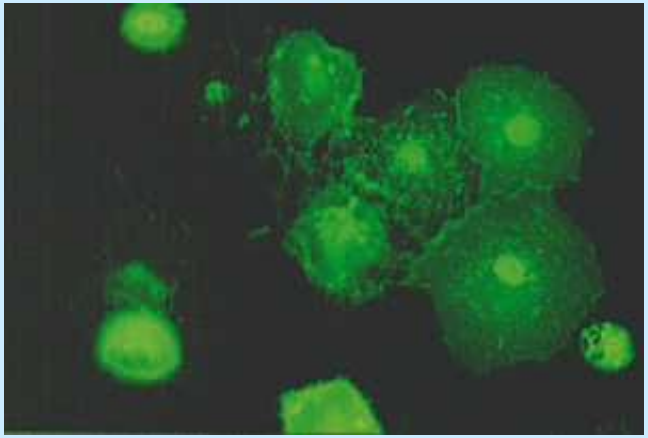


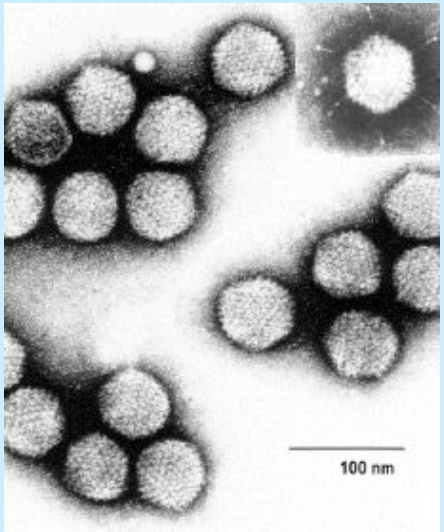
Лекція №4



Родина Adenoviridae

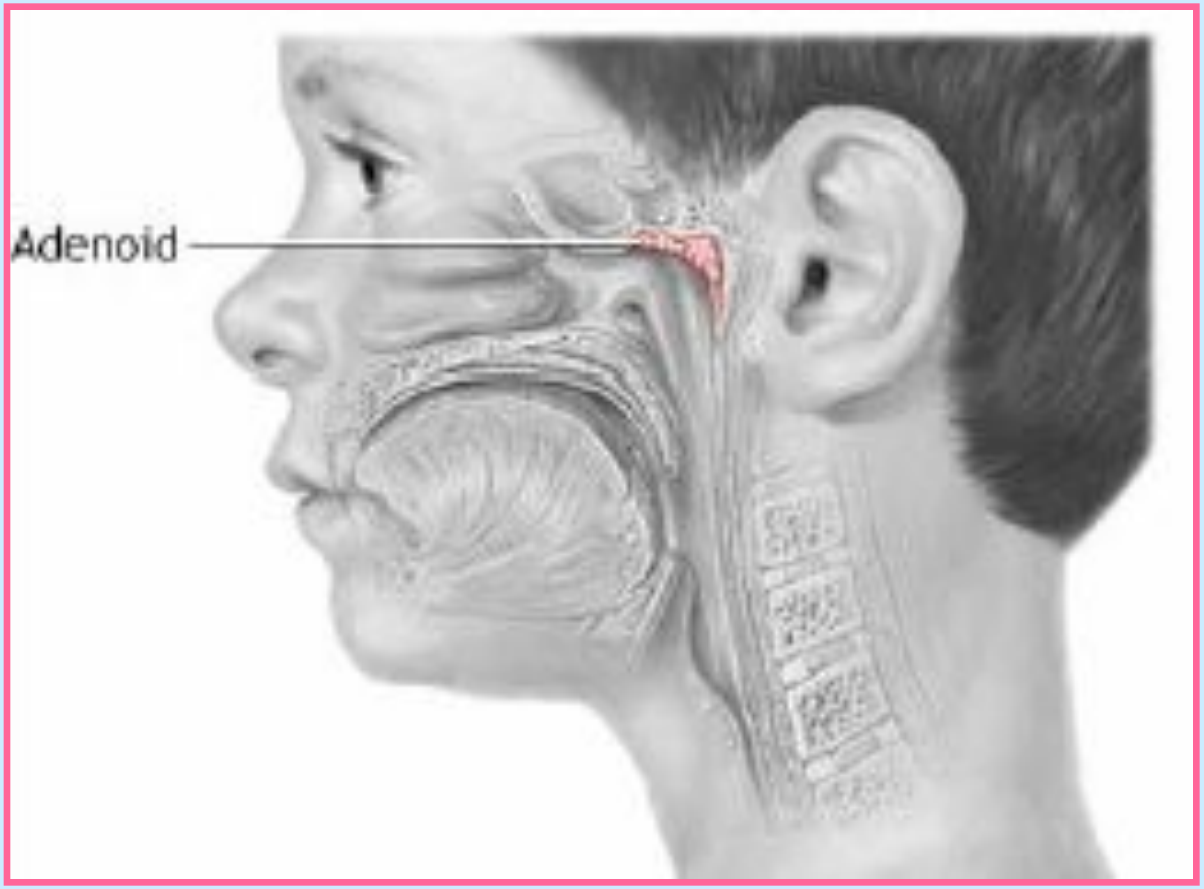
1. Класифікаційне положення родини
2. Аденовірусні захворювання людини та тварин
3. Загальна характеристика аденовірусів
4. Патогенез та епідеміологічні особливості аденовірусної інфекції





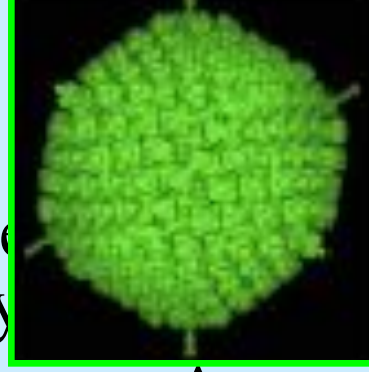
Аденовіруси

ДНК віруси, вперше виділені з культури аденоїдів у 1953 р.



- Аденоїди (від гр. *aden* - залоза, *eidos* - вид) – розростання глоткового мигдалика, часто називають носоглотковий мигдалик

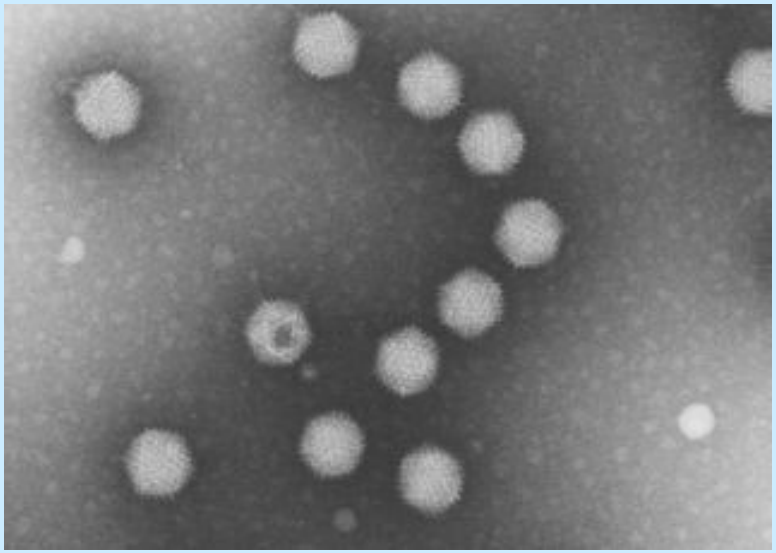
Родина *Adenoviridae*

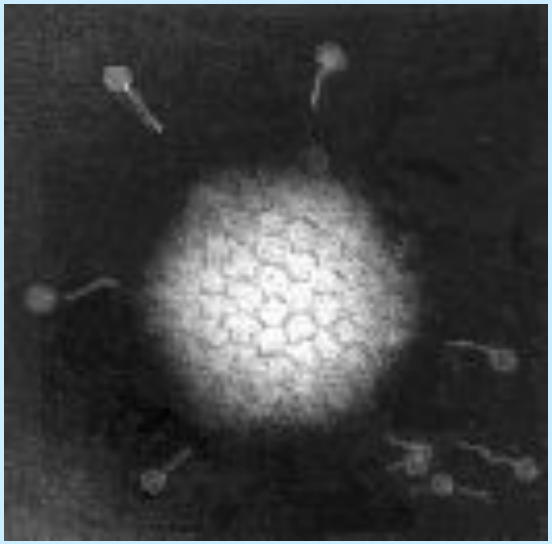


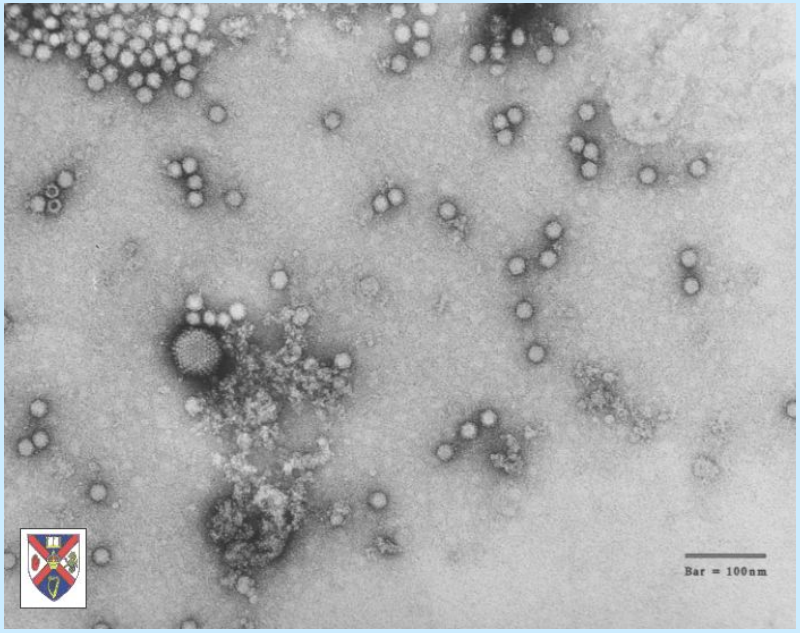
- 1. **Рід *Atadenovirus*** – аденовірус корів D, аде
качок А, аденовірус овець D, аденовірус опосу
- 2. **Рід *Aviadenovirus*** – аденовірус соколу А, адновіруси птахів (курячих та гусеподібних) А, В, С, D, Е, аденовіруси гусей А, аденовіруси індиків А.
- 3. **Рід *Ichtadenovirus*** – аденовірус осетра А
- 4. **Рід *Mastadenovirus* -** ссавці (25) – аден6овіруси людини А-G, аденовіруси кажанів А, В, аденоввіруси корів А, В, С, аденовірус собак А, аденовірус коней А, В, аденовірус мишей А, В, С, аденовірус овець А,В, аденовірус свиней А, В, С, аденовірус мавп А, аденовірус тупаї А.
- 5. **Рід *Siadenovirus*** – аденовірус жаби А, аденовірус великої синиці А, аденовіруси хижих птахів А, аденовірус індиків А

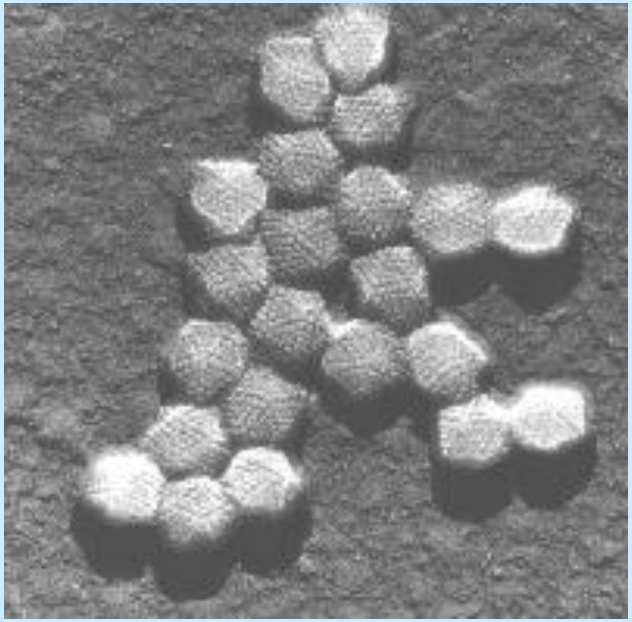
Аденовіруси людини об’єднано в 6 груп:

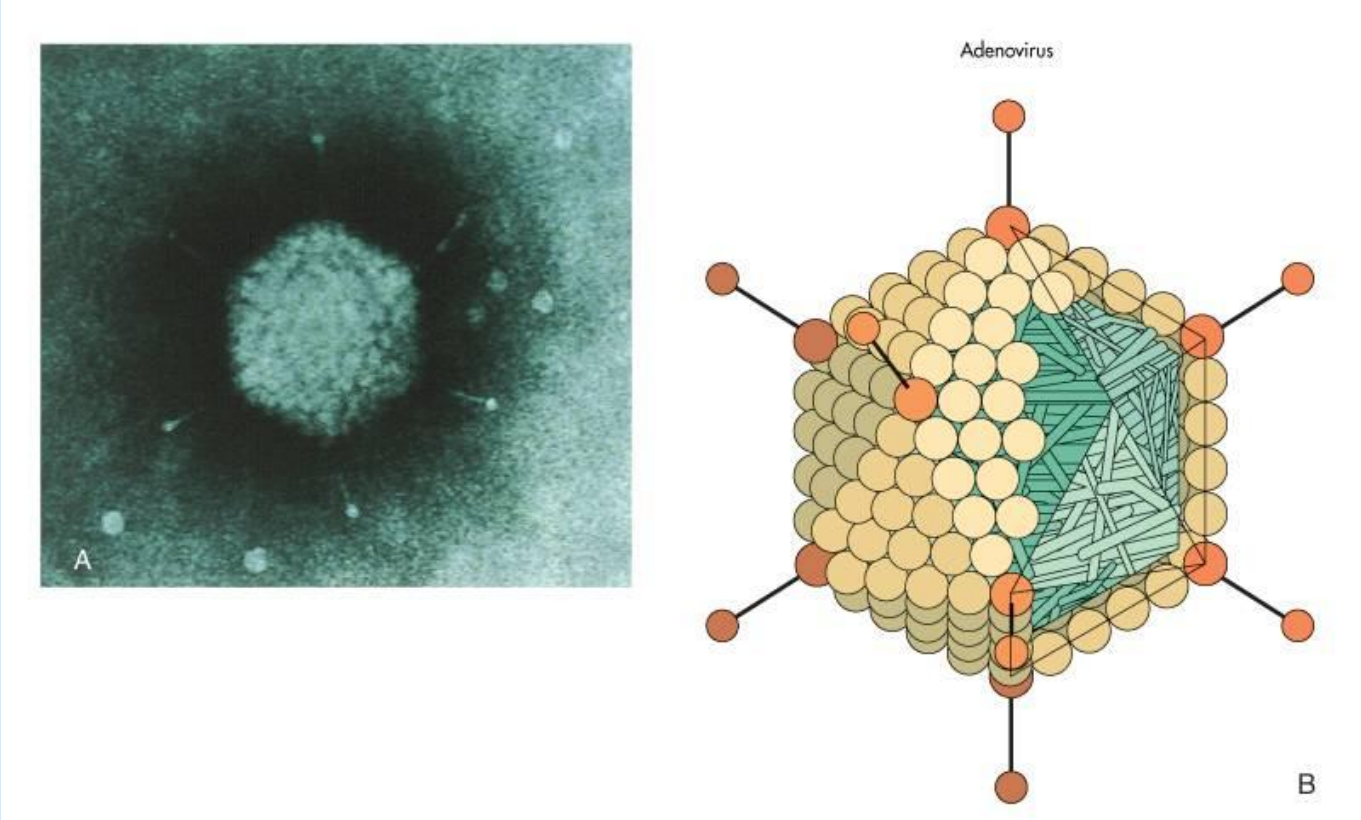
1. група А (високоонкогенні) HAdV 12, 18, 31 -;
2. група В (низькоонкогенні) – HAdV 3,7,11,14,16,21,34,35,50; Simian adenovirus 21;
3. група С (низькоонкогенні) – HAdV 1,2,5,6;
4. група D (неонкогенні) – HAdV 8,9,10,13,15,17,19,20,22,23,24,25,26,27,28,29,30,32,33, 36,37,38,39,42,43,44,45,46,47,48,49,51;
5. група Е (неонкогенні) – HAdV 4, Simian adenovirus 22,23,24,25;
6. група F (неонкогенні) – HAdV 40,41; Simian adenovirus 19.






Bar = 100nm

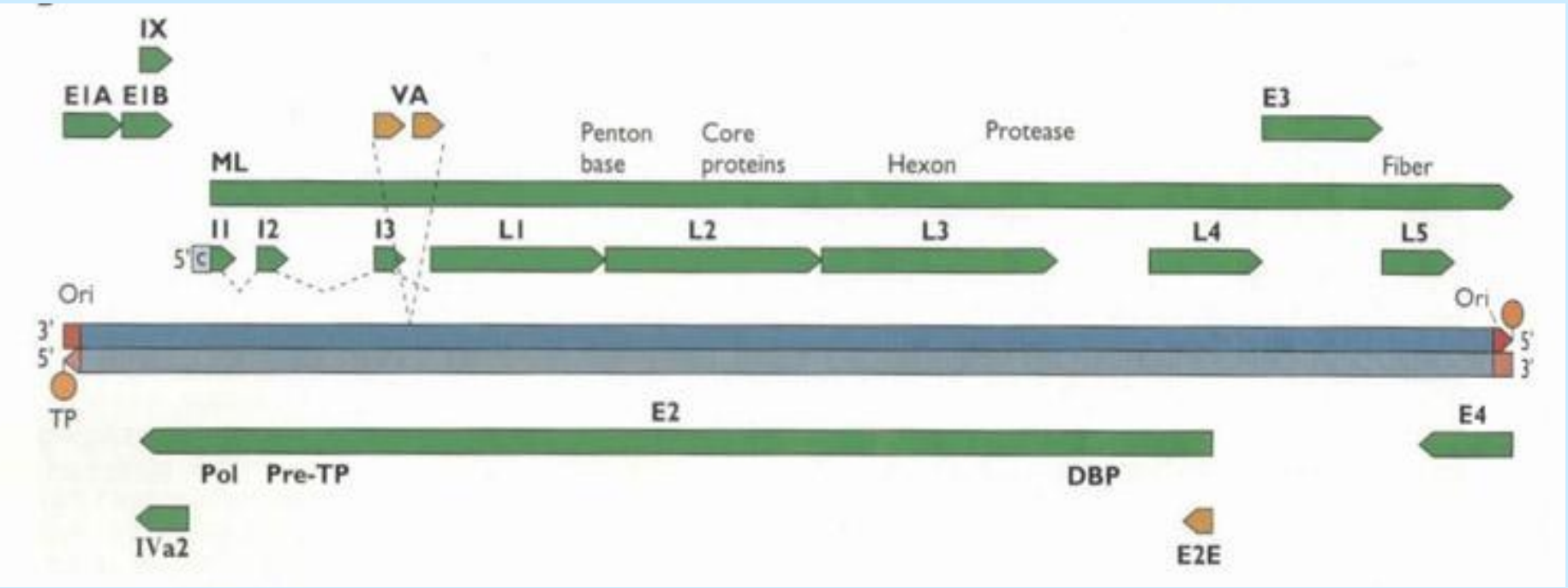




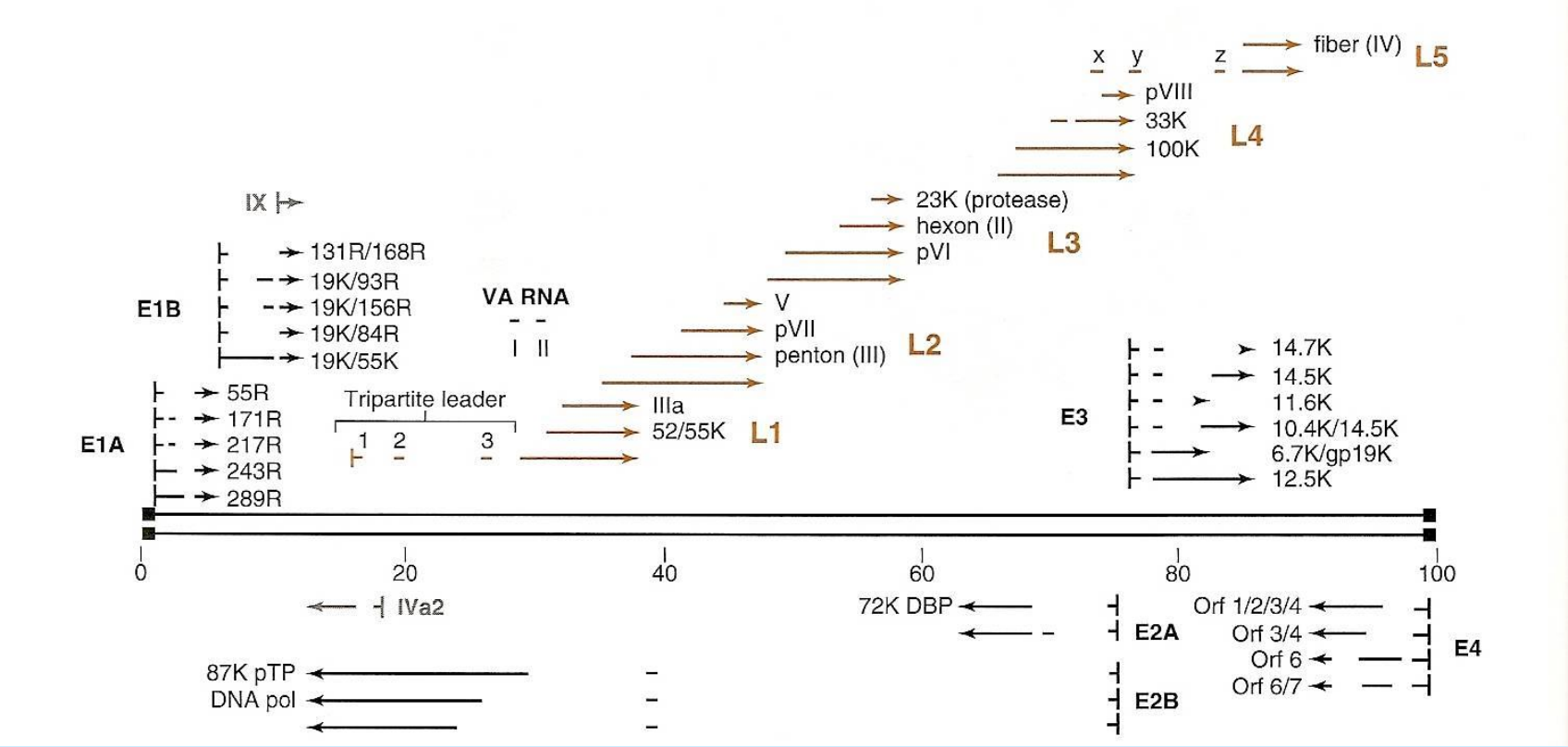
Віріони мають форму ікосаедра діаметром 70-90 нм, кубічного типу симетрії без зовнішньої оболонки. Капсид складається з 252 білкових капсомерів, 240 з них – гексони, 12 – пентони.

Верхівковий пентон має основу, яка вбудовується в капсид та паличкоподібний відросток з булавоподібним потовщенням на вільному кінці.

Геном аденовірусу людини



Геном- 1 молекула двониткової лінійної інфекційної (в комплексі з внутрішнім білком) ДНК, розміром 36 тис.п.о. У структурі ДНК виявлені інвертовані кінцеві повтори, тобто ділянки з однаковою послідовністю нуклеотидів.



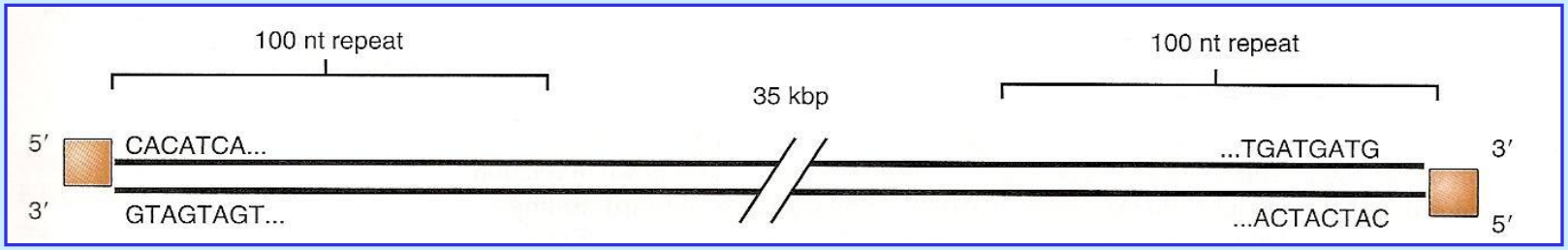
Транскрипційні одиниці можуть бути розділені на три класи, залежно від періоду, протягом якого вони задіяні під час інфекційного циклу.

ранні (E1A, E1B, E2 (E2A, E2B), E3 та E4, від англ. *early*),

середні (IX та IVa2);

пізні транскрипційні одиниці (L, від англ. *late*).

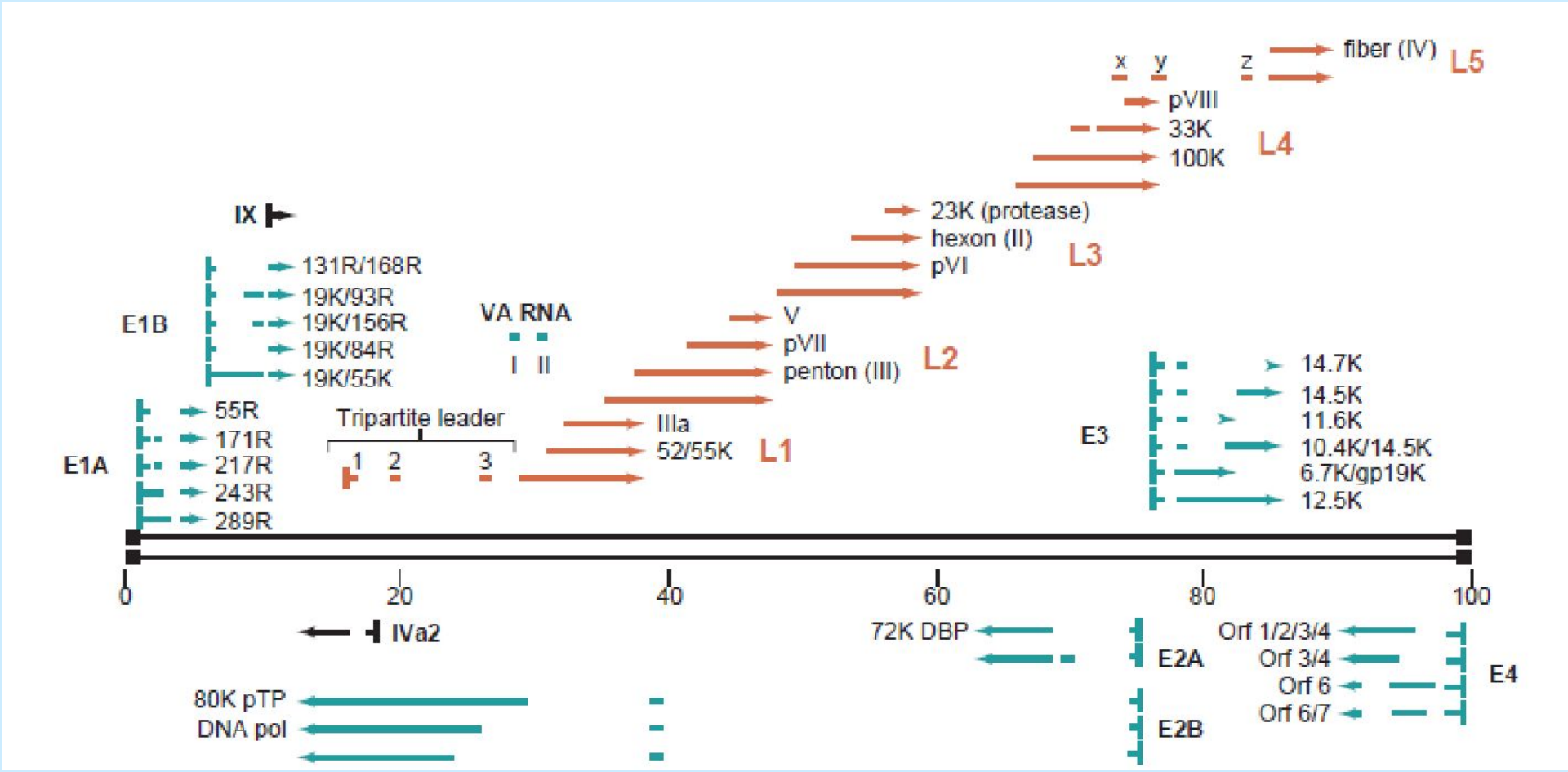
Геном



36 тис.п.нт лінійна 2л ДНК

E- Ранні гени регулюють транскрипцію хазяйських та вірусних генів, реплікацію вірусної ДНК

L- Пізні гени відповідають за синтез структурних білків


fiber (IV)
L5
x
y
z
pVIII
33K
100K
L4
23K (protease)
hexon (II)
pVI
L3
IX
131R/168R
19K/93R
19K/156R
19K/84R
19K/55K
E1B
VA RNA
I
II
V
pVII
penton (III)
L2
55R
171R
217R
243R
289R
E1A
Tripartite leader
1
2
3
IIIa
52/55K
L1
14.7K
14.5K
11.6K
10.4K/14.5K
6.7K/gp19K
12.5K
E3
0
20
40
60
80
100
IVa2
72K DBP
E2A
Orf 1/2/3/4
Orf 3/4
Orf 6
Orf 6/7
E4
80K pTP
DNA pol
E2B

Основні властивості аденовірусних генів

Ранні (Early):

E1A: (дві основних мРНК, утворюються за рахунок альтернативного сплайсингу, кодують білки 12S та

13S) кодує білки, що впливають на транскрипційні процеси клітині та переводять клітину в S фазу клітинного циклу.

E1B: кодує білки, що блокують апоптоз.

E2: кодує білки, що безпосередньо впливають на реплікацію ДНК

(термінальний білок, ДНК - полімераза та білок, зв'язаний з ДНК).

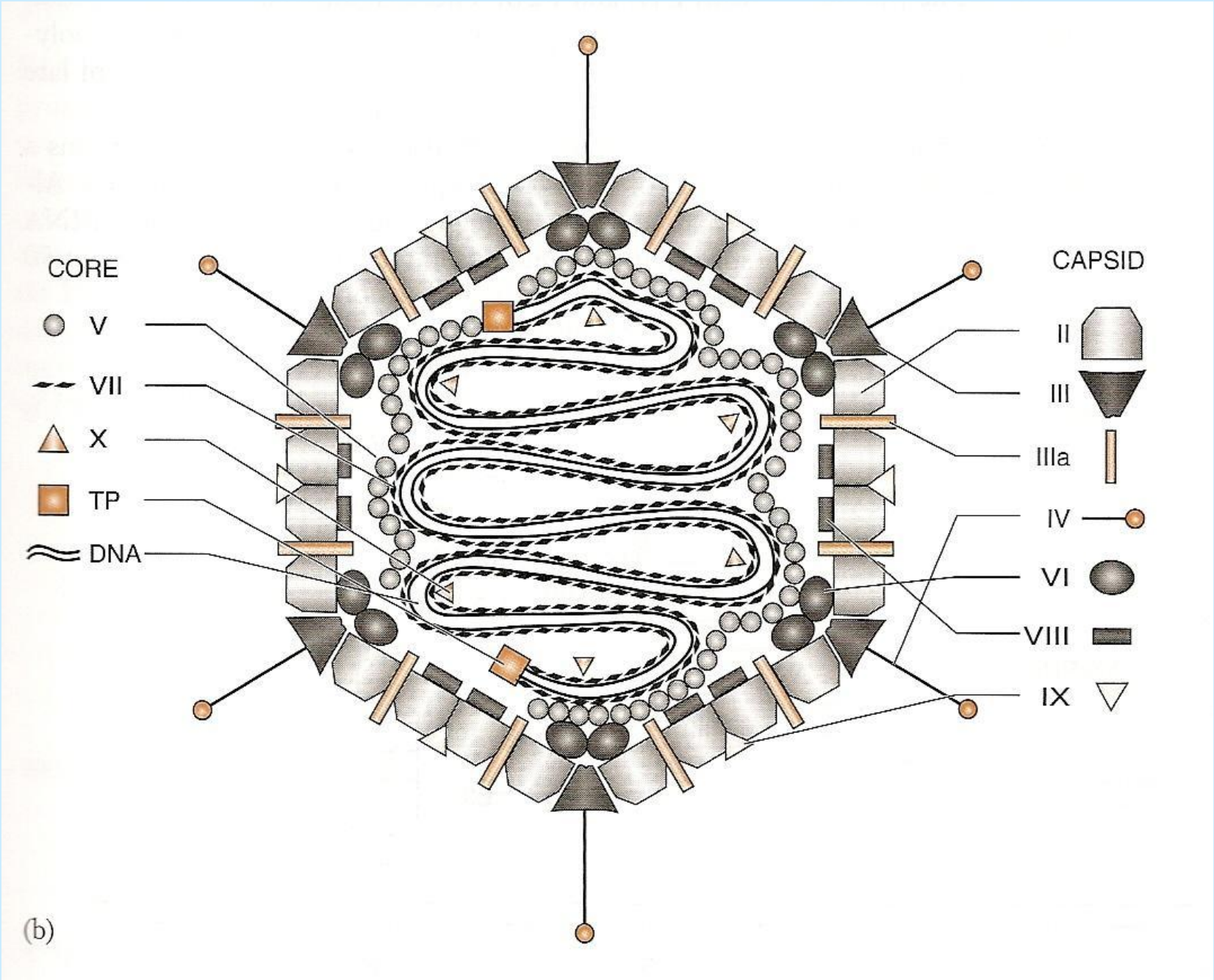
E3: кодує білки, що регулюють відповідь організму на інфекцію

E4: продукти цього гену впливають на транскрипцію, транспорт мРНК модулюють реплікацію ДНК та апоптоз.

Середні (Intermediate):IX, IVa2

Пізні (Late (L1-L5)): компоненти капсиду. VA РНК- сплайсинг первинних мРНК

Структурні білки



Структурні білки

Білок	Локалізація	Функції
II	Мономер гексону	Структурний
III	Основа пентону	Структурний, проникнення
IIIa	Асоційований з основою пентону	СтруктурнийЮ, проникнення
IV	Фібри	Звязування з рецепторами, гемаглютинація
V	Серцевина: зязування з ДНК та основою пенону	Подібний до гістонів білок, упоковка
VI	Мінорний білок гексону	Стабілізація/збірка часток
VII	Серцевина	Подібний до гістонів білок
VIII	Мінорний білок гексону	Стабілізація/збірка часток
IX	Мінорний білок гексону	Стабілізація/збірка часток?
TP	З’язаний з геномом термінальний білок	Реплікація геному

Фізико-хімічні властивості

- Порівняно з іншими вірусами людини аденовіруси достатньо стійкі щодо фізико-хімічних факторів зовнішнього середовища.
- Можуть впродовж багатьох місяців зберігатися в довкіллі. При нагріванні до 56°С інактивуються протягом 10-30 хвилин.
- При ліофільному висушуванні та в замороженому стані зберігають інфекційну активність роками.
- Найбільш стабільні аденовіруси в ізотонічних розчинах при pH 6,0-9,0.
- Інактивуються хлорвмісними сполуками та при дії у-ф опромінення, але стійкі до дії органічних розчинників. у воді при +2С зберігаються 2 роки.

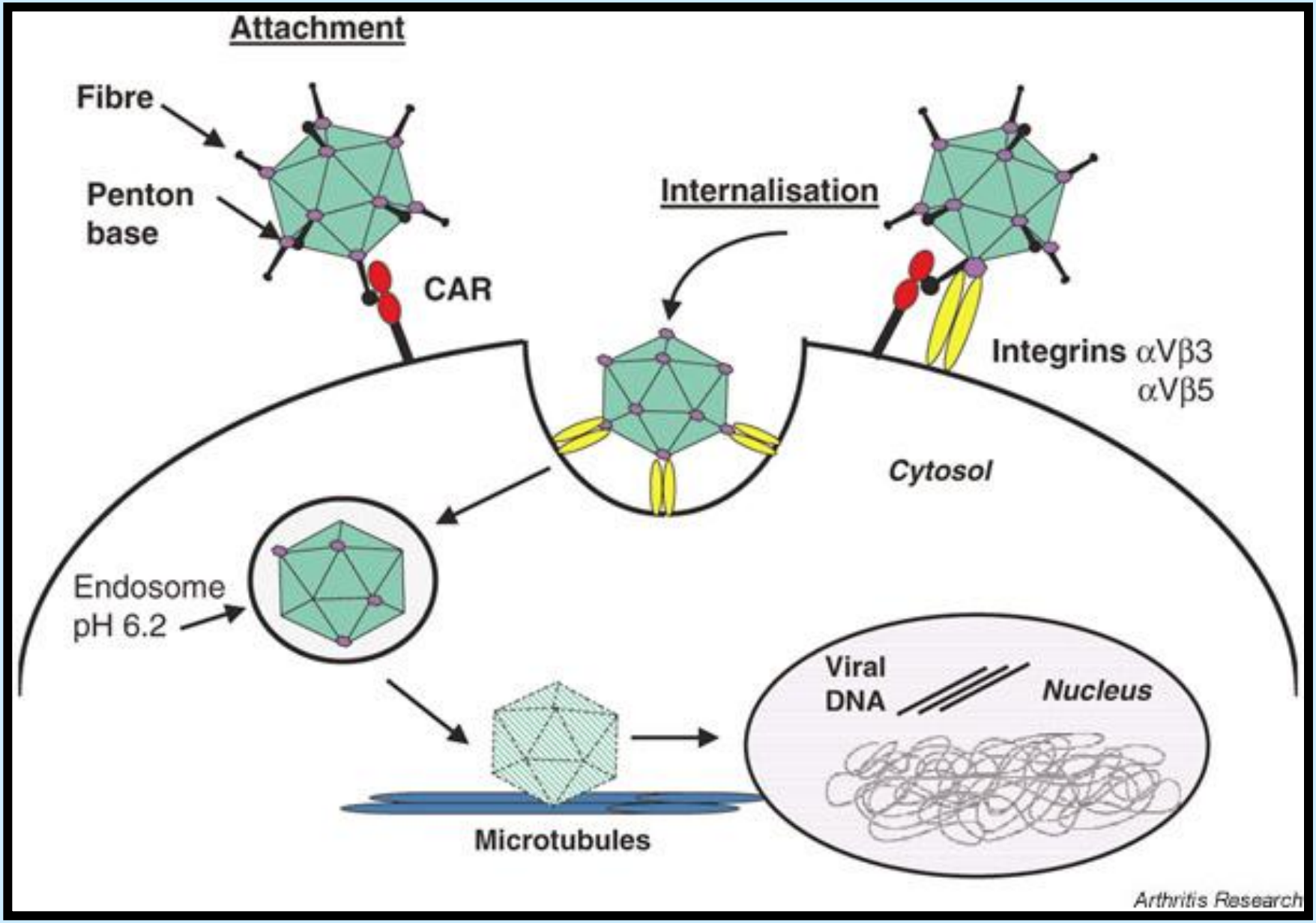
Життєвий цикл

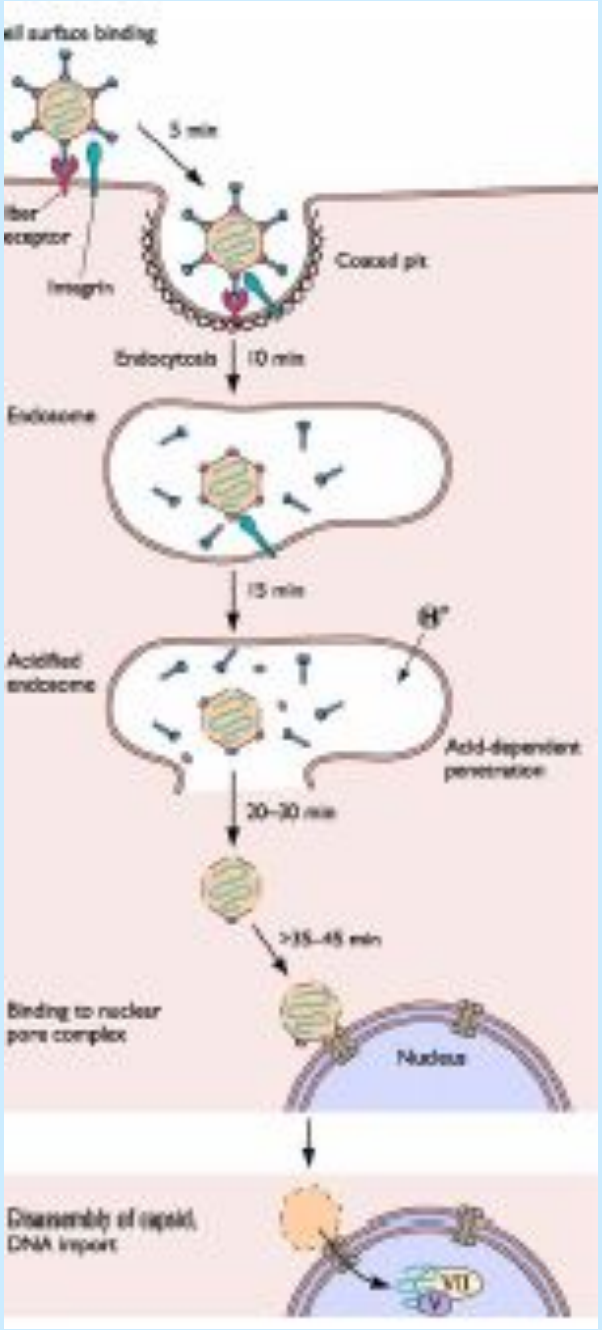
Адсорбція

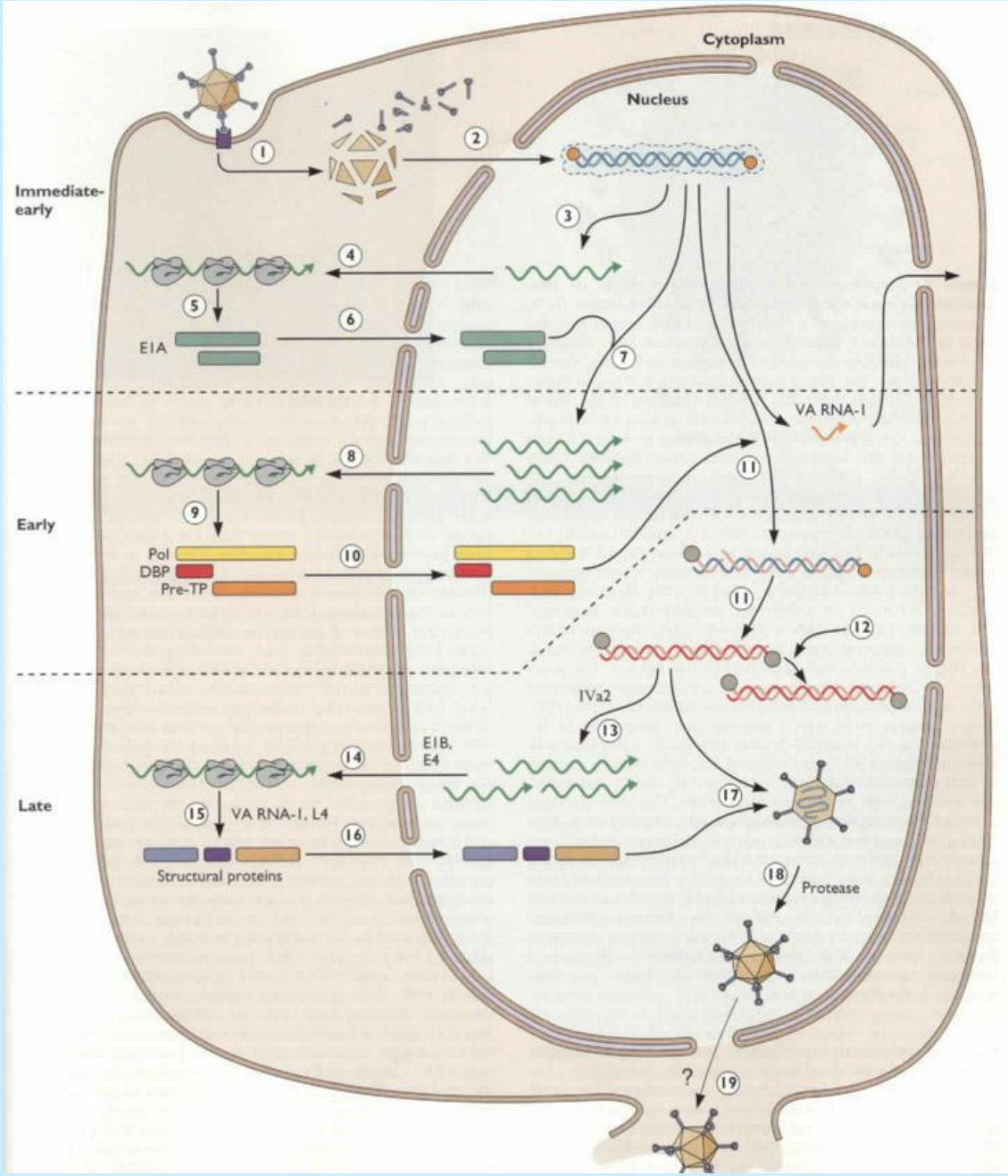
Рецептори

- CAR (constitute androstane receptor, родина Ig)- більшість серотипів аденовірусів (і віруса Коксакі B3);
- αvβ3 та αvβ5 (інтегрини) (другий рецептор) – Ad2 та Ad5

Репродукція




5 min
Coated pit
Endocytosis
10 min
Endosome
15 min
Acidified endosome
Acid-dependent penetration
20–30 min
>35–45 min
Binding to nuclear pore complex
Nucleus


Cytoplasm
Nucleus
Immediate-early
E1A
VA RNA-I
Early
Pol
DBP
Pre-TP
IVa2
E1B, E4
Late
VA RNA-I, L4
Structural proteins
Protease

Життєвий цикл аденовірусів

1. **Приєднання** (за допомогою вірусних фібрів –до рецептору та ко-рецептору), проникнення (рецепторний ендоцитоз, pH залежний процес), роздягання (як результат конформаційних перетворень, індукованих низькими значеннями pH, дією вірусної протеази та взаємодією з клітинними рецепторами);

2. **Ранні події** – до реплікації вірусної ДНК (ре-програмування клітини-хазяїна:

   1. Встановлення сприятливих для вірусної реплікації умов, напр. індукція S-фази;

   2. Захист від антивірусних реакцій;

   3 Синтез вірусних білків, необхідних для продовження інфекційного циклу.

Реплікація ДНК та синтез пізніх білків;

3. **Збірка;**

4. **Дозрівання та вихід з клітини** за рахунок лізису (врожай при продуктивній інфекції: 10_4– 10_5 вірусних часток/кл)

Вірусні транскрипти

Транскрибуються за допомогою RNA polymerase II:

Ранні: E1A, E1B, E2, E3, E4

Віддалено ранні: IX та IVa2

Головні пізні: продукують 5 родин пізніх мРНК (L1-L5)

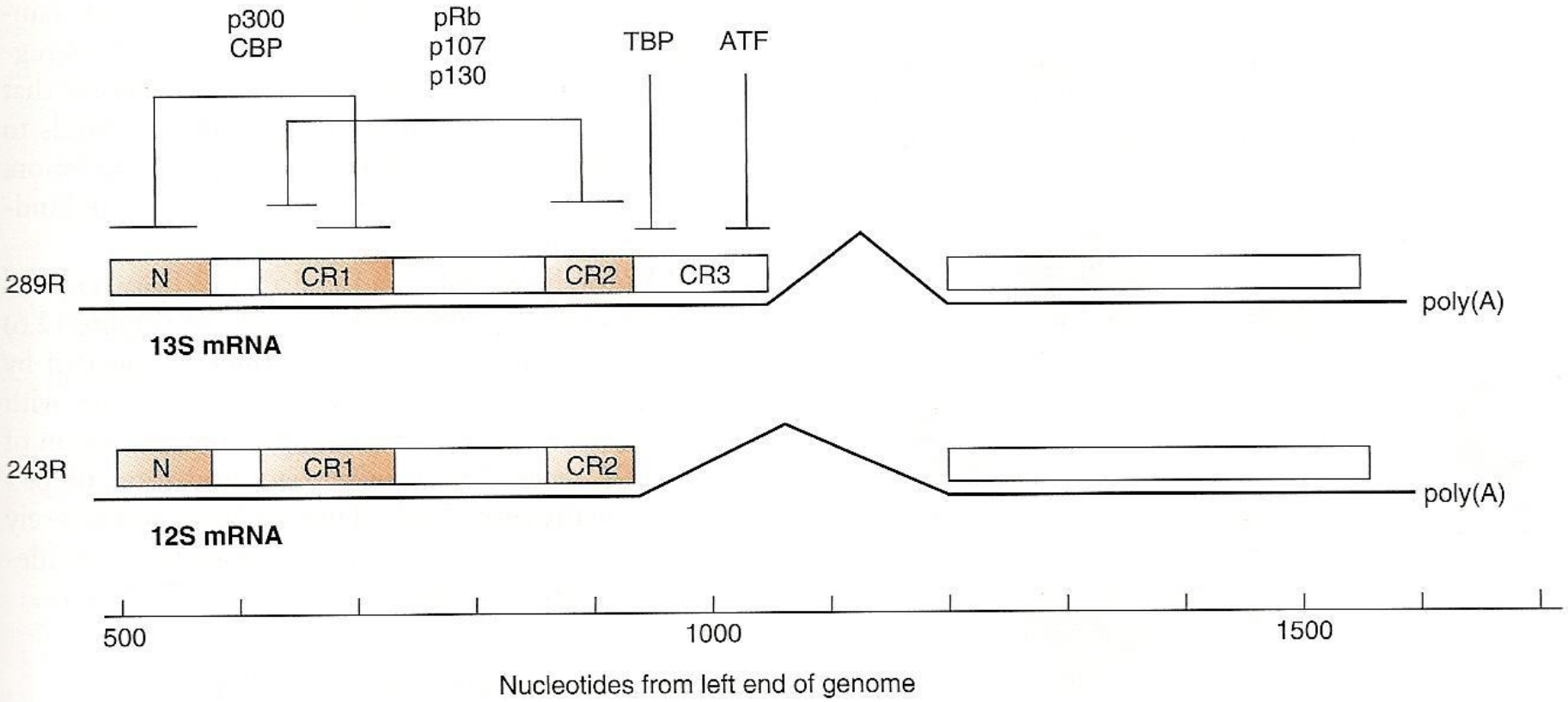
Велика кількість мРНК диференціюється за рахунок альтерантивного сплайсингу або різних сайтів поліаденілювання

Транскрибуються за допомогою RNA polymerase III:

VA (транскрипція активується E1A, який знімає транскрипційну репресію pRB)

Функції білка E1B аденовірусів

Protein	Function	Cellular proteins involved
19K	• Suppresses apoptosis	• Binds to Bax (homologue of Bcl-2)
55K	• Suppresses apoptosis	• Binds to p53 (transcriptional repression)
	• Induces p53 turnover (with E4orf6)	• Binds to p53 and E4orf6 in complex with cellular Cullin-Elongin B/C E3 ubiquitin ligase complex
	• Promotes transport, stabilization and translation of viral mRNAs (with E4orf6)	• Requires E4orf6 and E3 ubiquitin ligase complex
	• Host cell shut-off (with E4orf6 and L4-100K)	• eIF4E, eIF2α, eIF4G


p300
CBP
pRb
p107
p130
TBP
ATF
289R
N
CR1
CR2
CR3
poly(A)
13S mRNA
243R
N
CR1
CR2
poly(A)
12S mRNA
500
1000
1500
Nucleotides from left end of genome

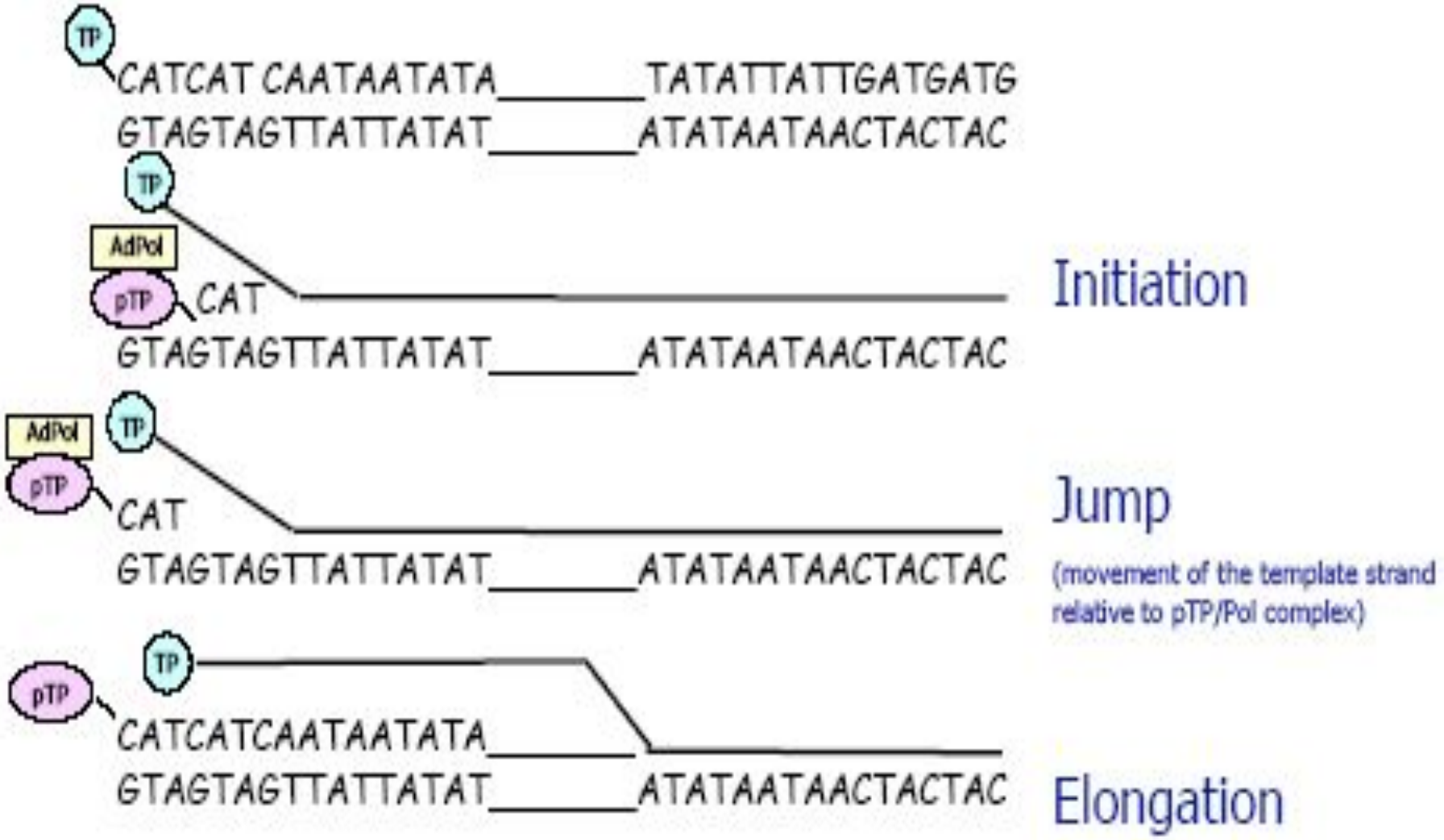
Білки, залучені у реплікації ДНК аденовірусів

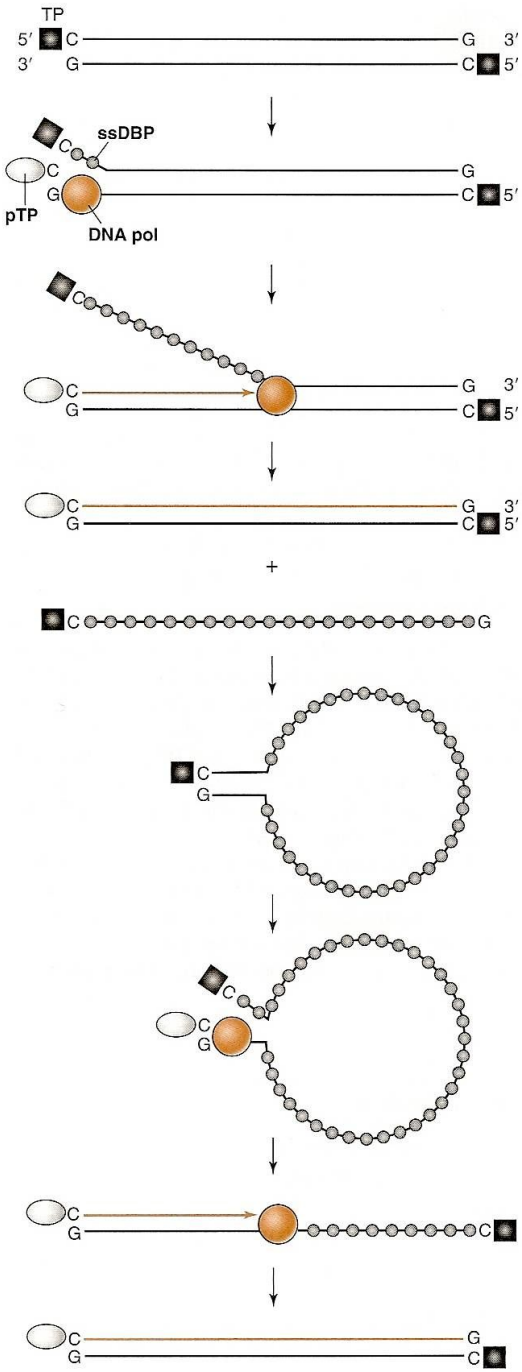
Білки	Активні домени	Білки, з якими взаємодіє	Функції при реплікації ДНК
Вірусна ДНК-полімераза	Всі	Вірусна рТР	ДНК полімераза, 3’-5’-екзонуклеаза (виправлення помилок), приєднання до ділянки Ori як рТР/pol; переміщення дЦМФ на рТР підчас ініціації реплікації ДНК.
Вірусна рТР (80 кДа) (ЕЗ – 55 кДа)	Всі	Вірусна ДНК-полімераза, NFIII	Білкова затравка для ініціації реплікації ДНК; приєднання до ділянки Ori як рТР/pol; субстрат для вірусної протеази для звільнення ТР.
Вірусний білок, приєднаний до ДНК (DBP)	Домен зв’язування з ДНК 174-529 АК	-	Підсилення ініціації; необхідний для елонгації; приєднується до 1л та 2л ДНК; підсилює приєднання NFI до ділянки ori; пісилює процесінг вірусної полімерази; дестабілізатор спіралі ДНК.

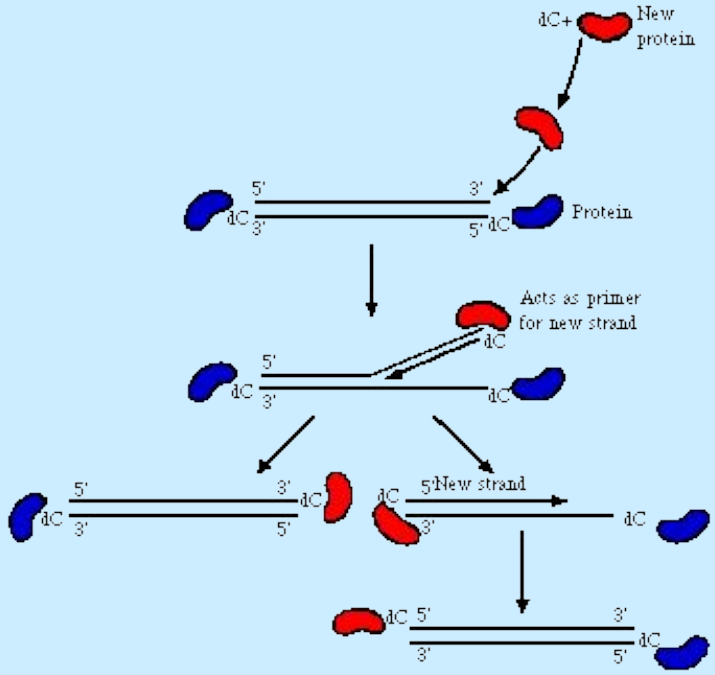
Білки, залучені у реплікації ДНК аденовірусів

Білки	Активні домени	Білки, з якими взаємодіє	Функції при реплікації ДНК
Фактор приєднання до NFI/CCAAT	Домен зв'язування з ДНК 1-220 АК	Вірусна ДНК-полімераза	Приєднання до ділянки Ori; підсилення ініціації реплікації ДНК
NFII	Всі	-	Топоізомеразна активність - звільнення топологічного наватаження під час синтезу повонорозмірного геному
NFIII/Oct-1	Домен зв'язування з ДНК 280-439 АК	Вірусна рТР	Приєднання до ділянки Ori; підсилення ініціації реплікації ДНК

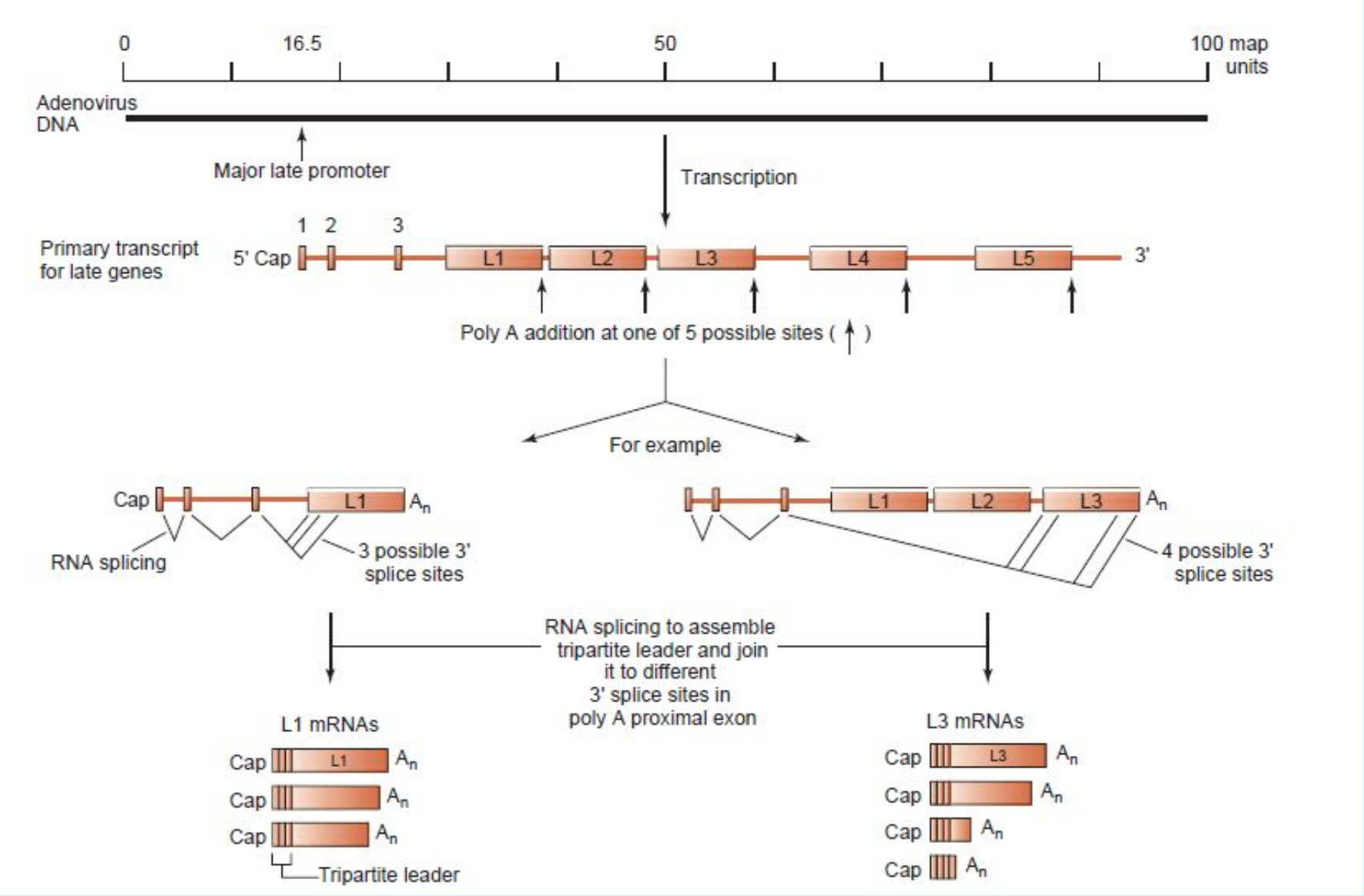
Реплікація з використанням термінальної ініціації за допомогою нуклеотид-білкової затравки.







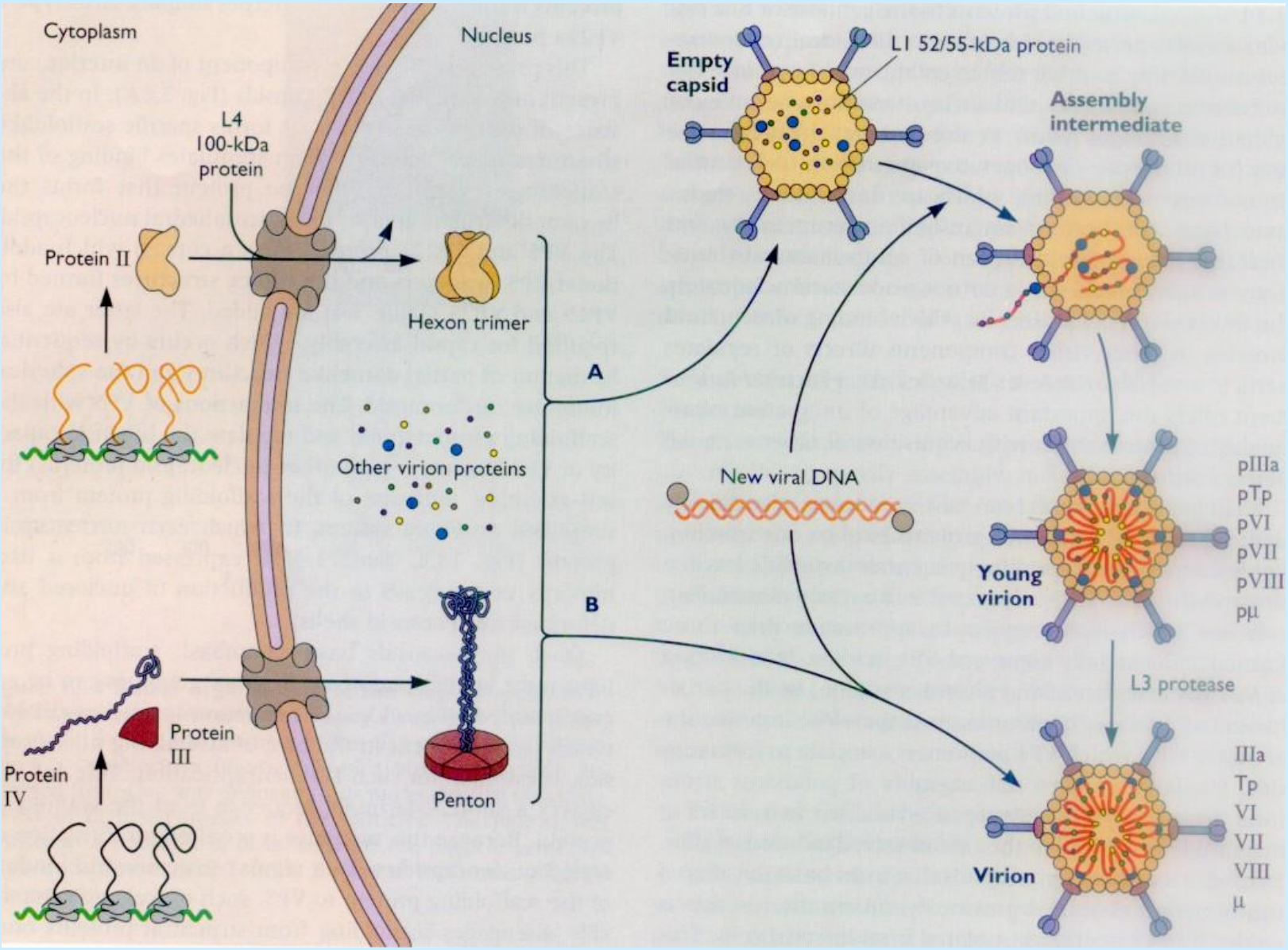
В інфікованій клітині синтезується віруспецифічний білок 80кД, який зв'язується через серин з дезокситидином. Структура (80) Б-Ser-dCTP э затравкою, яка через цитозин звязується з 3-кінцевим гуанозином геному та ініціює синтез ДНК. Ініціація може спостерігатися на б-я кінці батьківської ДНК і може відбуватися як одночасно, так і послідовно.



Продукції пізніх вірусних мРНК

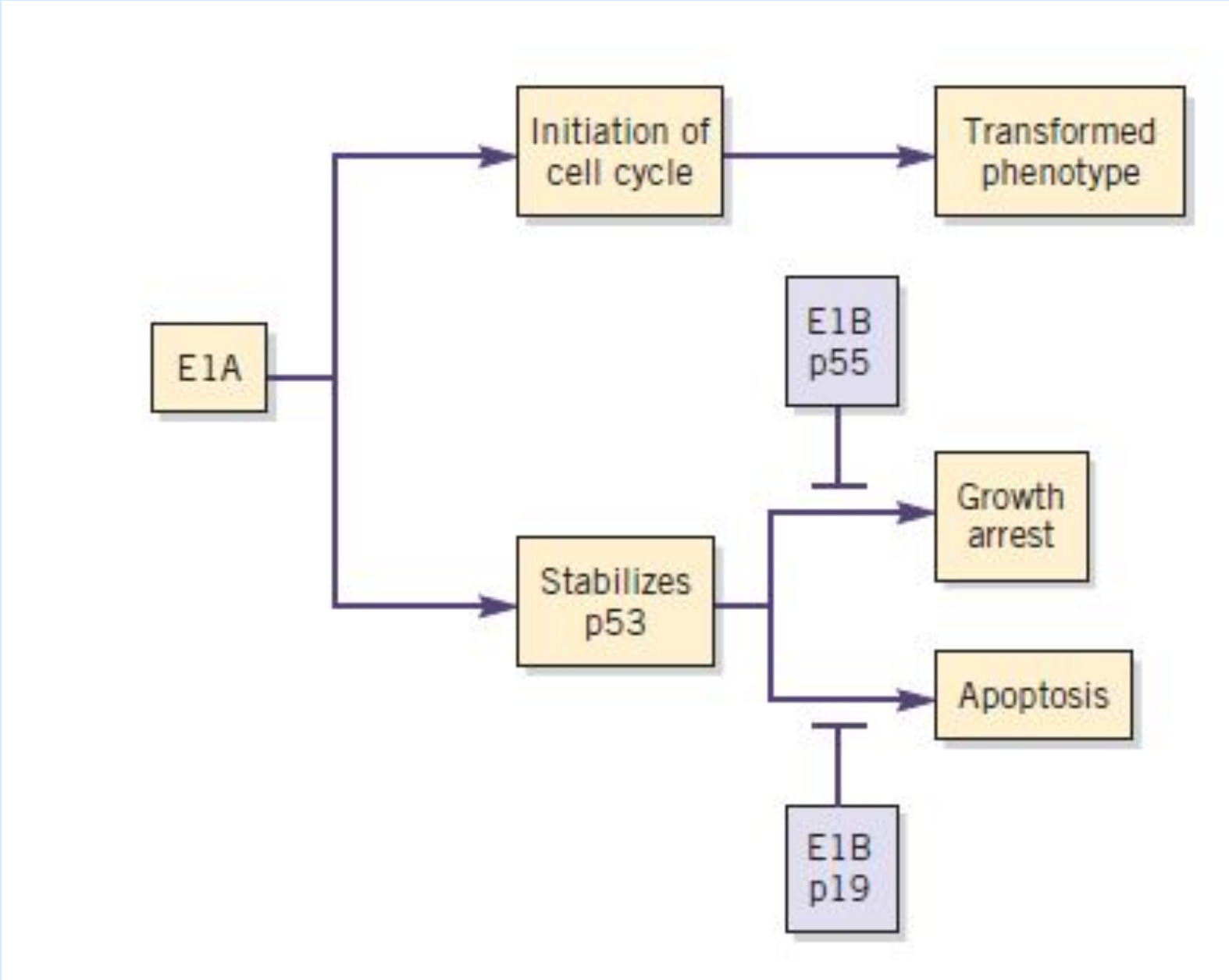
Механізми формування структурних одиниць віріонів

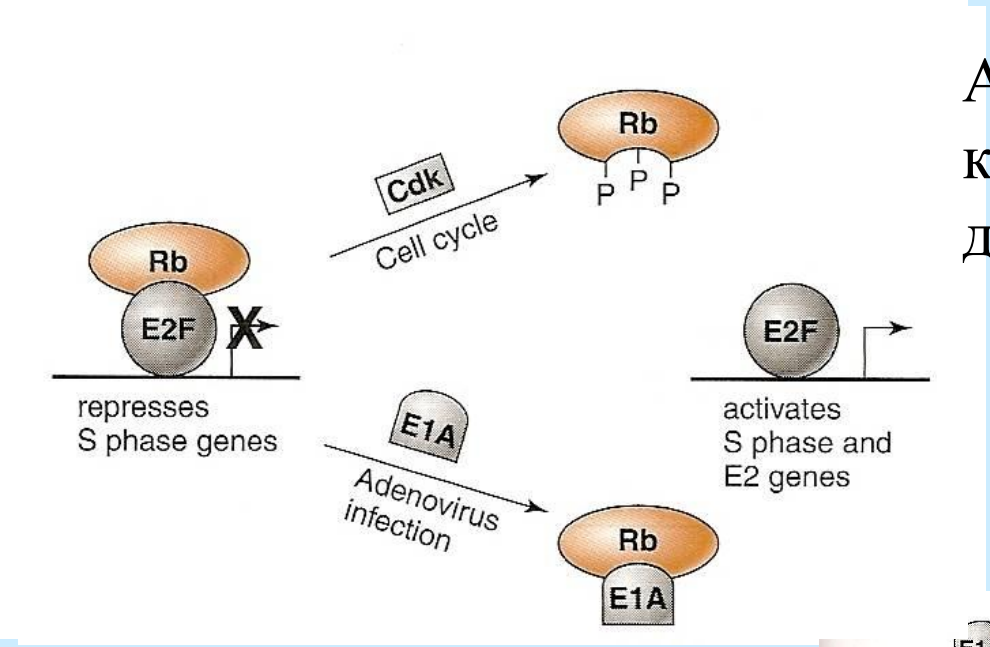
Механізм	Вірус	Структурні субодиниці
Асоціація індивідуальних білкових молекул	Adenovirus (HAV2)	Формування пентонів з тримеру білка IV (фібри) та пентамеру білка III (основа пентону)
Опосередкована збірка за допомогою спеціальних білків (шаперонів)	Adenovirus (HAV2)	Формування тримерів гексонів із білка



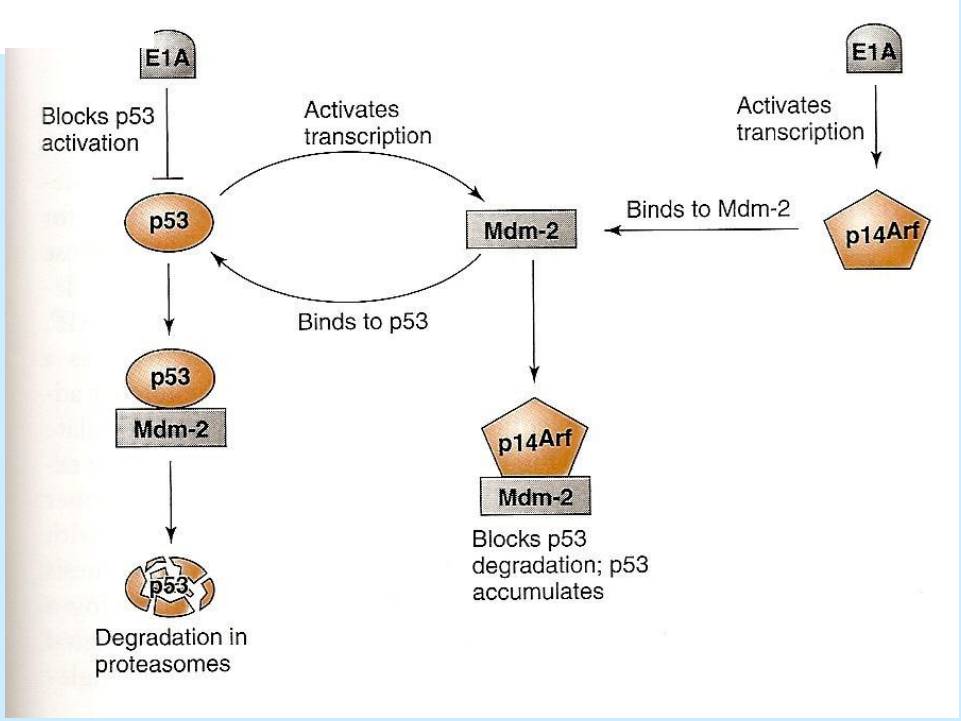
Алгоритм збірки аденовірусів

Онкогенні властивості аденовірусів асоціюються з властивостями E1A та E1B

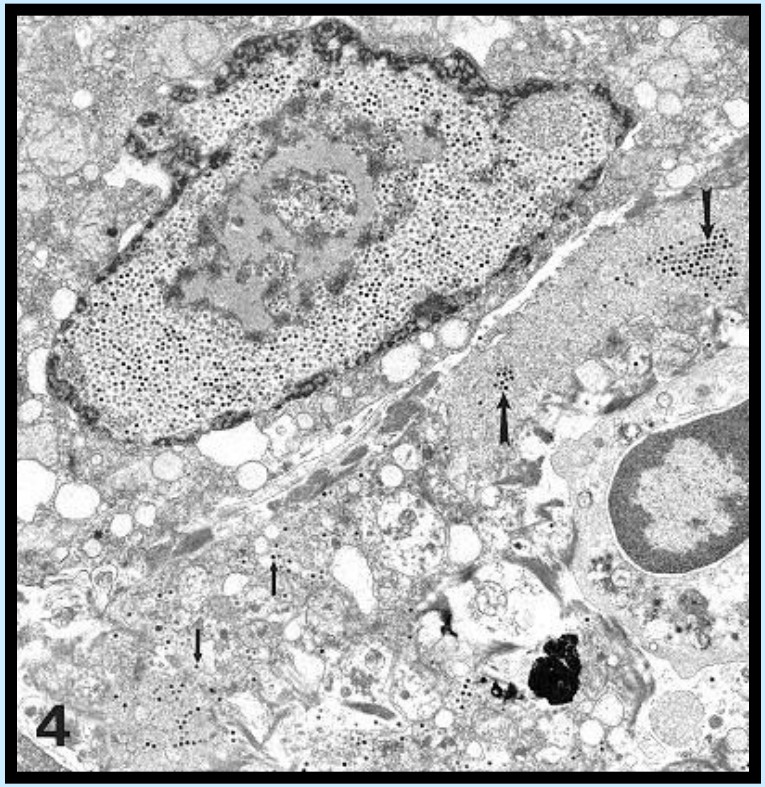


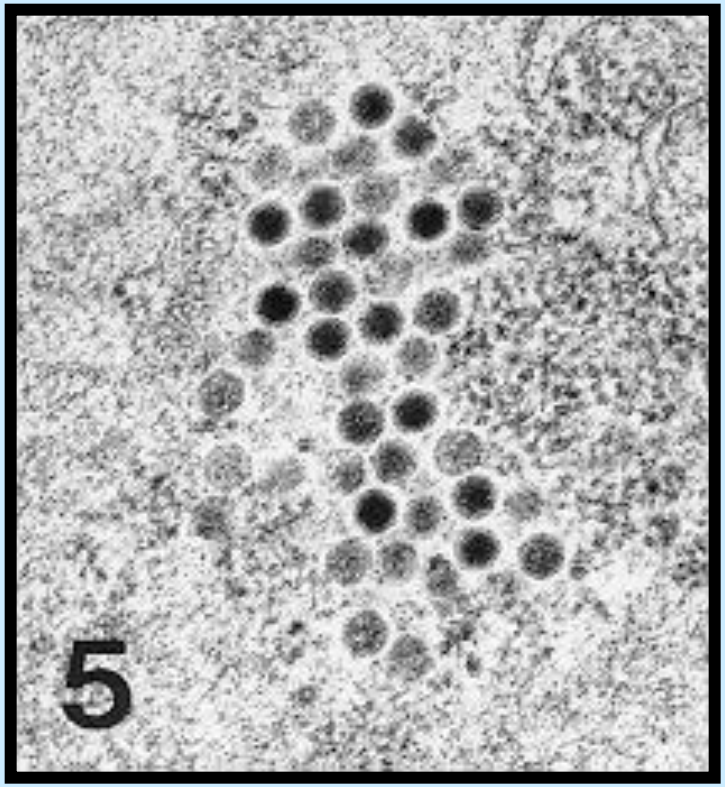


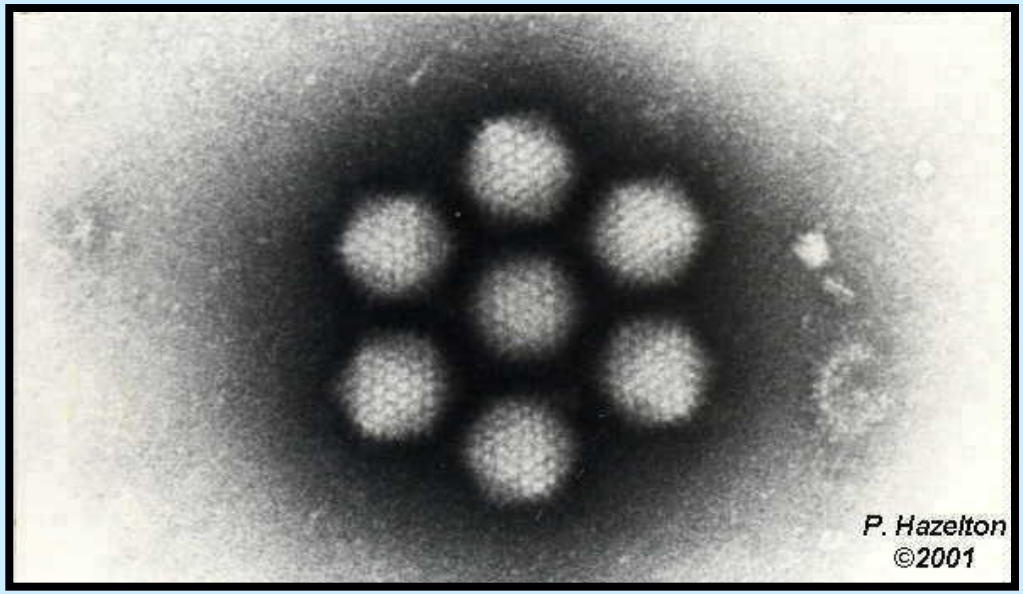
Активація генів S-фази клітинного циклу за допомогою білків E1A

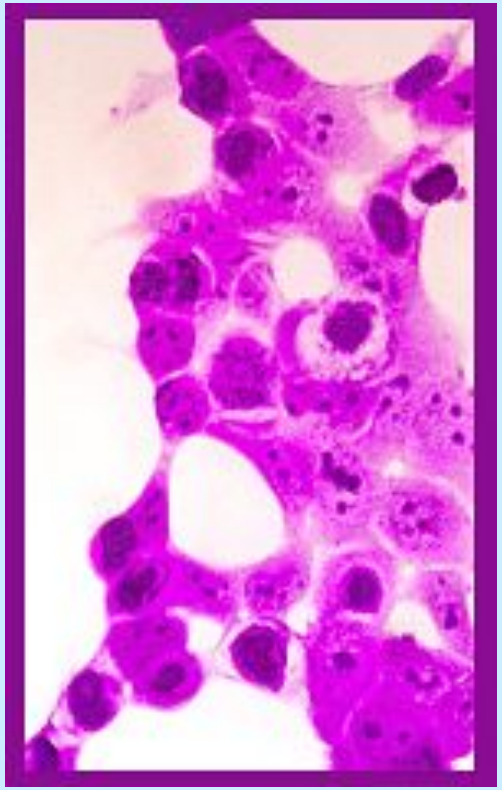


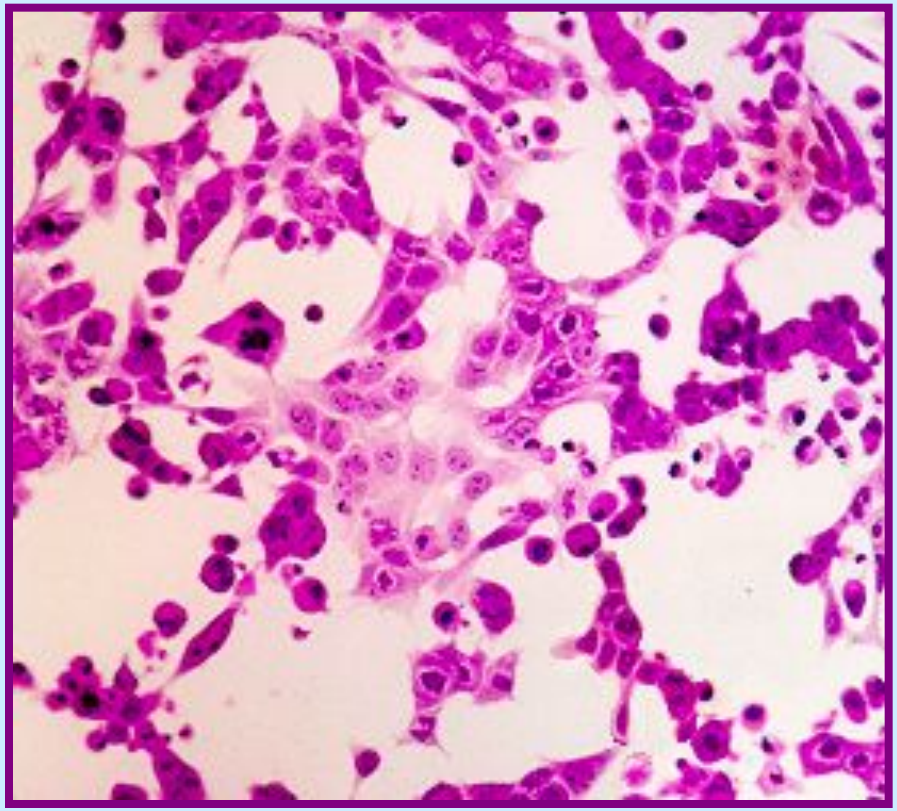
Блокування деградаційного шляху p53 за допомогою білків E1A

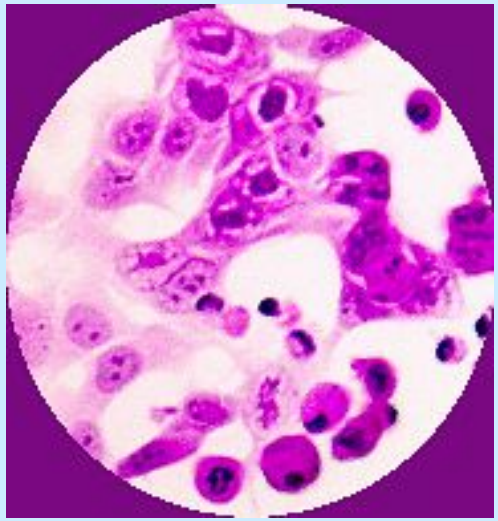

4


5


P. Hazelton
©2001

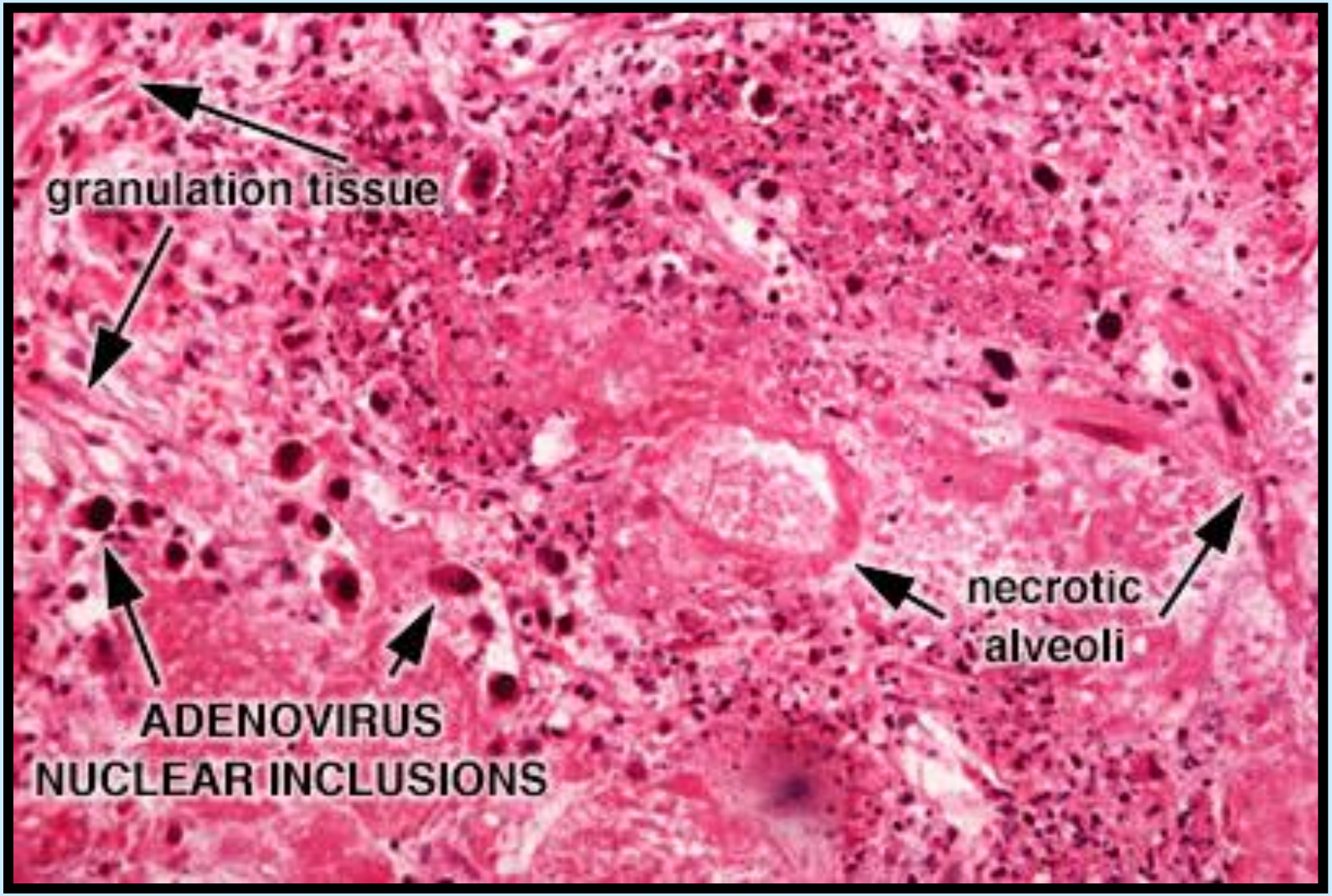




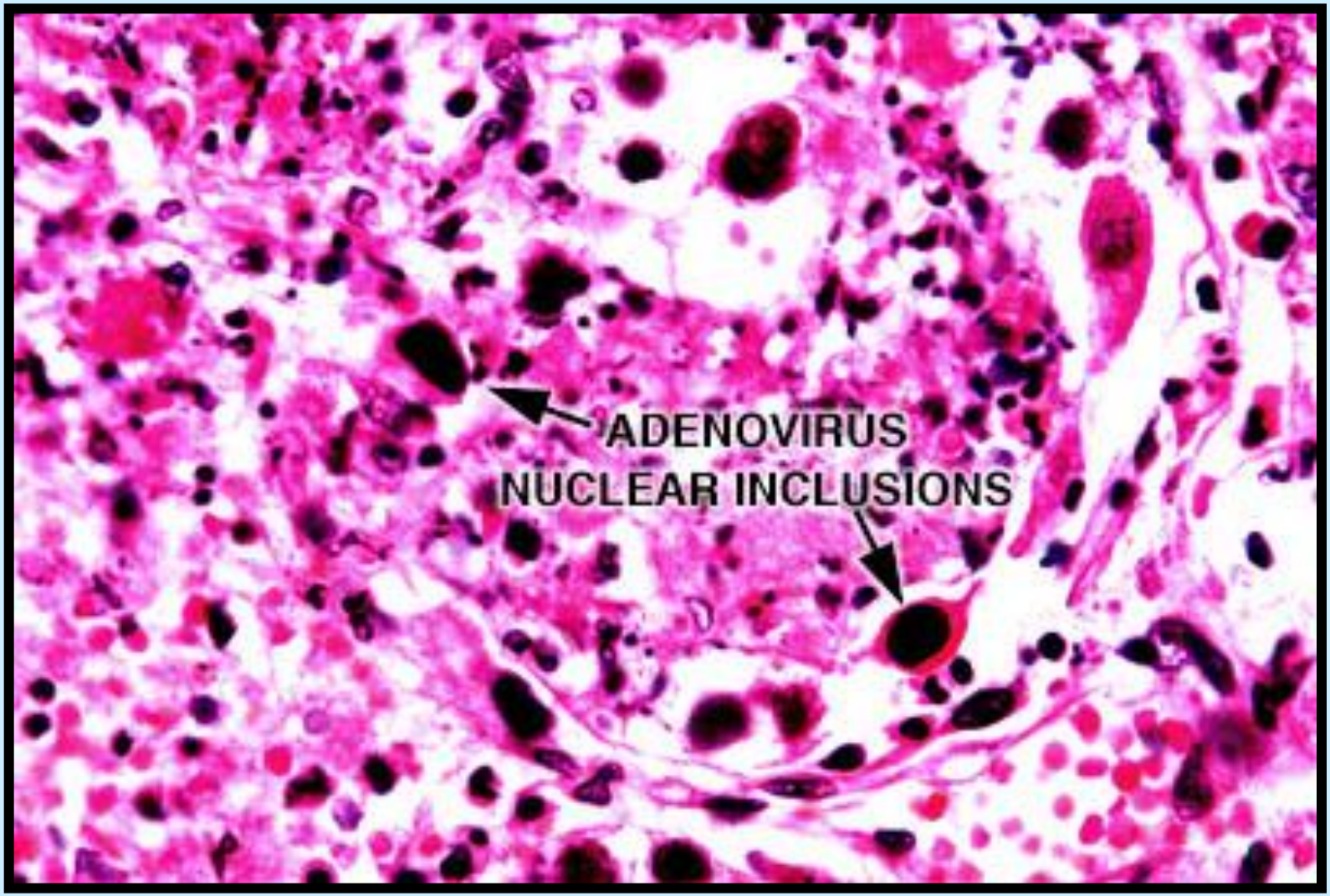


Цитопатична дія

ЦПД


granulation tissue
ADENOVIRUS
NUCLEAR INCLUSIONS
necrotic
alveoli

ЦПД



Типи інфекцій

- ***Літична***

  загибель епітеліальних клітин слизових оболонок

- ***Латентна/інапарантна***

  вірус залишається у клітині-хазяїні; показано для лімфоїдних клітин віруси групи В та С

  Онкогенна трансформація

  неконтрольований клітинний ріст та реплікація; характерно для вірусів групи А

Джерело інфекції

- Хворий
- Вірусоносій (безсимптомна форма)

Механізми передачі

- Горизонтальні
- - аерозольний (повітряно-крапельний та повітряно-пиловий)
- - фекально-оральний (в т.ч. через недостатньо хлоровану воду, речі побутового вжитку)

- Вертикальні
- -трансплацентарний

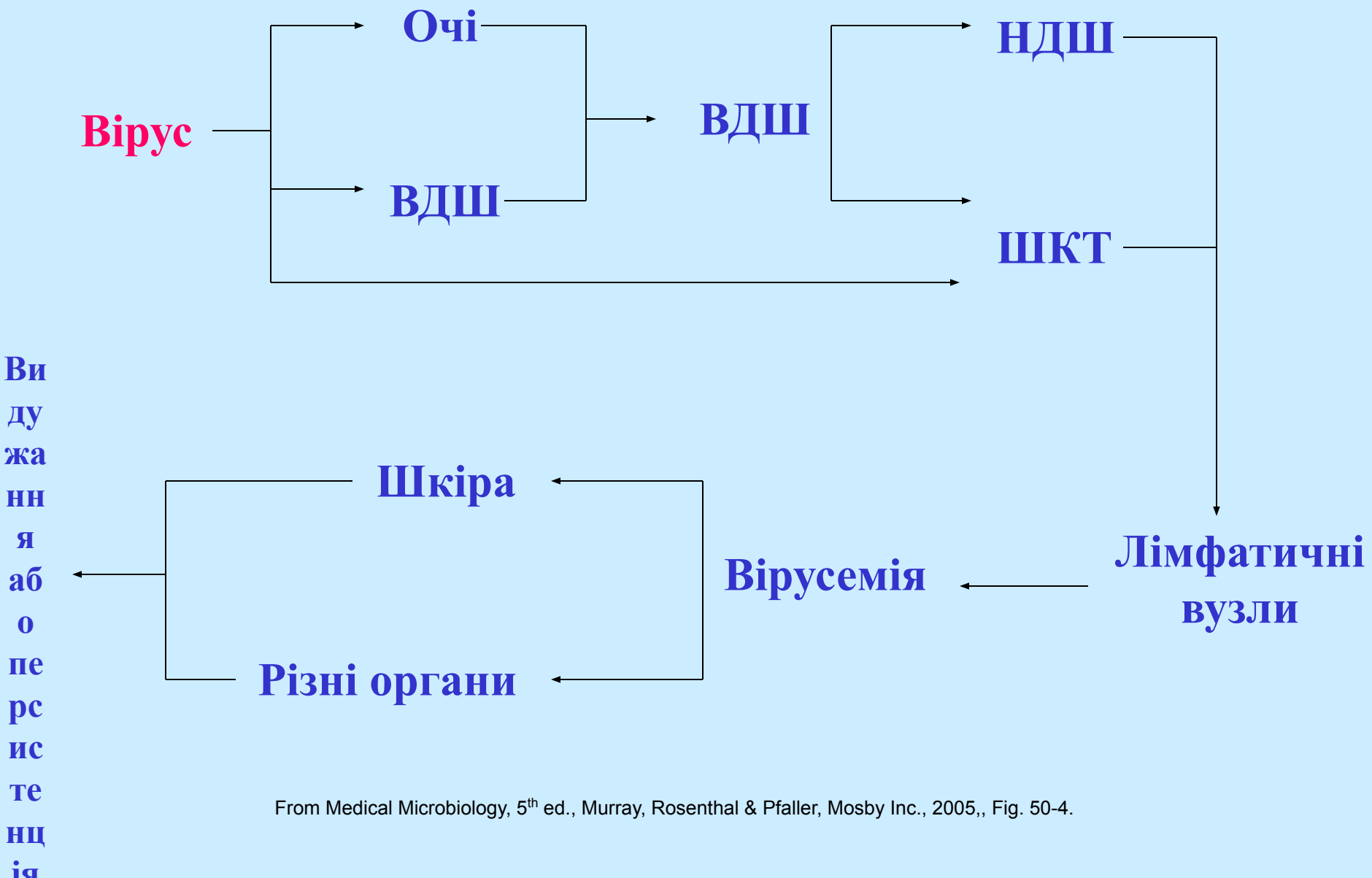
Патогенез

- На відміну від інших респіраторних вірусів аденовіруси розмножуються не лише в циліндричному миготливому епітелії ВДШ, трахей та бронхів, але й в підслизистій оболонці.
- За участю аденовірусів найчастіше пов'язаний розвиток ГРІ, що протікають з явищами ангіни, фарингіту, кашлю, ознобу, болем у м'язах, головного болю, при непостійному нежиті та підвищенні температури. С

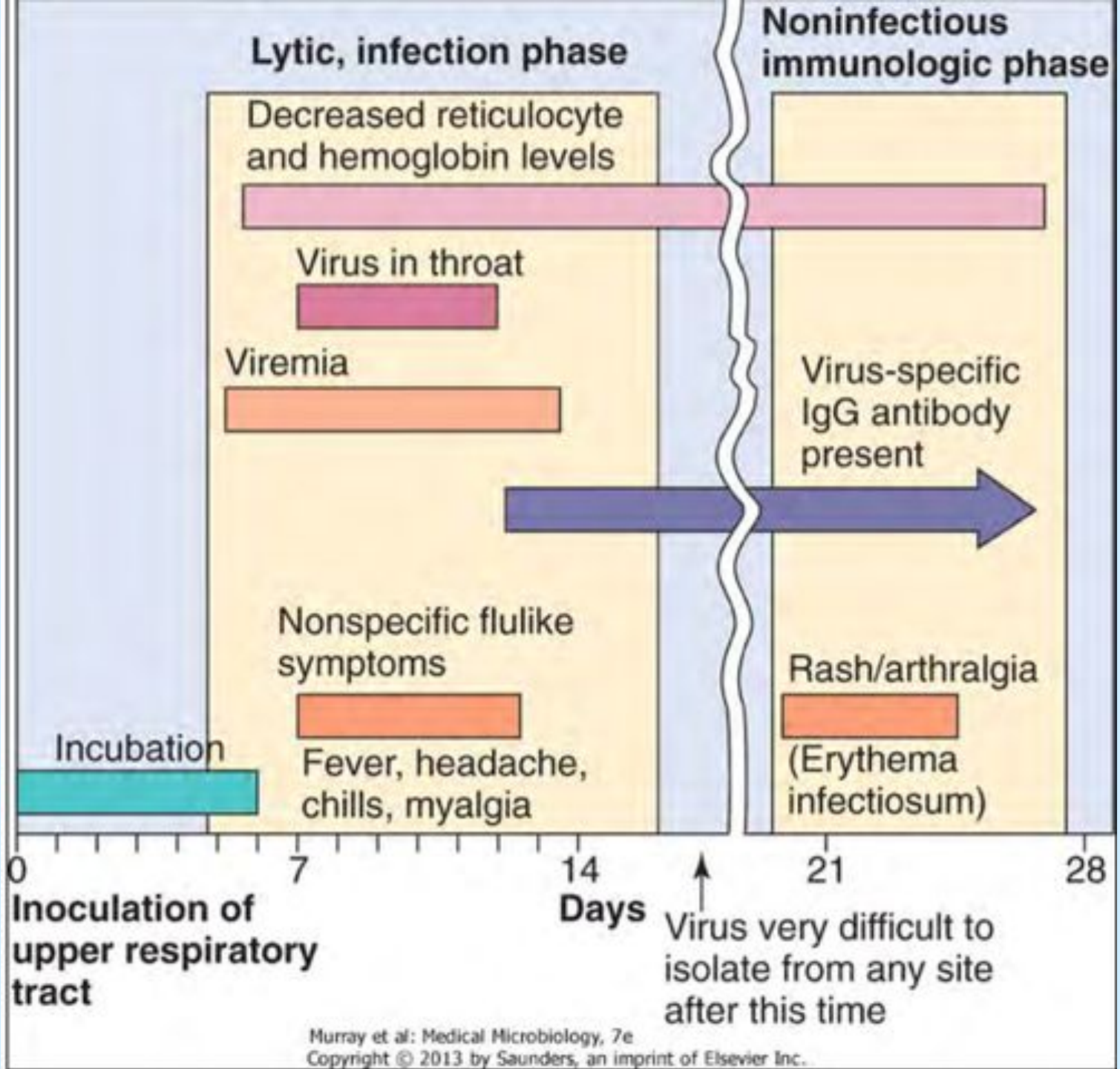
Патогенез

- Уражують епітеліальні клітини слизових оболонок респіраторного, КШТ та УРГТ
- Проникають у епітелій, реплікуються та розносяться до лімфоїдної тканини
- Спостерігають період вірусемії
- Пізніше уражуються внутрішні органи

Патогенез



From Medical Microbiology, 5th ed., Murray, Rosenthal & Pfaller, Mosby Inc., 2005,, Fig. 50-4.


Lytic, infection phase
Noninfectious immunologic phase
Decreased reticulocyte and hemoglobin levels
Virus in throat
Viremia
Virus-specific IgG antibody present
Nonspecific flulike symptoms
Fever, headache, chills, myalgia
Rash/arthralgia
(Erythema infectiosum)
Incubation
0
7
14
21
28
Days
Inoculation of upper respiratory tract
Virus very difficult to isolate from any site after this time
Murray et al: Medical Microbiology, 7e
Copyright © 2013 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

Захворювання	Вікові групи
Респіраторні захворювання	
Недиференційовані захворювання респіраторного тракту	Немовлята, малі діти
Фаринго-конюнктивальна лихоманка	Діти, дорослі
ГРЗ	Солдати строково служби
Подібні до коклюша захворювання	Немовлята, малі діти
Пневмонія	Немовлята, малі діти, солдати строкової служби, імунокомпромісні особи
Іншi захворювання	
Гострий геморагічний цистит	Діти, рецепієнти кісткового мозку
Епідемічні керато-конюктивіти	Немовлята, малі діти
Гастроентирити	Немовлята, малі діти
Гепатити	Рецепієнти, інші імунокомпромісні пацієнти
Менінгоенцефаліти	Діти, імунокомпромісні особи

Клінічні синдроми, асоційовані з аденовірусною інфекцією у нормальних хазяїв

У порядку зменшення частоти випадків:

- Фарингіти
- Конюктивіти
- Гастроентерити
- Пневмонія
- Геморагічний цистит (малі діти)

Епідеміологія аденовірусної інфекції у нормальних хазяїв

Захворюваність

- 40.8/100 людей на рік, до 1 року
- 14.4/100 людей на рік, старше 10 років

Гострі захворювання

- 5% сечова система
- 8% дитяча пневмонія (3, 4 & 21)
- Пневмонія підлітків (3, 4 & 7)
- серотипи 1, 2 та 5 досить розповсюджені серед дітей

Захворювання, що викликають аденовіруси у здорових дітей

>80% дітей від 1до 5 років мають антитіла до 1 чи більше серотипів

Регіон, що найбільш уражується – ВДШ

Захворювання – легкі, тривають близько 10 діб

Латентна інфекція у лімфоїдних тканинах та нирках

Найбільш розповсюджені серотипи; 1, 2, 3, 5 ,7 та 14

Гострі респіраторні захворювання

- Лихоманка

- Трахеобронхит
- Пневмонія
- Діти та підлітки
- Епідемії серед військовослужбовців
- Типи 4 та 7

Гострі респіраторні захворювання

Фаринго-кон’юктивальна лихоманка

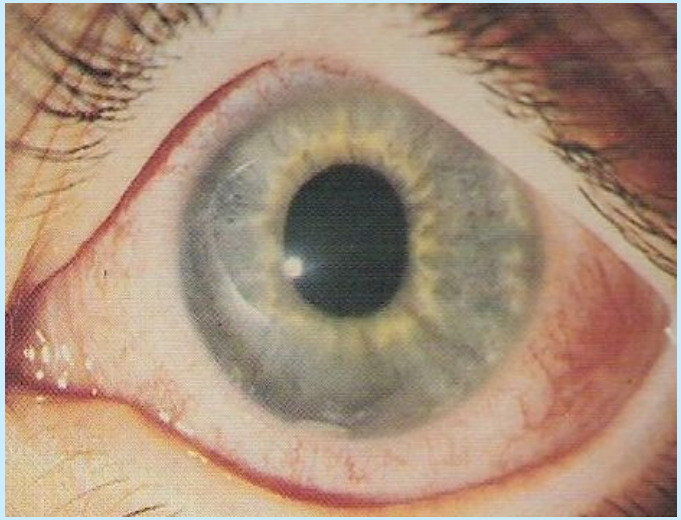
- Головний біль, лихоманка, погане самопочуття
- Кон'юнктивіт та фарингіт
- Шийна аденопатія, висип та діарея
- Основні серотипи: 3, 4, 7, 14
- Епідемії відбуваються протягом літніх місяців
- Фактор передачі - контамінована вода у плавальних басейнах та забрудненні речі

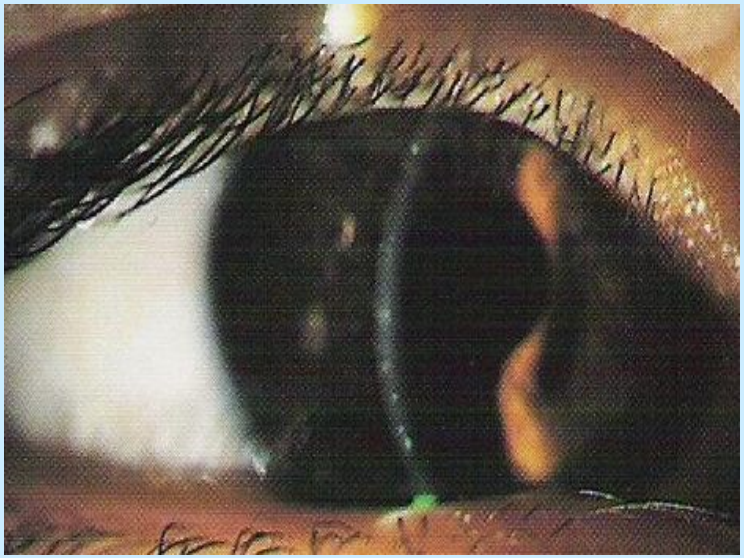
Аденовірусна інфекція очей

Епідемічний кератокон'юктивіт

Гострий фолікулярний кон'юктивіт

Фариногкон'юктивальна лихоманка





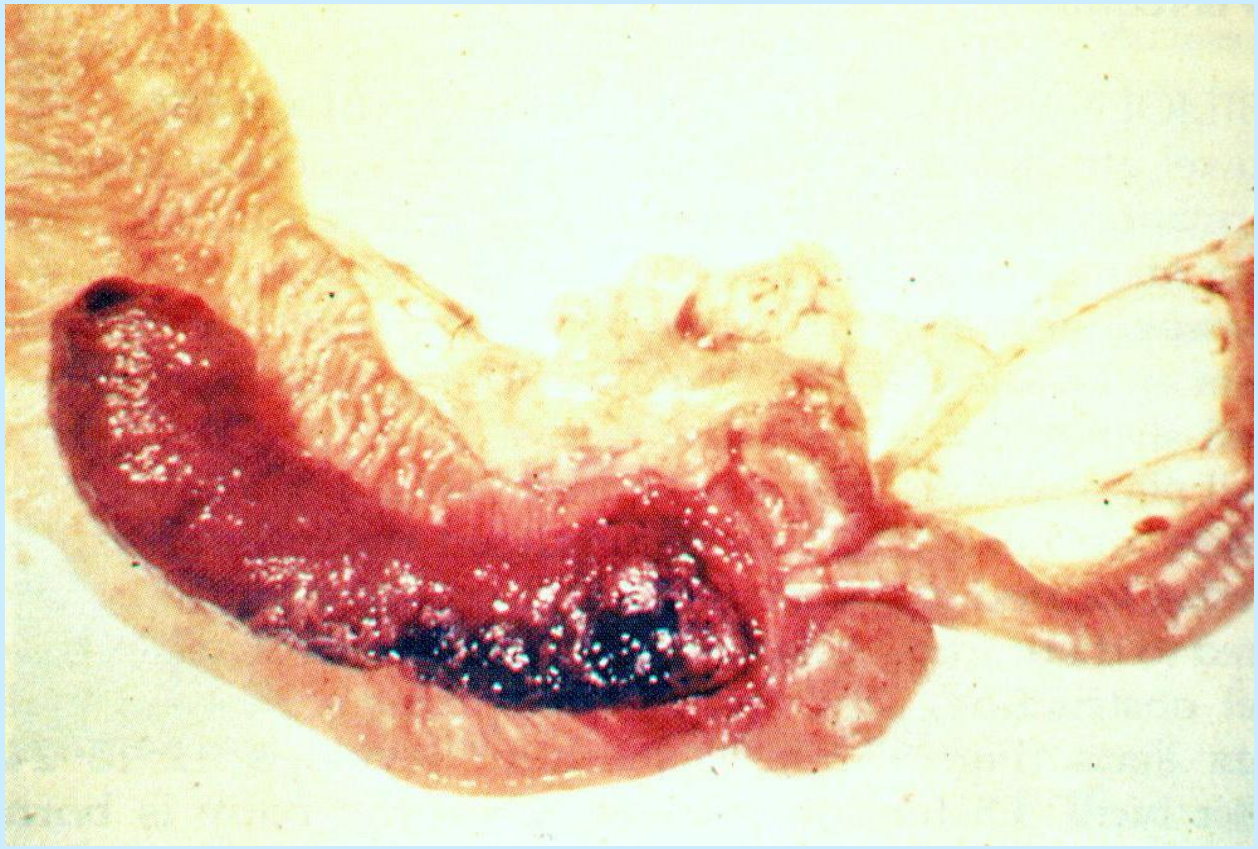
Епідемічний кератокон’юктивіт

- Спостерігається влітку
- Кон’юктивіт завжди супроводжується кератитом
- Головний біль
- Завушна лімфоаденопатія
- Серотипи 8, 19, 37
- Внутрішньолікарняне розповсюдження через об'єкти загального вжитку, руки, офтальмологічне обладнання, ліки

Інфекції ШКТ

- Серотипи 40, 41
- Вік < 4 років
- Механізм передачі- фекально-оральний
- Впродовж року
- Інкубаційний період 3-10 доби
- Діарея триває 10-14 діб
- Лихоманка
- Крім того, кишкова інвагінація, бризжеєчний аденіт, апендицит

Кишкова інвагінація



Аденовірусна інфекція – урогенітальний тракт

Гострий геморагічний цистит

- лихоманка, біль при сечовипусканні, гематурія
- Серотипи 11, 7, 4, 21, 1
- Більш розповсюджений серед хлопчиків

Інше

- Орхіти (запалення яєчок), нефрити, цервіцит з зонами везикулярного лізису
- Серотипи 2, 19, 37

Інші ураження, спричинені аденовірусами

- Міокардити
- Перикардити
- Менінгіти
- Висип
- Артрити

Клінічні симптоми, пов'язані з аденовірусною інфекцією у імунокомпромісних хазяїв

- Генералізовані захворювання (включає 2 чи більше проявів)
- Пневмонія
- Фульмінантний гепатит/панкреатит
- Коліти/гастроентерити
- Геморагічний цистит
- Енцефаліт (зрідка)

Певні серотипи, що викликають захворювання у імунокомпромісних хазяїв

серотипи 5, 11, 34 та 35 часто виділяються у імунокомпромісних підлітків

З 46 пацієнтів, у яких виявили аденовіруси серотипу 35:

- 36 СНІД
- 5 ВМТ
- 1 рецепієнт нирок
- 3 Здорові

Матеріал для дослідження

Клінічний – мазки з зіва та порожнини носа, змиви з носової частини глотки, мокротиння, зскріб з кон' юктиви, спинномозкова рідина, кал

Секційний – фрагменти тканини легень, трахеї, зскрібки з бронхів.

Сироватка крові

Методи дослідження

Експресні

МФА, ЕМ, ІЕМ, ІФА, РІА

Вірусологічні

І етап

Виділення вірусів у перещеплюваних кк (HeLa, Hep-2, KB, L-41) первинних та диплоїдних (нирок ембріону людини)

ІІ етап

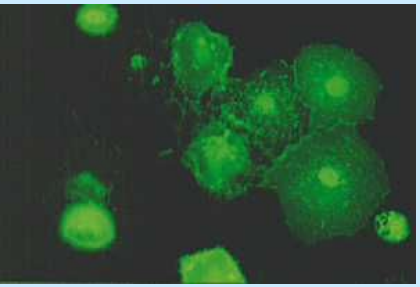
Індикація за ЦПД, МФА, у РЗК, РІД, ІФА, РІА

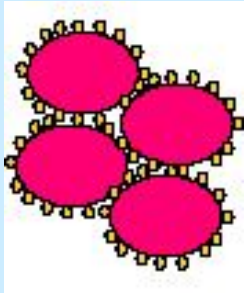
ІІІ етап

Ідентифікація у РН, РТГАз еритроцитами мавп і білих пацюків

Серологічні

РЗК, РН, РІД, РГГА, РНГА, МФА, ІФА, РІА





Специфічна терапія

- До засобів специфічної терапії відносяться препарати, що діють на аденовіруси, а саме аналоги метаболітів нуклеїнових кислот – йоддезоксиуредин, азагуанін, 6 – азауридин та ДНК-аза. При кератитах та кон’юктивітах – інтерферон.
- Відомі такі засоби специфічної профілактики: вбита формолова та жива атенуйована вакцини проти окремих типів аденовірусів.

Терапія ВМТ

Однозначні лікувальні схеми відсутні, оскільки не має ефективної терапії

Противірусні препарати: у деяких випадках (?)

- рибавірин (в/в)
- ганцикловір

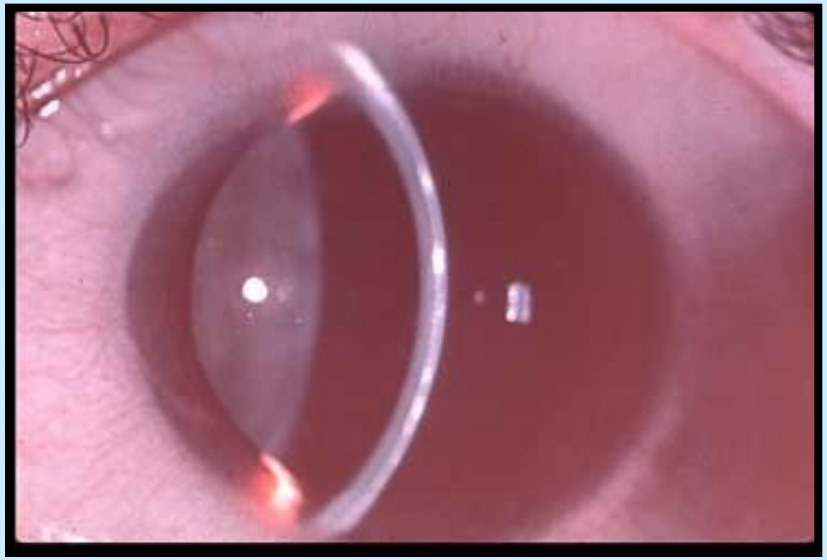
В/в IgG

- Перевірка донорів на наявність антитіл до чітко визначених аденовірусних серотипів (напр., 11, 35)

Аденовірусні інфекції тварин

- Аденовірусная інфекція сільськогосподарських, домашніх і диких тварин – контагіозна, переважно гостро перебігаюча інфекція, яка проявляється ураженням органів дихання, харчотравлення, кон’ юнктивітами.
- **Патогенез**
  Вірус первинно локалізується і розмножується в клітинах епітелію мигдалин, верхніх дихальних шляхів, слизової оболонки очей та кишечника, а також в регіонарних лімфатичних вузлах. В послідуючомувиникає вірусемія і генералізація патологічного процесу, що збігається з початком клінічних проявів. Ураження органів при аденовірусній інфекції проходить більш широко з різноманітним клінічним проявом ніж при інших вірусних інфекціях. Вірус широко розповсюджується в різних тканинах, в т.ч. ЦНС, легенях, серця, печінки, нирках, селезінки, підшлунковій залозі, наднирниках.

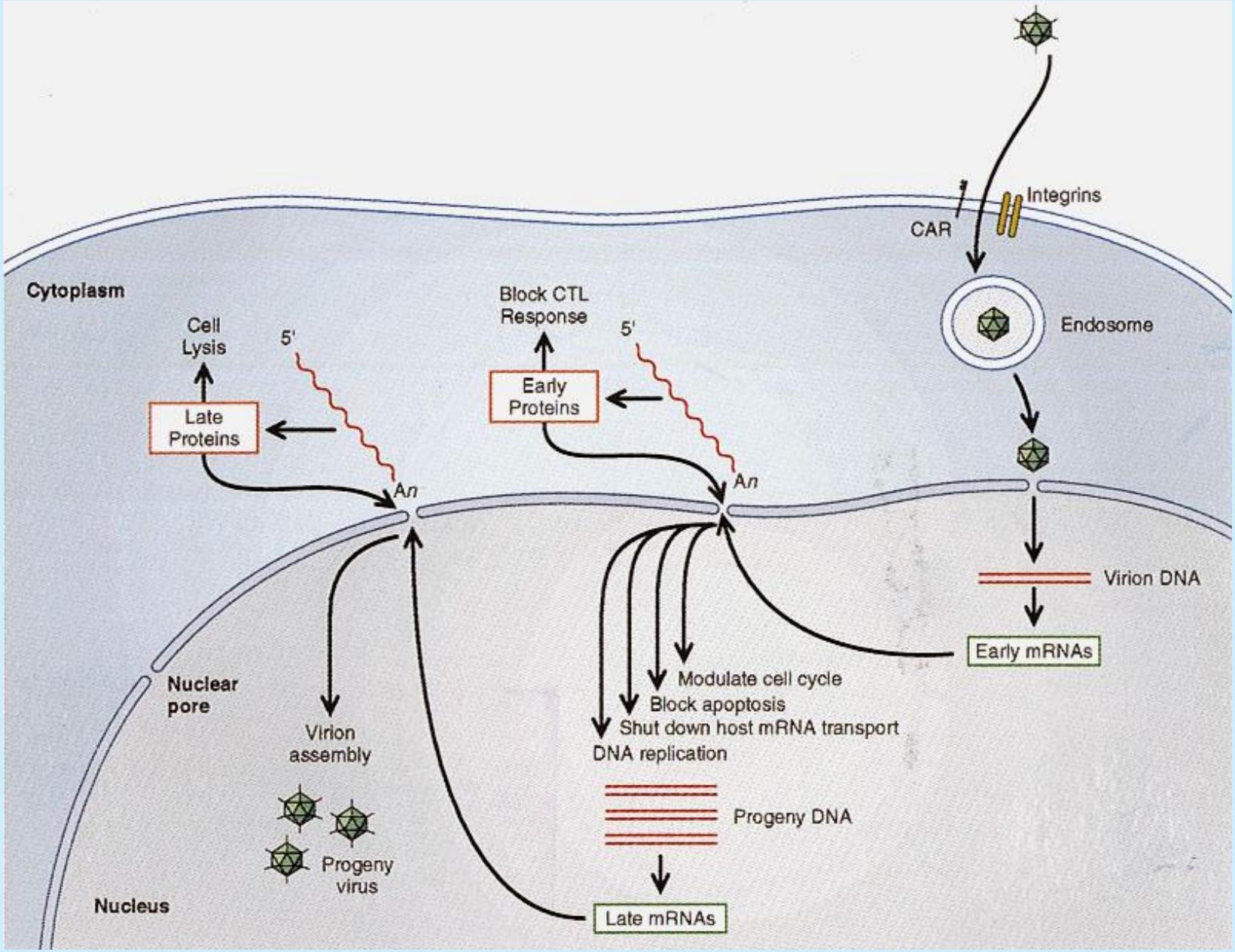
Інкубаційний період 4-7 днів. Хвороба проявляється зменшенням або відсутністю апетиту, підвищенням температури тіла (у ВРХ до 41,5°С, овець, коней), сльозотечею, серозним виділенням із носа, кашлем, утрудненим диханням, діареєю. Виділення із носа і очей на початку слизисті, а потім слизисто-гнійні і гнійні. Розвиваються ознаки пневмонії, ентеритів, пневмоенторитів. Можуть появлятись тимпенії, коліки, фекалії з домішкамикрові та слизової оболонки кишечника.



Найбільш гостро хвороба перебігає у телят 15-20-денного віку, які гинуть через 1-3 дні після появи перших ознак хвороби. Летальність до 60%, у телят до 10 денного віку клінічні ознаки інфекції не проявляються. Перехворілі телята відстають в розвитку і рості. ВРХ старших вікових груп більш стійкі до аденовірусної інфекції, яка проявляється переважно в хронічній формі.

У свиней інфекція проявляється: у дорослих свиней – в хронічній формі; у поросят – в гострій формі. Вражаються переважно органи дихання. Ряд авторів пов’язують з аденовірусною інфекцією виникнення енцефалітів, діарей, враження нирок. У хворих тварин можуть розвиватися екзантема, кератити з помутнінням рогівки.

Реплікативний цикл аденовірусів



(From Fields Virology, 4th ed, Knipe & Howley, eds, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, Fig. 67-5.)