

## ВІРУС ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ. ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Яцкова Є. А., Червецова В. Г., Конечна Р. Т.

### ВСТУП

Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) – це небезпечний вірус, який характеризується прогресуючою дисфункцією імунної, нервової, лімфатичної та інших систем організму. ВІЛ тривалий час проживає (персистує) в лімфоцитах, макрофагах, клітинах нервової тканини. Згідно із сучасними уявленнями, ВІЛ інфекція є невиліковним захворюванням із тривалим хронічним перебігом. Якщо вчасно не виявити та не розпочати ефективне лікування, то вже на пізніх стадіях (III–IV) виникає синдром набутого імунодефіциту (СНІД), що характеризується великою кількістю різноманітних уражень організму.

На сьогодні ВІЛ-інфекція поширилася по всіх континентах та є у кожній країні, таке її глобальне поширення відоме під назвою «пандемія ВІЛ/СНІДу». В Україні зафіксовано більше 170 тис. ВІЛ-інфікованих, але за підрахунками експертної групи, про свій ВІЛ-статус знає лише третина інфікованих. Загальна кількість людей, хворих на ВІЛ в Україні, сягає близько 377 600.

Через високу мілливистість ВІЛ створення вакцини проти СНІДу поки що є питанням майбутнього, незважаючи на те, що збудник СНІДу був відкритий ще у 1983 році в лабораторії французького ученого М. Л. Монтаньє та американського дослідника Р. Галла<sup>1</sup>.

Аналіз успішних випадків лікування ВІЛ-інфекції ТГСК підкреслює потенціал використання цього методу як одного з ефективних методів лікування ВІЛ.

### 1. Будова та життєвий цикл вірусу

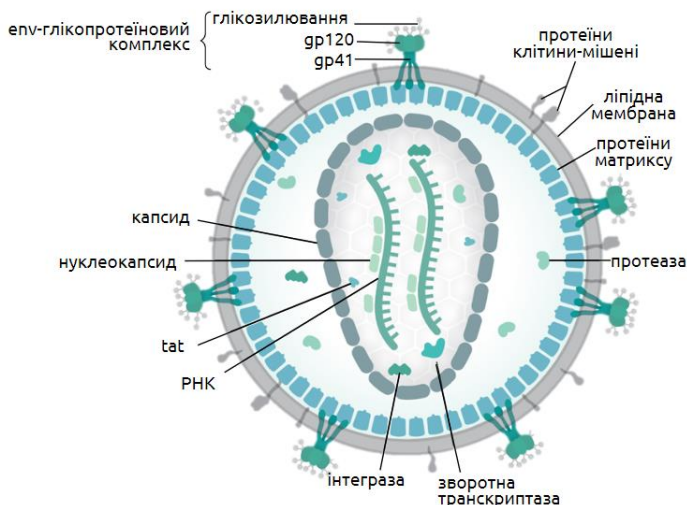
ВІЛ за структурою схожий на інші ретровіруси. Він має майже сферичну форму<sup>2</sup> (рис. 1) з діаметром близько 120 нм, приблизно в 100 000 разів менший за об'ємом, ніж еритроцити<sup>3</sup>.

---

<sup>1</sup> Центр громадського здоров'я МОЗ України. URL: <https://phc.org.ua/dlya-pacientiv/pro-vilnsnid> (дата звернення 21.05.2023).

<sup>2</sup> McGovern, S. L., Caselli, E., Grigorieff, N., & Shoichet, B. K. A common mechanism underlying promiscuous inhibitors from virtual and high-throughput screening. *Journal of medicinal chemistry*. 2002. № 45 (8). P. 1712–1722.

<sup>3</sup> Bruce, F., H. P. Richard, and C. C. Pamela. Lippincott's illustrated reviews: microbiology. 2007. P. 47–51.



**Рис. 1. Будова ВІЛ**

Він складається з двох копій позитивної одноланцюгової РНК, яка кодує дев'ять генів вірусу, оточених конічним капсидом, що складається з 2000 копій вірусного білка р24. Одноланцюгова РНК міцно зв'язана з білками нуклеокапсиду, р7, і ферментами, необхідними для розвитку віріону, такими як зворотна транскриптаза, протеази, рибонуклеаза та інтеграза. Матрикс, що складається з вірусного білка р17, оточує капсид, забезпечуючи цілісність частинки віріону. Капсид, у свою чергу, оточений ще й вірусною оболонкою, яка складається з подвійного ліпідного шару, взятого з мембрани клітини-господаря людини, коли новоутворена вірусна частинка виростає з клітини. Вірусна оболонка містить білки з клітини-хазяїна та відносно невелику кількість копій білка оболонки ВІЛ<sup>4</sup>. Вона у своєму складі також має ковпачки, що складаються з трьох молекул, які представлені глікопротеїном (gp)120, і ніжкою, що складається з трьох молекул gp41, які закріплюють структуру у вірусній оболонці<sup>5</sup>. Білок оболонки, кодований геном

<sup>4</sup> <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/2008/frontmatter.pdf> er.pdf Various. HIV Sequence Compendium 2008 Introduction (PDF). 2008. URL: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/2008/frontmatter.pdf> (дата звернення 25.04.2023).

<sup>5</sup> CHAN, David C., et al. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*. 1997. № 89 (2). P. 263–273.

envHIV, дозволяє вірусу прикріплюватися до клітин-мішеней і зливати оболонку вірусу з мембраною клітин-мішеней вивільняючи при цьому весь вірусний вміст у клітину, що надалі ініціює інфекційний цикл<sup>6</sup>.

## 2. Групи та підтипи ВІЛ

Генетичні дослідження привели до загальної системи класифікації ВІЛ, яка в основному базується на ступені подібності послідовностей вірусних генів. Два основних класи ВІЛ – це ВІЛ-1 та ВІЛ-2. ВІЛ-1, у свою чергу, поділяється на три групи, відомі як група М (основна група), група О (випадаюча група) і група N (нова група). ВІЛ-1 групи М спричиняє найбільшу кількість ВІЛ-інфікувань по всьому світу. Він далі підрозділяється на підтипи від А до К, які відрізняються експресією вірусних генів, вірулентністю та механізмами передачі. Більш того, деякі підтипи поєднуючись один з одним утворюють рекомбінантні підтипи. ВІЛ-1 групи М підтипу В – це вірус, який поширився з Африки на Гаїті і зрештою в Сполучені Штати. Пандемічні форми підтипу В зустрічаються в Північній і Південній Америці, Європі, Японії та Австралії. Підтипи А, С і D зустрічаються в Африці, на південь від Сахари, а підтипи А і С також зустрічаються в Азії та деяких інших частинах світу. Більшість інших підтипів групи М, як правило, розташовані в окремих регіонах Африки, Південної або Центральної Америки<sup>7</sup>. У 2009 році новий штам ВІЛ-1 був виявлений у жінки з Камеруну. Вірус був тісно пов'язаний зі штамом ВІМ, виявленим у диких горил. Дослідники віднесли новий вірус до окремої групи «ВІЛ-1 групи Р», оскільки він був унікальним серед усіх інших типів ВІЛ-1. Досі залишається незрозумілим, чи викликає нещодавно ідентифікований вірус захворювання у людей. ВІЛ-2 поділяється на групи від А до Е, причому підтипи А і В є найбільш відповідними для інфікування людини. ВІЛ-2, який зустрічається в основному в Західній Африці, також може викликати СНІД, але робить це набагато повільніше, ніж ВІЛ-1.

## 3. Життєвий цикл та механізм дії на клітину

ВІЛ може інфікувати різноманітні імунні клітини, такі як CD4+ Т-клітини, макрофаги та мікрогліальні клітини. Здебільшого ВІЛ використовує механізм клітин CD4 для розмноження та поширення по всьому тілу. Цей процес, що складається із семи кроків або стадій,

---

<sup>6</sup> KLEIN, Joshua S.; BJORKMAN, Pamela J. Few and far between: how HIV may be evading antibody avidity. *PLoS pathogens*. 2010. № 6.5. e1000908.

<sup>7</sup> HIVinfo.NIH.gov. URL: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-life-cycle> (дата звернення 29.04.2023).

називається життєвим циклом ВІЛ<sup>8</sup>. Сім етапів життєвого циклу ВІЛ включають: 1) адсорбцію, 2) злиття, 3) зворотну транскрипцію, 4) інтеграцію, 5) реплікацію, 6) збирання та 7) брунькування (рис. 2). Віріон ВІЛ потрапляє в макрофаги та CD4+ Т-клітини шляхом адсорбції своїх поверхневих глікопротеїнів на рецепторах клітини-мішені з наступним злиттям оболонки вірусу з мембраною клітини-мішені та вивільненням капсиду ВІЛ у клітину. Після того як ВІЛ зв'язується з клітиною-мішенню, РНК ВІЛу і різні ферменти, включаючи зворотну транскриптазу, інтегразу, рибонуклеазу та протеазу, вводяться в клітину<sup>9</sup>. Під час транспортування до ядра за допомогою мікротрубочок, одноланцюговий геном вірусної РНК транскрибується в дволанцюгову ДНК, яка потім інтегрується в хромосому господаря.

#### *Адсорбція*

Входження в клітину починається через взаємодію комплексу тримерної оболонки (шип gp160), що знаходиться на оболонці вірусу ВІЛ, з CD4 та хемокіновим корецептором (зазвичай CCR5 або CXCR4, але відомо, що взаємодіють ще й інші рецептори) на поверхні клітини-мішені. Gp120 зв'язується з інтегрином  $\alpha 4\beta 7$ , активуючи LFA-1, центральний інтегрин, який бере участь у створенні вірусологічних синапсів, які сприяють ефективному міжклітинному поширенню ВІЛ-1. Шип gp160 містить домени зв'язування як для CD4, так і для хемокінових рецепторів<sup>10</sup>.

#### *Злиття з клітиною*

Довгий час вважалось, що проникнення ВІЛ-1, як і багатьох інших ретровірусів, відбувається виключно через злиття з плазматичною мембраною. Однак нещодавно також повідомлялося про продуктивну інфекцію шляхом рНезалежного ендцитозу ВІЛ-1, опосередкованого клатрином (рис. 3–4)<sup>11</sup>.

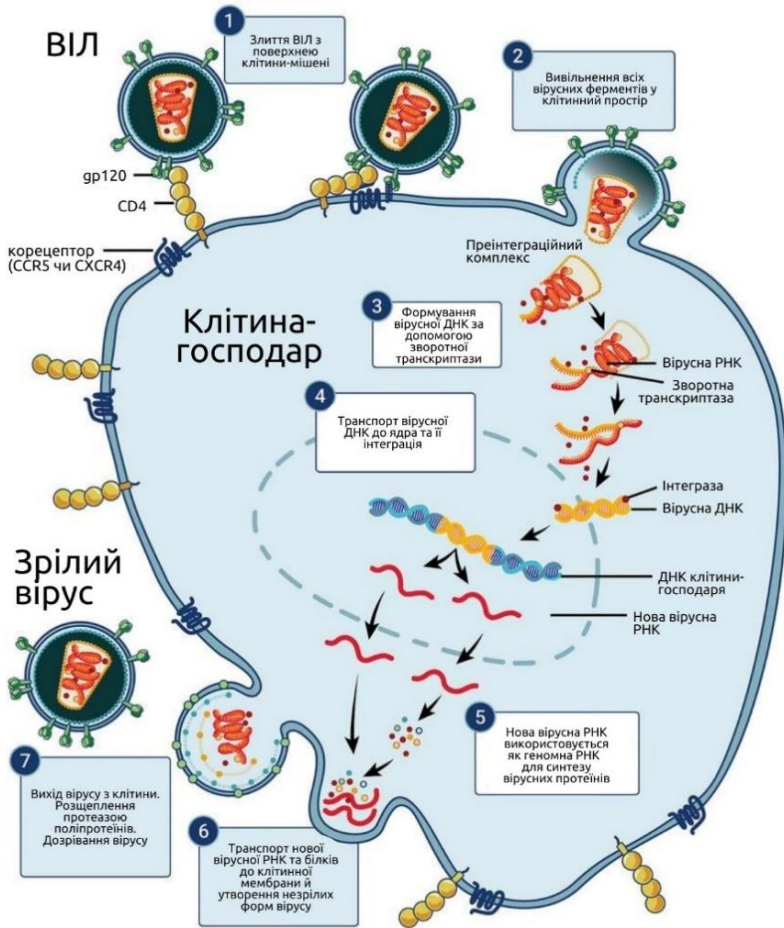
---

<sup>8</sup> Encyclopedia Britannica. URL: <https://www.britannica.com/science/AIDS> (дата звернення 29.04.2023).

<sup>9</sup> Chan, David C., Kim, Peter S. HIV entry and its inhibition. *Cell*. 1998 № 93 (5). P. 681–684.

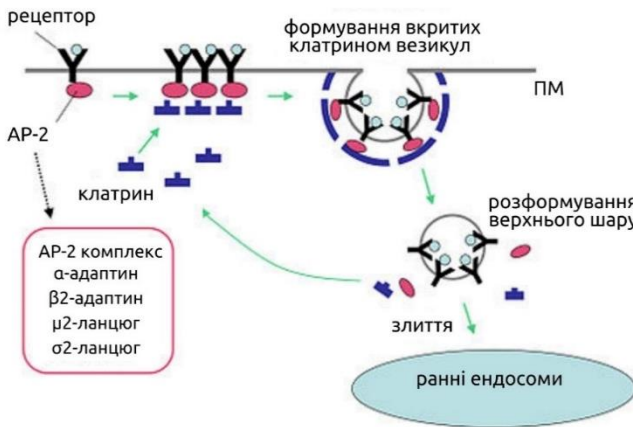
<sup>10</sup> Arthos, J., Cicala, ARTHOS, James, et al. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin  $\alpha 4\beta 7$ , the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nature immunology*. 2008. № 9 (3). P. 301–309.

<sup>11</sup> Daecke, Jessica, et al. Involvement of clathrin-mediated endocytosis in human immunodeficiency virus type 1 entry. *Journal of virology*. 2005. № 79 (3). P. 1581–1594.



**Рис. 2 Життєвий цикл ВІЛ**

1 – злиття ВІЛ з поверхнею клітини-мішені; 2 – вивільнення всіх вірусних ферментів у клітинний простір; 3 – формування вірусної ДНК за допомогою зворотної транскриптази; 4 – транспорт вірусної ДНК до ядра та її інтеграція; 5 – утворення вірусних білків; 6 – транспорт нової вірусної РНК та білків до клітинної мембрани й утворення незрілих форм вірусу; 7 – відбруньковування й дозрівання вірусу.



**Рис. 3** Механізм клатрин-залежного ендоцитозу

#### *Зворотна транскрипція.*

Невдовзі після того, як вірусний капсид потрапляє в клітину, фермент, який називається зворотною транскриптазою, звільняє позитивний одноланцюговий геном РНК від приєднаних вірусних білків, і копіює його в комплементарну молекулу ДНК (кДНК)<sup>12</sup>. Процес зворотної транскрипції надзвичайно схильний до помилок, і отримані мутації можуть спричинити стійкість до ліків або дозволити вірусу уникнути дії імунної системи організму. Зворотна транскриптаза також проявляє рибонуклеазну активність, яка руйнує вірусну РНК під час синтезу кДНК; а також активність ДНК-залежної ДНК-полімерази, яка створює змістовну ДНК на матриці антизмістовної кДНК<sup>13</sup>. Разом кДНК і її комплемент утворюють дволанцюгову вірусну ДНК, яка потім транспортується в клітинне ядро.

#### *Інтеграція.*

Інтеграція вірусної ДНК у геном клітини-господаря здійснюється іншим вірусним ферментом, який називається інтегразою. Інтегрована вірусна ДНК може перебувати тривалий час в стані спокою у латентній стадії. Щоб активно продукувати вірус, необхідні певні фактори клітинної транскрипції, найважливішим з яких є NF-κB (ядерний фактор каппа В), рівень якого зростає, коли Т-клітини активуються<sup>14</sup>.

<sup>12</sup> ZHENG, Yong-Hui; LOVSIN, Nika; PETERLIN, B. Matija. Newly identified host factors modulate HIV replication. *Immunology letters*. 2005. № 97 (2). P. 225–234.

<sup>13</sup> Dr Kaiser's Microbiology. URL: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology\\_\(Kaiser\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_(Kaiser)) (дата звернення 30.04.2023).

<sup>14</sup> Hiscott, John, Hakju Kwon, and Pierre Génin. Hostile takeovers: viral appropriation of the NF-κB pathway. *The Journal of clinical investigation*. 2001. № 107 (2). P. 143–151.

*Реплікація (транскрипція, трансляція, рекомбінація)*

Під час реплікації вірусу інтегрована ДНК провірусу транскрибується в мРНК. Повнорозмірні геномні РНК (гРНК) пізніше можуть бути упаковані в нові вірусні частинки в псевдодиплоїдній формі. Селективність пакування генетичного матеріалу залежить від структурних властивостей димерного конформера гРНК. РНК також може піддаватися процесингу для отримання зрілих матричних РНК (мРНК). У більшості випадків ця обробка включає сплайсинг РНК для отримання мРНК, коротших за повну довжину геному. Те, яка частина РНК видаляється під час сплайсингу, визначається послідовністю, яка кодує білок ВІЛ, що має транслюватися<sup>15</sup>.

Зрілі мРНК ВІЛ експортуються з ядра в цитоплазму, де вони транслюються для отримання білків ВІЛ, включаючи Rev. У міру вироблення новоутвореного білка Rev він переміщується до ядра, де зв'язується з повнорозмірними несплайсованими копіями вірусних РНК і дозволяє їм покинути ядро. Деякі з цих повнорозмірних РНК функціонують як мРНК, які транслюються для отримання структурних білків Gag і Env. Gag-білки зв'язуються з копіями геному вірусної РНК, щоб упаковувати їх у нові вірусні частинки. Рекомбінація. Після інфікування та реплікації може відбутися рекомбінація між двома геномами<sup>16</sup>. Рекомбінація відбувається, коли одноланцюгові геноми позитивної РНК зворотно транскрибуються з утворенням ДНК. Під час зворотної транскрипції зароджувана ДНК може кілька разів перемикатися між двома копіями вірусної РНК. Ця форма рекомбінації відома як вибір копії. Події рекомбінації можуть відбуватися в усьому геномі. У кожному циклі реплікації може здійснюватися від двох до двадцяти подій рекомбінацій на геном, і ці події можуть швидко перетасувати генетичну інформацію<sup>17</sup>.

Вірусна рекомбінація створює генетичні варіації, які, ймовірно, сприяють розвитку стійкості до антиретровірусної терапії<sup>18</sup>. Рекомбінація також може сприяти, в принципі, подоланню імунного захисту хазяїна. *Збирання.*

---

<sup>15</sup> Ocwieja, K. E., Ocwieja, Karen E., et al. Dynamic regulation of HIV-1 mRNA populations analyzed by single-molecule enrichment and long-read sequencing. *Nucleic acids research*. 2012. № 40 (20). P. 10345–10355.

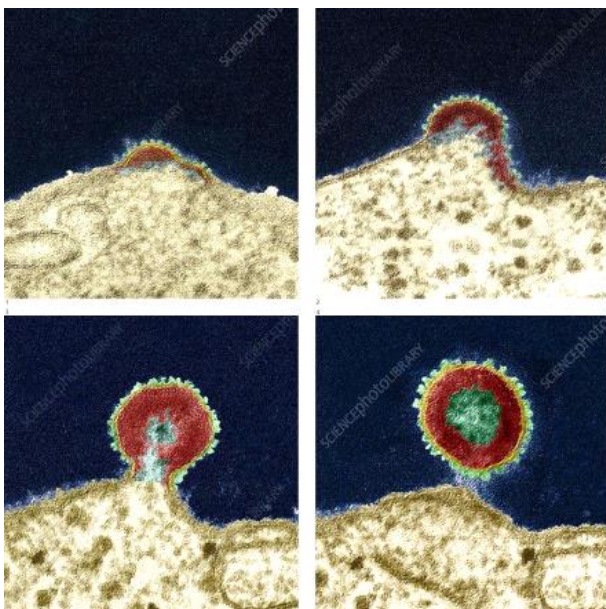
<sup>16</sup> CHEN, Jianbo, Powell, Douglas, H. U., Wei-Shau. High frequency of genetic recombination is a common feature of primate lentivirus replication. *Journal of virology*. 2006. № 80 (19). P. 9651–9658.

<sup>17</sup> Charpentier, C. Charpentier, Charlotte, et al. Extensive recombination among human immunodeficiency virus type 1 quasispecies makes an important contribution to viral diversity in individual patients. *Journal of virology*. 2006. № 80 (5). P. 2472–2482.

<sup>18</sup> NORA, Tamara, et al. Contribution of recombination to the evolution of human immunodeficiency viruses expressing resistance to antiretroviral treatment. *Journal of virology*. 2007. № 81 (14). P. 7620–7628.

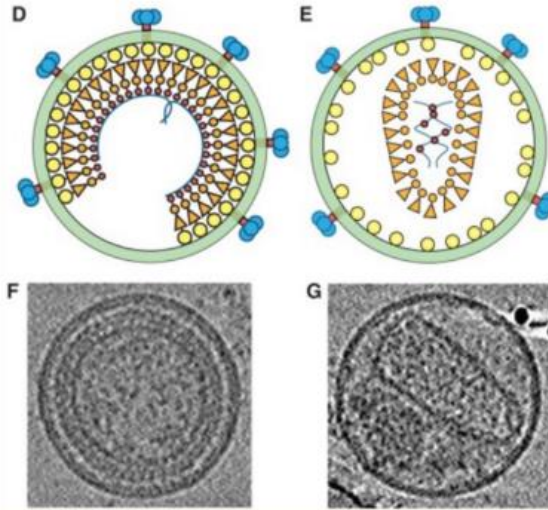
Останній етап вірусного циклу – збирання нових віріонів ВІЛ-1. Він починається на плазматичній мембрані клітини-хазяїна. Поліпротеїн Env (gp160) проходить через ендоплазматичний ретикулум і транспортується до апарату Гольджі, де він розщеплюється фурином, у результаті чого утворюються два глікопротеїни оболонки ВІЛ, gp41 і gp120. Вони транспортуються до плазматичної мембрани клітини-господаря, де gp41 закріплює gp120 на мембрані інфікованої клітини. Поліпротеїни Gag (p55) і Gag-Pol (p160) також зв'язуються з внутрішньою поверхнею плазматичної мембрани разом із геномною РНК ВІЛ, коли віріон починає відроджуватися з клітини-господаря. Віріон, що зародився, ще незрілий, оскільки поліпротеїни gag ще потребують наступного розщеплення.

**Брунькування.** Останній крок із семи етапів життєвого циклу ВІЛ це брунькування (рис. 5). Під час брунькування незрілий (неінфекційний) ВІЛ виштовхується з клітини CD4-господаря. Потрапивши за межі клітини CD4, новий ВІЛ вивільняє протеазу. Вона розриває довгі білкові ланцюги в незрілому вірусі, утворюючи зрілий (інфекційний) вірус.



**Рис. 5** Кольорова трансмісійна електронна мікрофотографія (ТЕМ) частинки ВІЛ (червона/зелена), що відбруньковується з поверхні лейкоцитів Тлімфоцитів





**Рис. 6. (D) Схематична модель, що демонструє організацію незрілого віріону ВІЛ-1. (E) Схематична модель, що демонструє організацію зрілого віріону ВІЛ1. (F) Центральний зріз кріо-ЕМ томографічної реконструкції незрілого віріону ВІЛ-1. (G) Центральний зріз томографічної реконструкції зрілого віріону ВІЛ1**

#### **4. Методи лікування ВІЛ**

##### *Антиретровірусна терапія*

До сьогодні найбільш поширеним методом лікування ВІЛ була антиретровірусна терапія (АРТ). АРТ передбачає щоденний прийом комбінації ліків від ВІЛ. Основною метою лікування ВІЛ антиретровірусною терапією є зниження вірусного навантаження людини до рівня, який неможливо визначити. Вірусне навантаження, яке не визначається, означає, що рівень ВІЛ у крові занадто низький, щоб його можна було виявити за допомогою тесту на вірусне навантаження. Люди з ВІЛ, які підтримують вірусне навантаження, що не визначається, фактично не мають ризику передачі ВІЛ своїм ВІЛ-негативним партнерам статевим шляхом<sup>19</sup>. Для лікування ВІЛ-інфекції методом АРТ застосовуються п'ять груп лікарських препаратів: нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази та нуклеозидні інгібітори

<sup>19</sup> HIVinfo.NIH.gov. URL: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-treatment-basics> (дата звернення 30.04.2023).

зворотної транскриптази, інгібітори протеази, інгібітори інтегрази, інгібітори злиття та інгібітори рецепторів.

#### *Нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази*

Механізм дії даної групи препаратів полягає у конкурентному блокуванні ферменту зворотної транскриптази та вибіркового інгібуванні реплікації вірусної ДНК. Усі препарати групи є аналогами природних нуклеотидів або нуклеозидів. Саме до цієї групи відноситься перший препарат, що був затверджений для лікування СНІДу – це зидовудин, який був зареєстрований у 1987 році. До нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази належать: абакавір, диданозин, зальцитабін, зидовудин, ламівудин, ставудин, тенофовір, фосфазид, емтрицитабін, абакавір/ламівудин, тенофовір/емтрицитабін, зидовудин/ламівудин, зидовудин/ламівудин/абакавір.

#### *Ненуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази*

Препарати даної групи інгібують ранні стадії життєвого циклу вірусу, тому особливо ефективні при гострому зараженні ВІЛ-інфекцією. Препарати цієї групи ефективні лише проти вірусу ВІЛ-1 та неефективні проти ВІЛ-2. До нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази належать: делавірдин, невірапін, ефавірен, етравірін, рілпівірін.

#### *Інгібітори протеази*

Препарати цієї групи блокують активний центр ферменту вірусу – протеази, який необхідний для розщеплення поліпротеїнових попередників вірусу на окремі білки, що входять до складу вірусу, та порушують утворення білків вірусного капсиду. До інгібіторів протеази відносяться: ампренавір, атазанавір, індинавір, лопінавір, нелфінавір, ритонавір, саквінавір, лопінавір/ритонавір, типранавір, фосампренавір, дарунавір.

#### *Інгібітори інтегрази*

Препарати, що належать до цієї групи блокують фермент вірусу, що бере участь у включенні геному провірусної ДНК в генوم клітин людини. До інгібіторів інтегрази відносяться: ралтегравір, долутегравір, елвітегравір.

#### *Інгібітори злиття*

Препарати цієї групи блокують проникнення вірусу всередину клітинмішеної. До інгібіторів злиття відноситься препарат енфувіртид (міжнародна транскрипція ENF або T-20).

#### *Інгібітори рецепторів*

Інгібітори рецепторів блокують проникнення вірусу всередину клітинмішеної, діючи на корецептори. Єдиним зареєстрованим препаратом групи інгібіторів рецепторів є маравірок (міжнародна

транскрипція MVC), клінічні дослідження проходять препарати вікрівірок, аплавірок та препарати, що мають лише умовні назви – TAK-220 і AMD 070<sup>20</sup>.

#### *Методи, що безпосередньо впливають на CCR5*

Існує багато стратегій пригнічення ВІЛ-інфекції, у цьому підрозділі зосередимося на методах, пов'язаних із CCR5, оскільки він є переважним корецептором ВІЛу. Білок CCR5 (C-C chemokine receptor type 5) – це рецепторний білок, що належить до сімейства бета-хемокінових рецепторів інтегральних мембранних білків; є G-білко-спряженим рецептором. CCR5 переважно експресується на Т-клітинах, макрофагах, дендритних клітинах, еозинофілах, мікроглії та субпопуляції клітин раку молочної залози або простати<sup>21</sup>. Методи зниження регуляції/інгібування синтезу CCR5 включають ZFN, CRISPR/Cas9, TALEN, shRNA, малі інтерферуючі РНК (siRNA), антисмислову РНК і рибозими. А до методів запобігання поверхневій експресії CCR5 належать інтрапіла та інтракіні<sup>22</sup>.

#### *Стратегії зниження регуляції та інгібування синтезу CCR5*

1) ZFN (Zinc finger nuclease) – це штучно створені білки з доменами, так званих, «цинкових пальців», які можуть зв'язуватися з цільовими ділянками ДНК і проводити редагування генів за допомогою дволанцюгових розривів ДНК. Місця розриву ДНК можуть зазнати або негомологічного з'єднання кінців, або гомологічної рекомбінації шляхом вставки донорської ДНК, обидва з яких призводять до мутації гена.

2) Останнім часом були створені більш досконалі методи придушення генів. Наприклад, TALEN (Transcription activator-like effector nucleases) можуть успішно націлюватися на сайти в локусах CCR5 з меншою цитотоксичністю порівняно з ZFN. Подібно до ZFN, домени зв'язування TALEN розпізнають і розщеплюють специфічну ДНК за допомогою попередньо злитої ендонуклеазної частини цього комплексу.

3) Система CRISPR/Cas9 була адаптована як молекулярний інструмент для руйнування окремих генів людини. Цю систему успішно випробували на клітинах людини. Там Кім та ін. змогли вплинути на 18 % генів CCR5.

---

<sup>20</sup> Cooper E. R., Charurat M., Cooper, Ellen R., et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2002. № 29 (5). P. 484–494.

<sup>21</sup> HGNC. URL: <https://web.archive.org/web/20150912174016/> (дата звернення 18.04.2023)

<sup>22</sup> Hütter, G., Hütter, Gero, et al. CCR5 targeted cell therapy for HIV and prevention of viral escape. *Viruses*. 2015. № 7 (8). P. 4186–4203.

4) siRNA – це невеликі фрагменти синтетично отриманої РНК, які спрямовують ендонуклеазу до розщеплення цільової ділянки мРНК. siRNA екзогенно синтезуються, короткі й схильні до швидкої деградації.

5) shRNA відрізняються від siRNA більш стабільною вторинною структурою (шпилькова петля).

6) Трансляція на рівні мРНК може бути інгібована антисмисловими РНК; одноланцюговими комплементарними РНК. Лі та ін. повідомляють про зниження регуляції CCR5 рекомбінантним аденовірусом, що експресує антисмислову РНК CCR5.

7) Рибозими – це невеликі каталітичні молекули РНК, які можуть виступати у ролі білкових ферментів та були створені для націлювання на конкретні послідовності РНК. Три клінічні випробування позитивно довели безпечність, доцільність і довгострокову стабільність використання цих структур.

### ***Стратегії інгібування експресії CCR5 на клітинній поверхні***

1) Інтракіни – це внутрішньоклітинні хемокіни, здатні націлюватися на щойно синтезований CCR5 в ендоплазматичному ретикулумі шляхом блокування транспорту CCR5 на поверхню клітини. Однак основною проблемою цього підходу є неповне інгібування CCR5.

2) На відміну від застосування інтракінів, застосування інтрабоді забезпечувало більш повне інгібування CCR5. Інтрабоді – це внутрішньоклітинне одноланцюгове антитіло з варіабельним фрагментом, яке може зв'язуватися з цільовим білком, потенційно роблячи його дисфункціональним.

### ***Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин***

Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК) – це трансплантація мультипотентних гемопоетичних стовбурових клітин, зазвичай отриманих із кісткового мозку, периферичної крові або пуповинної крові, з метою реплікації всередині пацієнта та отримання додаткових нормальних клітин крові. Загалом існує три різні категорії трансплантації: аутологічна (реципієнт є донором), алогенна (реципієнт отримує стовбурові клітини від донора) та сингенна (донором стовбурових клітин є ідентичний близнюк), які можна застосувати до більшості сценаріїв захворювання. ТГСК показана при багатьох захворюваннях, і ці показання залежать від багатьох факторів, таких як тип захворювання, стадія та відповідь на попереднє лікування. Хоча антиретровірусна терапія дає свої плоди у лікуванні, але вірус імунодефіциту людини типу 1 (ВІЛ-1) зберігається в організмі під час антиретровірусної терапії у латентно інфікованих CD4+ Т-клітинах. Було доведено, що алогенна трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК), на відміну від АРТ, суттєво зменшує вірусний резервуар.

Однак деякі з резервуарних імунних клітин живуть надзвичайно довго, а також є частково стійкими до певних схем хіміотерапії, які використовуються під час процедур ТГСК, і можуть спричинити відновлення вірусу після переривання аналітичного лікування (АТІ)<sup>23</sup>.

Показаннями до трансплантації стовбурових клітин є:

1) Злоякісні (ракові) утворення: а) Гострий мієлоїдний лейкоз; б) Хронічний мієлоїдний лейкоз; с) Гострий лімфобластний лейкоз; d) Ювенільний мієломоноцитарний лейкоз; е) Лімфома Ходжкіна (рецидив, рефрактерна); f) Неходжкінська лімфома (рецидив, рефрактерна); g) Нейробластома; h) Саркома Юїнга; і) Множинна мієлома; j) Мієлодиспластичні синдроми k) Гліоми

2) Незлоякісні (неракові) утворення: а) Таласемія; б) Серповидноклітинна анемія; с) Апластична анемія; d) Анемія Фанконі; е) Злоякісний дитячий остеопетроз f) Мукополісахаридоз g) Пароксизмальна нічна гемоглобінурія; h) Дефіцит піруваткінази; і) Синдроми імунodefіциту; j) Аутоімунні захворювання, включаючи розсіяний склероз<sup>24</sup>.

При алогенній трансплантації реципієнт отримує гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) від спорідненого або неспорідненого донора, який може повністю або частково відповідати людському лейкоцитарному антигену (HLA); спорідненими донорами є члени сім'ї; неспоріднених донорів ідентифікують через реєстр донорів або з банку пуповинної крові.

В алогенній ТГСК важливу роль відіграють молекули головного комплексу гістосумісності (ГКГ) HLA класу I (знаходяться на клітинній поверхні всіх ядерних клітин в тілах хребетних) та II (зустрічаються лише на спеціалізованих антигенпрезентувальних клітинах (АПК), таких як дендритні клітини, мононуклеарні фагоцити, деякі ендотеліальні клітини, епітеліальні клітини тимуса), які розташовані на шостій хромосомі. Їх зіставлення виконується на основі варіабельності в трьох або більше локусах гена HLA, й ідеальний збіг у цих локусах є найкращим. Навіть за умови, що за цими критичними алелями існує ідеальний збіг, реципієнту у будь-якому разі проводять терапію імуносупресивними препаратами для пом'якшення реакції «трансплантат проти господаря» (ТПГ).

Ідеальним донором є HLA-ідентичний рідний брат – HLA-сумісний споріднений донор (MRD – HLA-Matched Related Donor). Існує

---

<sup>23</sup> Jensen, B. E. Jensen, Björn-Erik Ole, et al. In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nature Medicine*. 2023. № 29 (3). P. 583–587.

<sup>24</sup> Felfly H., Felfly, Hady, Haddad, Gabriel G. Hematopoietic stem cells: potential new applications for translational medicine. *Journal of stem cells*. 2014. № 9 (3). P. 163.

25 %-ва ймовірність, що кожен брат або сестра пацієнта буде повністю відповідним HLA, оскільки брати і сестри успадковують 50 % гаплотипу від кожного з батьків (рис. 7)<sup>25</sup>.



**Рис. 7** Схема сумісності HLA

Якщо гістосумісність донора повністю збігається з реципієнтом, донор називається відповідним неспорідненим донором (MUD – Matched Unrelated Donor); якщо є часткова несумісність, донор називається невідповідним неспорідненим донором (MMUD – Mismatched Unrelated Donor). Трансплантація одиниці пуповинної крові від неродинного донора (UCBT – Unrelated Donor Umbilical Cord Blood) є альтернативним донорським варіантом у пацієнтів, які не мають традиційних спорідненого та неспорідненого донорів. Переваги UCBT включають здатність переносити більший ступінь невідповідності HLA, ніж це можливо при використанні повністю гістогістосумісного неспорідненого донора. UCBT демонструє нижчу частоту відторгнення або реакції «трансплантат проти господаря» без втрати ефекту «трансплантат проти лейкемії». Однак уповільнене відновлення кровотворення та повільне відновлення імунної системи та вартість придбання залишаються невирешеними проблемами. ТГСК є і ефективною в боротьбі з ВІЛом, оскільки для трансплантації використовують стовбурові клітини з мутацією CCR5Δ32/Δ32.

<sup>25</sup> KENYON, Michelle; BABIC, Aleksandra. The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses: Under the Auspices of EBMT [Internet]. 2018.

### Мутація CCR5Δ32/Δ32

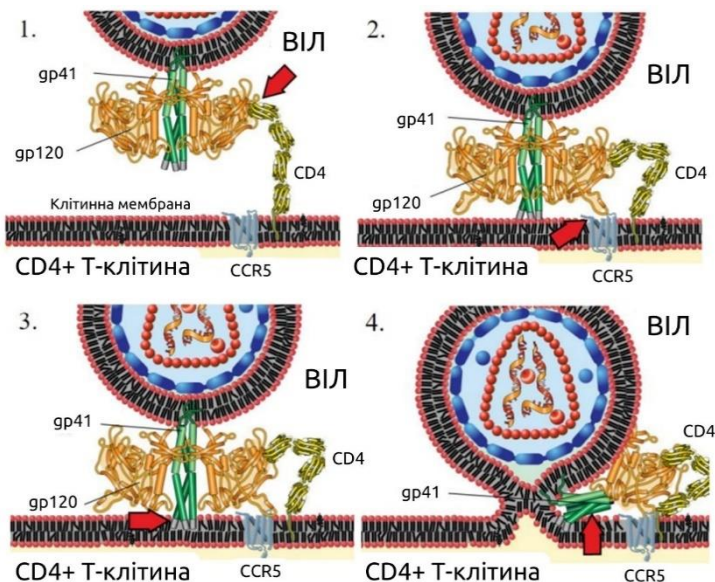
CCR5Δ32/Δ32 – це делеція 32 пари основ, що спричиняє передчасне виведення стоп-кодона у локус рецептора CCR5, яке далі призводить до його нефункціональності. Гомозиготні носії цієї мутації стійкі до М-тропних штамів ВІЛ-1 інфекції. Проникнення ВІЛ у клітини залежить від зв'язування з рецептором CD4 і принаймні одним із двох можливих корецепторів хемокінів: CCR5 і CXCR4. Штами ВІЛ, які зв'язуються з CCR5, називаються R5-тропними, а ті, що зв'язуються з CXCR4, – X4-тропними; подвійні тропні штами здатні використовувати або CCR5, або CXCR4. З двох можливих корецепторів CCR5 є переважаючим рецептором для входу ВІЛ в клітини. Важливо відзначити, що R5-тропні штами передаються найчастіше і переважають на ранніх стадіях інфекції, тоді як X4-тропні штами з'являються пізніше з прогресуванням захворювання. Як правило, люди з природною мутацією CCR5Δ32/Δ32, які інфікуються ВІЛ, заражаються X4-тропними вірусами. Структура глікопротеїну оболонки ВІЛ-1 має важливе значення для забезпечення проникнення вірусу ВІЛ-1 у цільову клітину-господаря. Білок оболонки Gp120 є імітатором хемокіну. Хоча він не має ідентичної структури хемокіну, він все ще здатний зв'язуватися з хемокіновими рецепторами CCR5 і CXCR4. Під час інфікування ВІЛ-1 субодиниця глікопротеїну оболонки Gp120 зв'язується з глікопротеїном CD4 і корецептором ВІЛ-1, що експресується на клітині-мішені, утворюючи гетеротримерний комплекс. Утворення цього комплексу стимулює вивільнення фузогенного пептиду, що змушує вірусну мембрану зливатися з мембраною клітини-господаря-мішені<sup>26</sup>.

CCR5 необхідний для проникнення М-тропного вірусу ВІЛ-1. Особи, гомозиготні (позначаються Δ32/Δ32) за CCR5 Δ32, не експресують функціональні рецептори CCR5 на своїх клітинних поверхнях і є стійкими до інфекції ВІЛ-1, незважаючи на численні контакти з високим ризиком. Особи, гетерозиготні (+/Δ32) за мутантним алелем мають більш ніж на 50 % менше функціональних рецепторів CCR5 на їхніх клітинних поверхнях, через димеризацію між мутантними рецепторами та рецепторами дикого типу, що перешкоджає транспорту CCR5 до поверхні клітин<sup>27</sup>.

---

<sup>26</sup> VELASCO-VELÁZQUEZ, Marco, et al. CCR5 Antagonist Blocks Metastasis of Basal Breast Cancer Cells Antimetastatic Effect of CCR5 Antagonist. *Cancer research*. 2012. № 72 (15). P. 3839–3850.

<sup>27</sup> Alkhatib, Ghalib. The biology of CCR5 and CXCR4. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2009. № 4 (2). P. 96.



**Рис. 8 Механізм проникнення вірусу:**

1) початкова взаємодія між *gp120* і *CD4*; 2) конформаційна зміна *gp120* уможливорює вторинну взаємодію з *CCR5*; 3) дистальні кінчики *gp41* вставлені в клітинну мембрану; 4) *gp41* зазнає значних конформаційних змін; складаючись навпіл і утворюючи згорнуті катушки. Цей процес стягує вірусну та клітинну мембрани разом, зливаючи їх.

Гетерозиготи-носії стійкі до інфекції ВІЛ-1 порівняно з дикими типами, а при зараженні гетерозиготи демонструють знижене вірусне навантаження та на 2–3 роки повільніше прогресування СНІДу порівняно з дикими типами<sup>28</sup>. Гетерозиготність за цим мутантним алелем також показала покращену вірусологічну відповідь людини на антиретровірусне лікування. У Європі *CCR5 Δ32* має (гетерозиготну) алельну частоту 9 % та гомозиготну частоту 1 %<sup>29</sup>.

## ВИСНОВКИ

Сьогодні лікування ВІЛ вступило в нову еру. У світлі успіху антиретровірусної терапії у контролі інфекції та подовженні тривалості життя ВІЛ-інфікованих людей, відсутність ефективної вакцини є основною перешкодою для профілактики ВІЛ; можливо, зараз настав час

<sup>28</sup> BENKIRANE, Monsef, et al. Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by *ccr5Δ32*. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. № 272 (49). P. 30603–30606.

<sup>29</sup> Murphy, Kenneth, Weaver, Casey. *Janeway's immunobiology*. Garland science. 2016. 582 p.



подумати про викорінення ВІЛ. Випадок «берлінського пацієнта» відкрив вікно до можливостей використання клітинної терапії. Однак існують деякі обмеження в області використання такого методу. З часом з'являються все нові-й-нові повідомлення про тривалі ремісії пацієнтів з ВІЛ, які досягалися за допомогою трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин. Зрештою, кожна нова розробка все ще залишається лише частиною великою головоломки, а не остаточним рішенням оптимізації лікування ВІЛ. Наскільки зараз відомо, захисту від повторної появи ВІЛ після цільової терапії CCR5 можна досягти шляхом пригнічення рецептора хемокіну, таким чином імітуючи майже ідеальний захист від передачі вірусу у гомозиготних осіб CCR5-Δ32. Інгібування реплікації вірусу під час цієї фази, а також CCR5-незалежні інгібітори проникнення можуть запобігти відскоку квазівидів ВІЛ за допомогою альтернативних хемокінових рецепторів.

Хоча ТГСК з використанням донорів із мутацією CCR5Δ32/Δ32 не є ані низькоризиковою, ані легко масштабованою процедурою, її актуальність для стратегій лікування підкреслюється останніми повідомленнями про успішну довготривалу ремісію ВІЛ-1 після CCR5Δ32/Δ32-ТГСК. Розширення цього підходу для введення мутації CCR5Δ32 у трансплантати стовбурових клітин дикого типу за допомогою генної терапії в поєднанні з новими стратегіями зменшення резервуару може давати обіцяючі результати.

## **АНОТАЦІЯ**

Протягом останніх десятиліть медицина активно працює над пошуком ефективних методів лікування та встановлення контролю над ВІЛ-інфекцією. Одним із таких, нещодавно запропонованих публіці, методів є трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин, що є відносно новим підходом до лікування ВІЛ.

Метою цієї курсової роботи є загальна характеристика вірусу імунодефіциту людини та огляд досвіду застосування трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК) в лікуванні ВІЛ-інфекції, на прикладі аналізу п'яти відомих випадків лікування ВІЛ. Дослідження, що будуть представлені, базуються на наукових доказах та клінічних спостереженнях, які свідчать про можливість поліпшення стану імунної системи та загального благополуччя пацієнтів з ВІЛ-інфекцією за допомогою ТГСК.

## **Література**

1. Центр громадського здоров'я МОЗ України. URL: <https://phc.org.ua/dlya-pacientiv/pro-vilsnid> (дата звернення 21.05.2023).

2. McGovern S. L., Caselli E., Grigorieff N., Shoichet B. K. A common mechanism underlying promiscuous inhibitors from virtual and high-throughput screening. *Journal of medicinal chemistry*. 2002. № 45 (8). P. 1712–1722.
3. Bruce F., Richard H. P., and Pamela C. C. Lippincott's illustrated reviews: microbiology. 2007. P. 47–51.
4. Various (2008). HIV Sequence Compendium 2008 Introduction (PDF). URL: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/2008/frontmatter.pdf> (дата звернення 25.04.2023).
5. Chan David C. et al. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*. 1997. №. 89 (2). P. 263–273.
6. Klein Joshua S., Bjorkman Pamela J. Few and far between: how HIV may be evading antibody avidity. *PLoS pathogens*, 2010, 6,5: e1000908.
7. HIVinfo.NIH.gov. URL: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-life-cycle> (дата звернення 29.04.2023).
8. Encyclopedia Britannica. URL: <https://www.britannica.com/science/AIDS> (дата звернення 29.04.2023).
9. Chan David C., Kim Peter S. HIV entry and its inhibition. *Cell*. 1998. № 93 (5). P. 681–684.
10. Arthos James, et al. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin  $\alpha 4\beta 7$ , the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nature immunology*. 2008. № 9 (3). P. 301–309.
11. Daecke Jessica et al. Involvement of clathrin-mediated endocytosis in human immunodeficiency virus type 1 entry. *Journal of virology*. 2005. № 79 (3). P. 1581–1594.
12. Zheng Yong-Hui, Lovsin Nika, Peterlin B. Matija. Newly identified host factors modulate HIV replication. *Immunology letters*. 2005. № 97 (2). P. 225–234.
13. Dr Kaiser's Microbiology. URL: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology\\_\(Kaiser\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_(Kaiser)) (дата звернення 30.04.2023).
14. Hiscott John, Hakju Kwon, Pierre Génin. “Hostile takeovers: viral appropriation of the NF- $\kappa$ B pathway. *The Journal of clinical investigation*. 2001. № 107 (2). P. 143–151.
15. Ocwieja Karen E. et al. Dynamic regulation of HIV-1 mRNA populations analyzed by single-molecule enrichment and long-read sequencing. *Nucleic acids research*. 2012. № 40 (20). P. 10345–10355.
16. Chen, Jianbo, Powell, Douglas, Hu Wei-Shau. High frequency of genetic recombination is a common feature of primate lentivirus replication. *Journal of virology*. 2006. № 80 (19). P. 9651–9658.
17. Charpentier Charlotte et al. Extensive recombination among human immunodeficiency virus type 1 quasispecies makes an important contribution to viral diversity in individual patients. *Journal of virology*. 2006. № 80 (5). P. 2472–2482.

18. Nora Tamara et al. Contribution of recombination to the evolution of human immunodeficiency viruses expressing resistance to antiretroviral treatment. *Journal of virology*. 2007. №. 81 (14). P. 7620–7628.
19. HIVinfo.NIH.gov. URL: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-treatment-basics> (дата звернення 30.04.2023).
20. Cooper Ellen R. et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2002. № 29 (5). P. 484–494.
21. HGNC. URL: <https://web.archive.org/web/20150912174016/> (дата звернення 18.04.2023)
22. Hütter Gero et al. CCR5 targeted cell therapy for HIV and prevention of viral escape. *Viruses*. 2015. № 7 (8). P. 4186–4203.
23. Jensen Björn-Erik Ole et al. In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nature Medicine*. 2023. № 29 (3). P. 583–587.
24. Felfly Hady, Haddad Gabriel G. Hematopoietic stem cells: potential new applications for translational medicine. *Journal of stem cells*. 2014. № 9 (3). P.163.
25. Kenyon Michelle, Babic Aleksandra. The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses: Under the Auspices of EBMT [Internet]. 2018.
26. Velasco-Velázquez Marco et al. CCR5 Antagonist Blocks Metastasis of Basal Breast Cancer Cells Antimetastatic Effect of CCR5 Antagonist. *Cancer research*. 2012. № 72 (15). P. 3839–3850.
27. Alkhatib Ghalib. The biology of CCR5 and CXCR4. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2009. № 4 (2). P. 96.
28. Benkirane Moncef et al. Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by ccr5Δ32. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. № 272 (49). P. 30603–30606.
29. Murphy Kenneth, Weaver Casey. Janeway's immunobiology. Garland science, 2016. 582 p.

**Information about the authors:**

**Yatskova Yelyzaveta Andriivna,**

<https://orcid.org/0009-0009-2808-9266>

Student at the Department of Technologies of Biologically Active  
Substances, Pharmacy and Biotechnologies  
Lviv Polytechnic National University  
12, Stepana Bandery str., Lviv, 79013, Ukraine

**Chervetsova Veronika Gennadiivna,**

<https://orcid.org/0000-0002-1757-3353>

Candidate of Biological Sciences,

Associate Professor at the Department of Technology of Biologically  
Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

Lviv Polytechnic National University

12, Stepana Bandery str., Lviv, 79013, Ukraine

**Konechna Roksolana Tarasivna,**

<https://orcid.org/0000-0001-6420-9063>

Candidate of Pharmaceutical Sciences,

Associate Professor at the Department of Technology of Biologically  
Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

Lviv Polytechnic National University

12, Stepana Bandery str., Lviv, 79013, Ukraine