

Буторов Е.В.

Влияние аминокислоты L-лизина на репликацию HIV-1 RNA in vitro

КУ ХМАО-Югры «Центр профилактики и борьбы со СПИД». Филиал в городе Сургуте

Butorov E. V.

Direct effect of the L-Lysine amino acid on the HIV-1 RNA replication in vitro

Резюме

Цель исследования - оценка влияния аминокислоты L-лизина на уровень репликации РНК ВИЧ-1 in vitro. Материалы и методы. Выполнены три серии экспериментов с использованием модели инкубации образцов плазмы in vitro и последующим определением уровня вирусной нагрузки в группах ВИЧ-инфицированных пациентов, не принимающих антиретровирусные препараты и на фоне терапии. В первой серии, плазма, обогащенная аутологичными мононуклеарными клетками периферической крови, инкубировалась в течение 24 часов при 25 °С. Во второй серии, в исследуемый образец добавляли 10,0 мг аминокислоты L-лизина с последующей аналогичной схемой инкубации. На третьем этапе эксперимента L-лизин был заменен на L-аргинин. Определение уровня РНК ВИЧ-1 выполнено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием коммерческого комплекта (АмплиСенс®, ВИЧ-монитор-FRT, Россия) с пределом чувствительности 500 копий РНК ВИЧ-1 в мл, на амплификаторе с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (Rotor-Gene Q, QIAGEN, Германия). Лабораторная методика оценки параметров клеточного иммунитета у ВИЧ-позитивных лиц проводилась на проточном цитометре (Coulter® Epics XL, Beckman Coulter, США) по стандартной методике, с определением уровня CD3, CD4, CD8 лимфоцитов в реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) с помощью моноклональных антител. Результаты. Установлено, что после суточной инкубации, вирусная нагрузка возрастает в 1,5 раза. При инокуляции аминокислоты L-лизина в образцы плазмы, количество копий РНК ВИЧ-1 достоверно увеличивается в 4,5 раза. При замене L-лизина на L-аргинин аналогичного изменения уровня вирусной нагрузки не зафиксировано. Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о наличии достоверного влияния L-лизина на динамику репликации ВИЧ-1. Результаты настоящего исследования предполагают, что избыток незаменимой аминокислоты увеличивает уровень вирусной нагрузки, патогенетически усугубляя иммуносупрессию и способствуя клиническому прогрессированию заболевания.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция; вирусная нагрузка; L-лизин; CD4 лимфоциты; L-аргинин

Summary

Objective: Our aim was to determine in this pilot study the direct effect of L-lysine amino acid on HIV-1 RNA replication in vitro. **Methods:** For evaluation of the effects of essential L-lysine amino acid on HIV-1 RNA replication level, we used a model of amino acid-excess system in vitro following incubation of plasma samples for 24 hours at 25°C. Quantitative HIV-1 RNA assay was performed using (RT-PCR) reverse-transcriptase polymerase chain reaction (Rotor-Gene Q, QIAGEN, Germany) with a sensitivity limit of 500 HIV-1 RNA copies/ml. A laboratory survey of immune function was conducted by use of a flow cytometer according to the method, defining CD3, CD4 and CD8 lymphocytes count (Coulter Epics XL, Beckman Coulter, USA). **Results:** We found that in plasma of the same HIV-infected patients after adding L-lysine and following incubation in vitro, viral load increased significantly in comparison with standard samples. **Conclusions:** There was evidence for an association between L-lysine supplementation and HIV-1 RNA replication. High intake of L-lysine amino acid may increase the risk of high viral load, subsequent acceleration of immunosuppression and HIV progression.

Keywords: HIV, L-lysine, viral load, L-arginine, CD4 lymphocytes

Введение

Эпидемия ВИЧ/СПИД продолжает оставаться одной из глобальных проблем здравоохранения. По данным UNAIDS, более 36,7 миллиона людей инфицированы ВИЧ в настоящее время. Несмотря на оптимистичные заявления о снижении новых случаев ВИЧ-инфекции за

последнее десятилетие, в 2015 году зафиксировано около 2,1 миллиона новых случаев инфицирования и более 1,1 миллиона человек умерли вследствие ВИЧ/СПИД [1].

Актуальность проблемы требует разработки эффективных вакцин и лекарств, поиска новых методов и подходов по контролю ВИЧ-инфекции. Решение этого

вопроса требует дальнейшего изучения биологии вируса, как с позиций его взаимодействия с клетками иммунной системы, так и патогенеза системных метаболических нарушений в инфицированном организме.

Общезвестно, что системный дисбаланс всех видов обмена вследствие инфекционного процесса ассоциирован с перераспределением пластических и энергетических ресурсов клетки-хозяина в пользу синтеза вирусных белков [2-18]. Вирусиндуцированные изменения белкового и липидного метаболизма, катаболические эффекты и развитие отрицательного азотистого баланса, в свою очередь, влекут существенное изменение интра- и экстрацеллюлярного спектра аминокислот [19-21].

В научной литературе представлены данные об увеличении темпов прогрессирования инфекционного процесса вследствие патогенетического влияния на динамику репликации ряда вирусов аминокислотного дисбаланса [22-27]. В то же время, имеющиеся сведения об изменении аминокислотного спектра при ВИЧ-инфекции противоречивы и отражены в единичных публикациях [28, 29].

Аминокислоты являются не только основой белкового синтеза вирусных частиц [30, 31], но и выступают в качестве регуляторов экспрессии генов через механизм аминокислотной регуляции факторов транскрипции [32-34]. Наличие или отсутствие достаточной концентрации ключевых аминокислот в интра- и экстрацеллюлярной среде, оказывает модулирующее влияние на факторы транскрипции [35-37].

Данный алгоритм является ключевым в патогенезе вируса иммунодефицита человека и подробно представлен в научных источниках. Модификация одноцепочечной геномной ВИЧ РНК в двухцепочечную ДНК посредством обратной транскриптазы является частью механизма репликации в жизненном цикле ретровируса [38-41]. В то же время, инициация обратной транскрипции возможна только при наличии в инфицированной клетке активированной лизиновой транспортной РНК (tRNA^{Lys}), являющейся праймером обратной транскриптазы ВИЧ [42-47]. Наличие достаточной концентрации эссенциальной аминокислоты L-лизина в инфицированных ВИЧ клетках позволяет активировать tRNA^{Lys} и иницировать репликацию вируса.

Предполагается, что L-лизин является ключевым элементом в жизненном цикле вируса иммунодефицита человека и недостаток или избыток данного эссенциального субстрата оказывает влияние на темпы прогрессирования заболевания, вызываемого ВИЧ.

Целью исследования является определение возможного патогенетического влияния аминокислоты L-лизина на уровень репликации РНК ВИЧ-1 in vitro.

Материалы и методы

Пациенты

Для исследования использованы образцы цельной крови 125 ВИЧ-инфицированных мужчин, наблюдаемых в Сургутском центре по профилактике ВИЧ/СПИД. Возрастной диапазон больных: от 23 до 38 лет, средний воз-

раст составил $32 \pm 4,2$ (среднее значение \pm стандартное отклонение). В группы сравнения ВИЧ-инфицированные пациенты отбирались с учетом возраста, стадии заболевания, вероятного периода инфицирования, наличия коинфекций, показателей иммунологических маркеров и периода выполнения исследования.

Образцы цельной крови отбирались в ходе рутинного периодического клинического мониторинга гематологических, иммунологических и вирусологических показателей при ВИЧ-инфекции. Средний уровень CD4 лимфоцитов в общей когорте составил $276,8 \pm 131,7$ клеток/мкл.

ВИЧ-инфицированные больные были распределены на 3 группы, согласно алгоритму исследования.

(Группа I, n=80): в трех образцах плазмы от каждого пациента, не получающего высокоактивную противоретровирусную терапию (ВААРТ) определялось количество РНК ВИЧ-1:

- в пробе №1, после инкубации в течение 24 часов при 25°C;
- в пробе №2, после инокуляции 10,0 мг аминокислоты L-лизина и последующей инкубации в течение 24 часов при 25°C;
- в контрольных образцах плазмы, исследованных по стандартной методике, без инкубирования.

(Группа II, n=30): исследовались три образца плазмы от каждого пациента, получающего ВААРТ:

- проба №1, инкубировалась в течение 24 часов при 25°C;
- проба №2, инкубировалась в течение 24 часов при 25°C после инокуляции 10,0 мг аминокислоты L-лизина;
- контрольные образцы плазмы, исследовались по стандартной методике, без инкубирования.

(Группа III, n=15): исследовались три образца плазмы от каждого пациента, не получающего высокоактивную противоретровирусную терапию (ВААРТ):

- проба №1, инкубировалась в течение 24 часов при 25°C;
- проба №2, инкубировалась в течение 24 часов при 25°C после замены L-лизина на L-аргинин (10,0 мг);
- контрольные образцы плазмы, исследовались по стандартной методике, без инкубирования.

ВИЧ-инфицированные больные из группы II, находившиеся на противоретровирусной терапии не менее 2 лет, из них 25% пациентов получали нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ) в сочетании с нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (ННИОТ), 5% только препараты группы НИОТ и 70% ВИЧ-инфицированных получали комбинацию препаратов группы ННИОТ и ингибиторы протеазы (ИП).

Образцы крови были получены после информированного согласия пациентов.

Лабораторные исследования

Образцы венозной крови для определения иммунологических показателей и вирусной нагрузки отбирались в пробирки, объемом 5 мл, содержащих 1,6 мг/мл K2 ЭДТА (BD Vacutainer®, США). Лабораторная мето-

дика оценки параметров клеточного иммунитета у ВИЧ-позитивных лиц проводилась на проточном цитометре (Coulter® Epics XL, Beckman Coulter, США) по стандартной методике, с определением уровня CD3, CD4, CD8 лимфоцитов в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) с помощью моноклональных антител.

Образцы цельной крови для определения уровня РНК ВИЧ-1 центрифугировались в течение 10 минут (3500 об/мин.), аликвоты плазмы в объеме 1,0 мл переносились в пробирки Эппендорф, обогащались аутологичными мононуклеарными клетками периферической крови и в течение 2 часов в лаборатории центра (контрольные образцы).

Пробы №1 исследовались после инкубирования в течение 24 часов при 25°C. Пробы №2 анализировались после инокуляции 10,0 мг аминокислоты L-лизина и последующей инкубации в течение 24 часов при 25°C.

Определение уровня РНК ВИЧ-1 выполнено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием коммерческого комплекта с пределом чувствительности 500 копий РНК ВИЧ-1 в мл (АмплиСенс®, ВИЧ-монитор-FRT, Россия), на амплификаторе с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (Rotor-Gene Q, QIAGEN, Германия).

Общая воспроизводимость результатов при повторных исследованиях образцов плазмы варьирует в допустимых пределах $\pm 7\%$.

Статистический анализ

Полученные данные обрабатывались общепринятыми методами статистической обработки цифрового материала, с определением средних арифметических значений (M), среднеквадратических отклонений (σ), стандартной ошибки средних величин (m).

Для сравнения уровня вирусной нагрузки в сравниваемых группах применен t-тест Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения \pm с.о. (стандартное отклонение), достоверными считали данные при уровне значимости не менее 95% ($p < 0,05$). Статистический анализ проводили с использованием статистического программного пакета Biostat®.

Результаты и обсуждение

Репликация РНК ВИЧ-1 *in vitro* в образцах плазмы ВИЧ-инфицированных больных (группы I, II, III)

В ходе исследования обнаружено, что вирусная нагрузка (копий/мл) в образцах плазмы ВИЧ-инфицированных лиц значительно увеличилась после добавления аминокислоты L-лизина *in vitro* и последующей инкубации в течение 24 часов при 25°C. Увеличение количества копий РНК ВИЧ-1 выявлено в 91% (80/73) образцов плазмы №1 от больных, не принимающих ВААРТ (группа I) и в 47% (30/14) проб №2 от пациентов, принимающих противоретровирусную терапию (группа II).

Показатели вирусной нагрузки не увеличились при замене L-лизина на L-аргинин в исследуемом материале, полученном от ВИЧ-инфицированных больных (группа III).

Также выявлено, что у пациентов, находящихся в одной клинической стадии скорость образования вирусных частиц имеет существенные отличия по результатам сравнения показателей вирусной нагрузки проб №1 после 24 часов инкубации при 25°C и стандартного образца (контроль). Данная методика позволяет оценить вирусную репликацию у ВИЧ-инфицированного больного в динамике.

Существенных изменений абсолютного показателей иммунологических маркеров (CD3, CD4, CD8 лимфоцитов) у пациентов сравниваемых групп, не выявлено.

Полученные данные о динамике репликации РНК ВИЧ-1 *in vitro* в образцах плазмы ВИЧ-инфицированных лиц (группы I, II, III) представлены в таблице 1, рисунок 1.

ВИЧ-инфицированные, не принимающие ВААРТ (группа I, $n=80$)

Выявлено, что количество копий РНК ВИЧ-1 в мл достоверно увеличилось в пробах №1 после 24 часов инкубации при 25°C, в сравнении с образцами плазмы тех же больных (контроль), исследованных по стандартной методике без инкубирования (92560 ± 12160 и 141500 ± 16850 , $p < 0,05$, t-тест Стьюдента). В среднем, количество вирусных частиц (копий/мл) возросло *in vitro* в 1,5 раза после 24 часов инкубации.

В ходе исследования обнаружено, что в пробах №2 уровень вирусной нагрузки значительно увеличился после добавления аминокислоты L-лизина с последующей инкубацией (367600 ± 43490), в сравнении с образцами плазмы №1 и контрольными пробами (141500 ± 16850 и 92560 ± 12160 , $p < 0,0001$ и $p < 0,0001$, соответственно; t-тест Стьюдента). Среднее количество копий РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы №2 увеличилось в 4,5 раза или с 68600 ± 9500 копий/мл до 311200 ± 32880 копий/мл ($p < 0,0001$) в общей когорте ВИЧ-инфицированных больных.

L-лизин добавлялся в образцы плазмы №2 в «оптимальном» для условий данного эксперимента количестве (10,0 мг). При снижении концентрации аминокислоты до 1,0 мг, также выявлено достоверное увеличение уровня вирусной нагрузки в сравнении с контролем (192000 ± 41230 , $p < 0,005$). Концентрации L-лизина выше 10,0 мг не вызывали существенного увеличения репликации вируса *in vitro*.

ВИЧ-инфицированные, принимающие ВААРТ (группа II, $n=30$)

В ходе исследования не выявлено достоверных различий показателей вирусной нагрузки (копий/мл) в образцах плазмы №1 и №2 и контрольными пробами (4911 ± 1432), в группе пациентов, принимающих высокоактивную противоретровирусную терапию (6733 ± 2081 и 10280 ± 3098 , $p < 0,47$ и $p < 0,12$, соответственно; t-тест Стьюдента).

Тем не менее, увеличение количества копий РНК ВИЧ-1 наблюдалось в каждом втором случае (47%) в группе пациентов на фоне ВААРТ. Вероятно, что использование тест-систем для полимеразной цепной реакции с более высоким порогом чувствительности, чем в настоящем исследовании (500 РНК ВИЧ-1 копий/мл), может

Таблица 1. Сравнение уровней РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы №1, №2 и контрольной пробы у ВИЧ-инфицированных больных (группа I, II, III)

	Контрольный образец плазмы	Образец плазмы №1	Образец плазмы №2
Группа I	n=80	n=80	n=80
РНК ВИЧ-1 (копий/мл)	92 560 ± 12 160**	141 500 ± 16 580 **	367 600 ± 43 490**
Инокуляция L-лизина (мг/мл)	-	-	10,0
Инкубация образцов плазмы	-	24 часа при 25°C	24 часа при 25°C
Группа II	n=30	n=30	n=30
РНК ВИЧ-1 (копий/мл)	4 911 ± 1 432	6 733 ± 2 081	10 280 ± 3 098
Инокуляция L-лизина (мг/мл)	-	-	10,0
Инкубация образцов плазмы	-	24 часа при 25°C	24 часа при 25°C
Группа III	n=15	n=15	n=15
РНК ВИЧ-1 (копий/мл)	89 960 ± 9 059 ^o	161 700 ± 14 430 ^{o#}	160 800 ± 13 750 [#]
Инокуляция L-аргинина (мг/мл)	-	10,0	-
Инкубация образцов плазмы	-	24 часа при 25°C	24 часа при 25°C

- Образец плазмы №1 относительно контроля, $p < 0,05$. * Образец плазмы №2 относительно контроля, $p < 0,0001$.
 - ♦ Образец плазмы №2 относительно пробы №1, $p < 0,0001$. ° Образец плазмы №1 относительно контроля, $p < 0,0001$.
 - ° Образец плазмы №2 относительно контроля, $p < 0,00001$. # Образец плазмы №2 относительно пробы №1, $p < 0,96$.
- Значения представлены как среднее ± стандартная ошибка

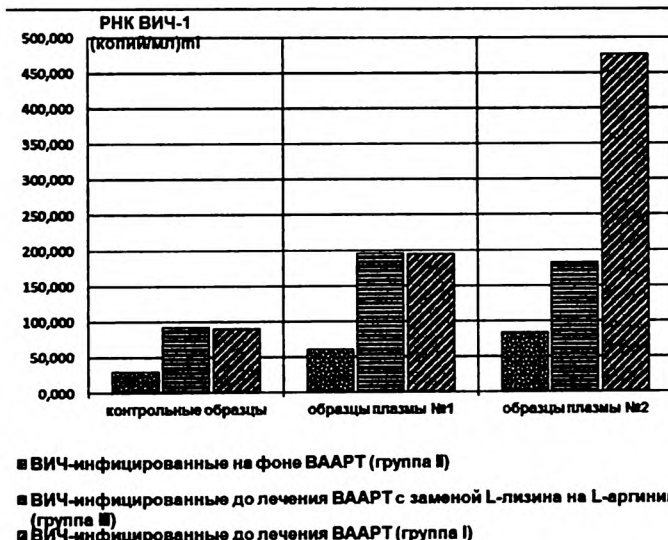


Рисунок 1. Сравнение уровней РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы №1, №2 и контрольной пробы у ВИЧ-инфицированных больных (группа I, II, III)

Средние значения количества копий РНК ВИЧ-1 в мл значительно выше в образцах №1 после 24 часов инкубации при 25 °С, в сравнении с контрольными пробами пациентов, не принимающих ВААРТ. Количество вирусных частиц (копий/мл) возросло *in vitro* в 1,5 раза после инкубирования. Уровень вирусной нагрузки достоверно увеличился в пробах №2 после добавления аминокислоты L-лизина с последующей инкубацией, в сравнении с образцами плазмы №1 и контрольными пробами. Среднее количество копий РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы №2 увеличилось в 4,5 раз в общей когорте ВИЧ-инфицированных больных.

При замене аминокислоты L-лизин на L-аргинин в образцах плазмы №2, показатели вирусной нагрузки соответствовали полученным значениям проб №1. Очевидно, что добавление L-аргинина в образцы плазмы не увеличивает репликацию вируса *in vitro* как в случае с применением аминокислоты L-лизин.

способствовать более высокой степени достоверности результатов.

Репликация РНК ВИЧ-1 *in vitro* в образцах плазмы при замене L-лизина на L-аргинин (группа III, $n=30$)

Результаты исследования свидетельствуют об аналогичном увеличении количества копий РНК ВИЧ-1 в мл в образцах плазмы №1 и №2 ВИЧ-инфицированных пациентов (161700 ± 14430 и 160800 ± 13750) в сравнении с контрольными пробами (89960 ± 9059 , $p < 0,0001$ и $p < 0,0001$, соответственно; *t*-тест Стьюдента).

При замене аминокислоты L-лизин на L-аргинин в образцах плазмы №2, показатели вирусной нагрузки соответствовали полученным значениям проб №1 (160800 ± 13750 и 161700 ± 14430 , $p < 0,96$). Очевидно, что добавление L-аргинина в образцы плазмы не увеличивает репликацию вируса *in vitro* как в случае с использованием аминокислоты L-лизин.

Данное исследование выполнено с целью подтверждения гипотезы о наличии взаимосвязи между уровнем несинтезируемой в организме человека аминокислоты L-лизина и количеством копий РНК ВИЧ-1.

Постоянный синтез вирусных белков требует огромного расхода аминокислотного фонда, что в конечном итоге приводит к вирусиндуцированному метаболическому дисбалансу и дестабилизации гомеостаза инфицированного организма. Предполагается, что недостаток или избыток данного незаменимого субстрата белкового обмена может оказывать определенное участие в регулировании процесса репликации ВИЧ и тем самым способствовать прогрессированию заболевания.

Согласно выдвинутой гипотезе, L-лизин, является ключевым элементом в жизненном цикле вируса иммунодефицита человека и затрагивает уязвимый в механизме репликации ВИЧ этап, связанный с инициацией транскрипции РНК вируса через активацию праймера обратной транскриптазы (tRNALys). В то же время, имеются данные, что активность tRNALys зависит, в том числе, от присутствия в интрацеллюлярной среде достаточного количества ковалентной аминокислоты [48-65].

В научных источниках встречаются данные об изменении аминокислотного профиля при различных патологических состояниях, в том числе, при ряде инфекционных заболеваний [66-77]. Дисбаланс аминокислот в связи с ВИЧ-инфекцией малоизучен и представлен единичными и противоречивыми сведениями, в то же время, значимость мониторинга аминокислотного спектра, в патогенетическом аспекте заболевания, не вызывает сомнений.

Для реализации цели исследования, с помощью технически приемлемой для условий лаборатории простой модели эксперимента *in vitro*, изучен эффект присутствия избыточной концентрации аминокислоты L-лизина на динамику репликации РНК ВИЧ-1.

Предполагалось, что стимуляция воспроизводства вирусных частиц в образцах крови при наличии приемлемых условий будет продолжаться в течение определенного времени до момента массового цитолиза.

В связи с чем, определены «стандартные» условия эксперимента для репликации ВИЧ *in vitro*: время инку-

бации 24 часа при 25°C, с последующим замораживанием образцов плазмы до -40 °C.

Сравнение проб, взятых от одного пациента, позволило выявить ряд изменений динамики вирусной нагрузки *in vitro*, как при суточном инкубировании, так и в связи с добавлением избыточной концентрации аминокислоты L-лизина.

Достоверное увеличение количества копий РНК ВИЧ-1 в образцах плазмы в ходе исследования, свидетельствует о наличии, до определенного момента, условий для продолжения репликации вируса вне инфицированного организма.

В настоящее время, определение уровня вирусной нагрузки является общепризнанным маркером клинического мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и эффективности противовирусного лечения. Статическое определение количества копий РНК ВИЧ-1 в определенных интервалах наблюдения за пациентом не могут отразить реальную скорость воспроизведения вирусных частиц.

В ходе исследования наблюдались существенные динамические колебания показателей вирусной нагрузки у ВИЧ-инфицированных пациентов, находящихся в одной стадии заболевания. В связи с чем, применение простого метода сравнения парных проб плазмы от ВИЧ-инфицированного пациента может представлять практический интерес с позиций эффективной оценки динамики вирусной репликации при инфекционном процессе.

Результаты следующего этапа эксперимента подтверждают предположение о наличии возможного влияния несинтезируемой в организме человека аминокислоты L-лизина на показатели вирусной нагрузки. Избыточная концентрация L-лизина *in vitro* сопровождается достоверным увеличением количества копий РНК ВИЧ-1.

Теоретически, поступление в организм ВИЧ-инфицированных больных физиологически адекватного или избыточного уровня L-лизина создает необходимый резерв для стабильного увеличения репродукции вирусных частиц на фоне снижения уровня аминокислоты в плазме. На фоне колоссальных объемов синтеза вирусных протеинов происходит хроническое компенсаторное пополнение фонда несинтезируемых аминокислот из внутренних резервов организма, что с течением времени приводит к существенному изменению аминокислотного профиля и дестабилизации гомеостаза на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Следующий этап эксперимента также свидетельствует в пользу данного утверждения: не обнаружено значимой разницы в уровне вирусной нагрузки *in vitro* при инокуляции в исследуемые образцы плазмы вместо L-лизина другой аминокислоты (L-аргинин). Очевидно, что добавление L-аргинина не увеличивает репликацию вируса, что подтверждает патогенетическую роль L-лизина в динамике репродукции вируса иммунодефицита человека.

Основываясь на результатах исследования можно постулировать, что избыток или недостаток concentra-

ции незаменимого для организма человека L-лизина, воздействует на интенсивность синтеза вирусных белков и показатели вирусной нагрузки у ВИЧ-инфицированных больных.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о наличии достоверного влияния эссенциальной аминокислоты L-лизина на динамику репликации ВИЧ-1 *in vitro*. Возможно, избыточная концентрация аминокислоты сопровождается увеличением количества копий РНК ВИЧ-1, что патогенетически усиливает вероятность развития иммуносупрессии и клинического прогрессирования заболевания *in vivo*.

Предположение о лимитирующем влиянии L-лизина на интенсивность синтеза вирусных белков и репликации ВИЧ, посредством изменения активности tRNALys требует дальнейшего изучения и представляется перспек-

тивным вектором в создании эффективных методов контроля ВИЧ-инфекции. ■

Конфликт интересов и источники финансирования. Автор не имеет конфликтов интересов и сторонних источников финансирования.

Благодарности. Автор благодарит сотрудников лаборатории Центра по профилактике ВИЧ/СПИД (Сургут, Российская Федерация) за техническую поддержку.

Буторов Е.В., к.м.н., врач-эпидемиолог, врач клинической лабораторной диагностики КУ ХМАО-Югры «Центр профилактики и борьбы со СПИД». Филиал в городе Сургуте. Адрес для переписки: а/я 500, 628412, г.Сургут, Тюменская область, E-mail: butorov888@gmail.com

Литература:

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) (2016). *AIDS by the numbers*.
2. Sellmeyer D.E., Grunfeld C. *Endocrine and metabolic disturbances in human immunodeficiency virus infection and the acquired immune deficiency syndrome*. *Endocr Rev*. 1996; 17(5): 518-32.
3. Nunez M. *Hepatitis C virus and metabolic disturbances*. *IAPAC 2005*; 11(7): 216-7.
4. Macallan D.C. *Metabolic syndromes in human immunodeficiency virus infection*. *Review*. *Horm Res*. 2001; 55 Suppl 1: 36-41.
5. Maloberti A., et al. *Metabolic syndrome in human immunodeficiency virus-positive subjects, prevalence, phenotype, and related alterations in arterial structure and function*. *Metab Syndr Relat Disord*. 2013; 11: 403-11.
6. Kotler D.P. *Human immunodeficiency virus-related wasting, malabsorption syndromes*. *Semin. Oncol*. 1998; 25: 70-75.
7. Hsu C.S., et al. *Impact of hepatitis B virus infection on metabolic profiles and modifying factors*. *J Viral Hepat*. 2012; 19: 48-57.
8. Ritter J.B., Wahl A.S., Freund S., Genzel Y., Reichl U. *Metabolic effects of influenza virus infection in cultured animal cells. Intra- and extracellular metabolite profiling*. *BMC Syst Biol*. 2010; 4: 61.
9. Singhvi R., Markusen J.F., Ky B., Horvath B.J., Aunins J. G. *Assessment of virus infection in cultured cells using metabolic monitoring*. *Cytotechnology*. 1996; 22(1-3): 79-85.
10. Lake J.E., Currier J.S. *Metabolic disease in HIV infection*. *Lancet Infect Dis*. 2013 Nov; 13(11): 964-75.
11. Samaras K., Wand H., Law M., Emery S., Cooper D., Carr A. *Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy*. *Diabetes Care*. 2007 Jan; 30(1): 113-9.
12. Malinowski F.C. *The significance of metabolic competitors in the treatment of virus diseases*. *Can J Med Technol*. 1962; 24: 147-52.
13. Tamn I. *Metabolic antagonists and selective virus inhibition*. *Clin Pharmacol Ther*. 1960; 1: 777-96.
14. Grunfeld C., Feingold K. *Metabolic disturbances and wasting in the acquired immunodeficiency syndrome*. *Engl J. Med*. 1992; 327: 329-37.
15. Kotler D.P., et al. *Preservation of short-term energy balance in clinically stable patients with AIDS*. *J. Clin Nutr*. 1990; 51: 7-13.
16. Macallan D.C. *Wasting in HIV infection and AIDS*. *J. Nutr*. 1999; 129(1S Suppl): 238-242.
17. Beisel W.R., Sawyer W.D., Ryll E.D., Crozier D. *Metabolic effects of intracellular infections in man*. *Ann. Internal Med*. 1967; 67: 744-779.
18. Wannemacher R.W., Pekarek J.R., Bartelloni P.J., Vollmer R.T., Beisel W.R. *Changes in individual plasma amino acids following experimentally induced sand fly fever virus infection*. *Metabolism*. 1972; 21: 67.
19. Wigand R., Kümél G. *Amino acid requirement of adenovirus multiplication*. *J. gen. Virol*. 1978; 39: 281-292.
20. Tankersley R.W. *Amino acid requirements of herpes simplex virus in human cells*. *J. of Bacteriology*. 1964; 87: 609-613.
21. Goldblum N., Ravid Z., Becker Y. *Effect of withdrawal of arginine and other amino acids on the synthesis of tumor and viral antigens of SV40 virus*. *J. of General Virology*. 1968; 3: 143-146.
22. Everitt E., Sundquist B., Philipson L. *Mechanism of the arginine requirement for adenovirus synthesis. I. Synthesis of structural protein*. *J. of Virology*. 1971; 8: 742-753.
23. Inglis V.B.M. *Requirement of Arginine for the Replication of Herpes Virus*. *J. gen. Virol*. 1968; 3:

- 9-17.
24. Loh P.C., Oie H.K. Role of lysine in the replication of reovirus. I. Synthesis of complete and empty virions. *J. Virol.* 1969; 4: 890-5.
 25. Naito T., et al. Antiviral effect of arginine against herpes simplex virus type 1. *Int J. Mol Med.* 2009; 23(4): 495-9.
 26. Yamasaki H., Tsujimoto K., Koyama A.H., Ejima D., Arakawa T. Arginine facilitates inactivation of enveloped viruses. *J. Pharm Sci.* 2008; 97: 3067-73.
 27. Ikeda K., Yamasaki H., Suzuki Y., Hajime K.A., Arakawa T. Novel strategy with acidic arginine solution for the treatment of influenza a virus infection (Review) *Exp and Ther Medicine.* 2010; 1: 251-256.
 28. Laurichesse H., et al. Threonine and methionine are limiting amino acids for protein synthesis in patients with AIDS. *J. Nutr.* 1998; 128: 1342-8.
 29. Hortin G.L., Landt M., Powderly W.G. Changes in plasma amino acid concentrations in response to HIV-1 infection. *Clin Chem.* 1994; 40: 785-789.
 30. Schneider R.J., Shenk T. Impact of virus infection on host cell protein synthesis. *Annu Rev Biochem.* 1987; 56: 317-32.
 31. Willems M., Penman S. The mechanism of host cell protein synthesis inhibition by poliovirus. *Virology.* 1966; 30: 355-367.
 32. Avin-Wittenberg T., Galili G. Metabolism, Amino acid regulatory wisdom. *Nature Chemical Biology.* 2012; 8: 23-24.
 33. Fafournoux P., Bruhat A., Jousse C. Amino acid regulation of gene expression. *Biochem J.* 2000; 351: 1-12.
 34. Kilberg M.S., Hutson R.G., Laine R.O. Amino acid-regulated gene expression in eukaryotic cells. *FASEB J.* 1994; 8: 13-19.
 35. Caldara M., Minh P.N., Bostoen S., Massant J., Charlier D. ArgR-dependent repression of arginine and histidine transport genes in *Escherichia coli* K-12. *J. Mol Biol.* 2007; 373: 251-67.
 36. Calvo J.M., Matthews R.G. The leucine-responsive regulatory protein, a global regulator of metabolism in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev.* 1994; 58: 466-90.
 37. Cho B.K., Federowicz S., Park Y.S., Zengler K., Palsson B.Ø. Deciphering the transcriptional regulatory logic of amino acid metabolism. *Nat Chem Biol.* 2011; 8: 65-71.
 38. Tisné C., Roques B.P., Dardel F. The annealing mechanism of HIV-1 reverse transcription primer onto the viral genome. *J. Biol Chem.* 2004; 279: 3588-95.
 39. Qin Y., Morrow C.D. Essential regions of the tRNA primer required for HIV-1 infectivity. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28: 4783-4789.
 40. Guo F., Cen S., Niu M., Javanbakht H., Kleiman L. Specific inhibition of the synthesis of human Lysyl-tRNA synthetase results in decreases in tRNALys incorporation, tRNALys annealing to viral RNA, and viral infectivity in human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 2003; 77: 9817-9822.
 41. Marquet R., Isel C., Ehresmann C., Ehresmann B. tRNAs as primer of reverse transcriptases. *Biochimie.* 1995; 77: 113-124.
 42. Allen R.A., Raines P.L., Regen D.M. Regulatory significance of transfer RNA charging levels. *Ibid.* 1969; 190: 323-336.
 43. Arnstein H.R.V., Barwick C.W., Lange J. D., Thomas H.D.I. Control of protein synthesis by amino acid supply. *FEBS Lett.* 1986; 194: 146-150.
 44. Vaughan M.H., Hansen B.S. Control of initiation of protein synthesis. *Ibid.* 1973; 248: 7078-7096.
 45. Mayer C., Stortchevoi A., Köhrer C., Varshney U., RajBhandary U.L. Initiator tRNA and its role in initiation of protein synthesis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2001; 66: 195-206.
 46. Hershko A.A., Ciechaitover A. Mechanisms of intracellular protein breakdown. *Ann. Rev. Biochem.* 1982; 51: 335-364.
 47. Sleiman D., Goldschmidt V., Barraud P., Marquet R., Paillart J.C., Tisné C. Initiation of HIV-1 reverse transcription and functional role of nucleocapsid-mediated tRNA/viral genome interactions. *Virus Res.* 2012 Nov; 169(2): 324-339.
 48. Негруцкий Б.С. Транспортная РНК как фактор регуляции белкового гомеостаза. *Biopolym. Cell.* 1989; 5(5): 5-18.
 49. Austin S.A., Pain V.M., Lewis J.A., Clemens M.J. Investigation of the role of uncharged tRNA in the regulation of polypeptide chain initiation by amino acid starvation in cultured mammalian cells; a reappraisal. *Eur J Biochem.* 1982; 122(3): 519-526.
 50. Proud C.G. *Eur J Biochem.* Regulation of mammalian translation factors by nutrients. 2002; 269(22): 5338-5349.
 51. Beugnet A., Tee A.R., Taylor P.M., Proud C.G. Regulation of targets of mTOR (mammalian target of rapamycin) signalling by intracellular amino acid availability. *Biochem J.* 2003; 372(Pt 2): 555-566.
 52. Kimball S.R. Regulation of global and specific mRNA translation by amino acids. *J Nutr.* 2002; 132(5): 883-886.
 53. Austin S.A., Clemens M.J. The regulation of protein synthesis in mammalian cells by amino acid supply. *Biosci Rep.* 1981; 1(1): 35-44.
 54. Lishnevskaja E.B., Gorozhankina I.S., Kotsegub V.V. Heterogeneity of the amino acid pool for protein synthesis in Ehrlich ascites carcinoma cells. *Biokhimiia.* 1984; 49(7): 1073-1079.
 55. Pain V.M., Lewis J.A., Huvois P., Henshaw E.C., Clemens M.J. The effects of amino acid starvation on regulation of polypeptide chain initiation in Ehrlich ascites tumor cells. *J Biol Chem.* 1980; 255(4): 1486-1491.
 56. Kimberly A.D., Michael A.S., Johan E., Måns E., Tao P. Selective charging of tRNA isoacceptors induced by amino-acid starvation. *EMBO Rep.* 2005; 6(2): 151-157.
 57. Davis T.A., Fiorotto M.L., Nguyen H.V., Burrin D.G. Aminoacyl-tRNA and tissue free amino acid pools are

- equilibrated after a flooding dose of phenylalanine. *Am J Physiol.* 1999; 277: 103-109.
58. Quay S.C., Kline E.L., Oxender D.L. Role of leucyl-tRNA synthetase in regulation of branched-chain amino-acid transport. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975; 72(10): 3921-3924.
59. Barnes D.M., Calvert C.C., Klasing K.C. Source of amino acids for tRNA acylation in growing chicks. *Amino Acids.* 1994; 7(3): 267-278.
60. Guliy M.F. Regulatory role of amino acids in protein biosynthesis; effect of various factors. *Ukr Biokhim Zh.* 1978; 57(5): 6-22.
61. Gietzen D.W., Hao S., Anthony T.G. Mechanisms of food intake repression in indispensable amino acid deficiency. *Annu Rev Nutr.* 2007; 27: 63-78.
62. Wang X., Campbell L.E., Miller C.M., Proud C.G. Amino acid availability regulates p70, S6 kinase and multiple translation factors. *Biochem. J.* 1998; 334: 261-267.
63. Patel J., Wang X., Proud C.G. Glucose exerts a permissive effect on the regulation of the initiation factor. 4E binding protein 4E-BP1. *Biochem. J.* 2001; 358: 497-503.
64. Hara K., Yonezawa K., Weng Q.P., Kozlowski M.T., Belham C., Avruch J. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70, S6 kinase and eIF4E BP1 through a common effector mechanism. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 14484-14494.
65. Орловская Н.Н., Веселовская Л.Д., Гулий М.Ф. Характеристика аминоксил-тРНК-синтетазной активности мышц кроликов при голодании и старении организма. *Украинский биохимический журнал.* 1980; 52(3): 325.
66. Sherman I.W. Amino acid metabolism and protein synthesis in malarial parasites. *Bull. World Health Organ.* 1977; 55(2-3): 265-276.
67. Pisters P.W., Brennan M.F. Amino acid metabolism in human cancer cachexia. Review. *Annu. Rev. Nutr.* 1990; 10: 107-132.
68. Truswell A.S., Hansen J.D., Wannenburg P. Plasma tryptophan and other amino acids in pellagra. *Am J. Clin Nutr.* 1968; 21(11): 1314-1320.
69. Hofford J.M., et al. The nutritional status in advanced emphysema associated with chronic bronchitis. A study of amino acid and catecholamine levels. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 141: 902-908.
70. Jeevanandam M., Young D.H., Ramias L., Schiller W.R. Effect of major trauma on plasma free amino acid concentrations in geriatric patients. *Am J. Clin Nutr.* 1990; 51(6): 1040-1045.
71. Shiota T., et al. Plasma amino acid imbalance in alcoholic liver cirrhosis. *Biochem Med.* 1984; 32: 181-188.
72. Steigmann F., Szanto P.B., Poulos A., Lim P.E., Dubin A. Significance of serum aminograms in diagnosis and prognosis of liver diseases. *J. Clin Gastroenterol.* 1984; 6(5): 453-460.
73. Naoyuki O., et al. Diagnostic modeling with differences in plasma amino acid profiles between non-cachectic colorectal/breast cancer patients and healthy individuals. *Int J. of Medicine and Medical Sciences.* 2009; 1(1): 001-008.
74. Holm E., Sedlaczek O., Grips E. Amino acid metabolism in liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1999; 2: 47-53.
75. Maeda J., et al. Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for non-small cell lung cancer: a case control study. *BMC Cancer.* 2010; 10: 690.
76. Zhang P.C., Pang C.P. Plasma amino acid patterns in cancer. *Clin Chem.* 1992; 38(6): 1198-1199.
77. Wannemacher R.W.Jr. Key role of various individual amino acids in host response to infection. *Am J. Clin Nutr.* 1977 30(8): 1269-1280.