



ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG HIV/AIDS

Chuẩn đầu ra

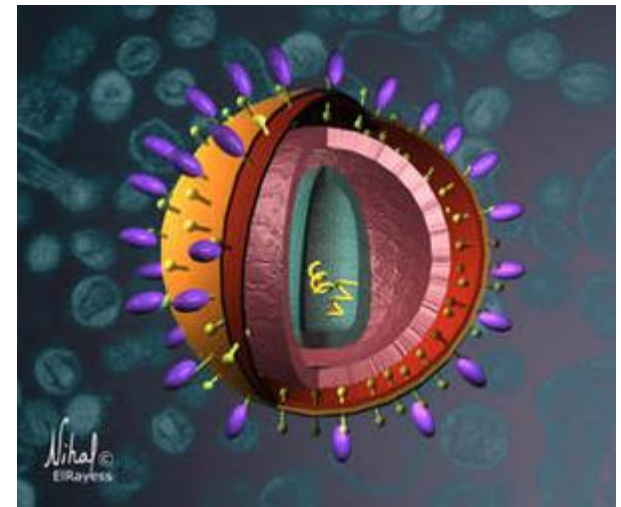
1. Nêu đại cương về đáp ứng miễn dịch với HIV/AIDS
2. Giải thích những rối loạn đáp ứng miễn dịch khi nhiễm HIV/AIDS
3. Kể tên một số kỹ thuật phát hiện HIV

Nội dung

- Cấu trúc của virus HIV
- Vòng đời của virus HIV
- Đáp ứng miễn dịch chống virus HIV
- Quá trình phản ứng của hệ miễn dịch
- Hậu quả của rối loạn miễn dịch khi nhiễm HIV
- Một số kỹ thuật phát hiện HIV

Virus HIV

Nhiễm HIV (VR gây suy giảm MD ở người) và AIDS (Hội chứng suy giảm MD mắc phải) là một quá trình bệnh lý do một loại vi rút thuộc họ Retroviridae gây ra. HIV làm suy giảm nặng tế bào TCD4, từ đó gây ra suy giảm nghiêm trọng tình trạng miễn dịch dẫn đến bệnh nhân mắc các nhiễm trùng cơ hội và ung thư.

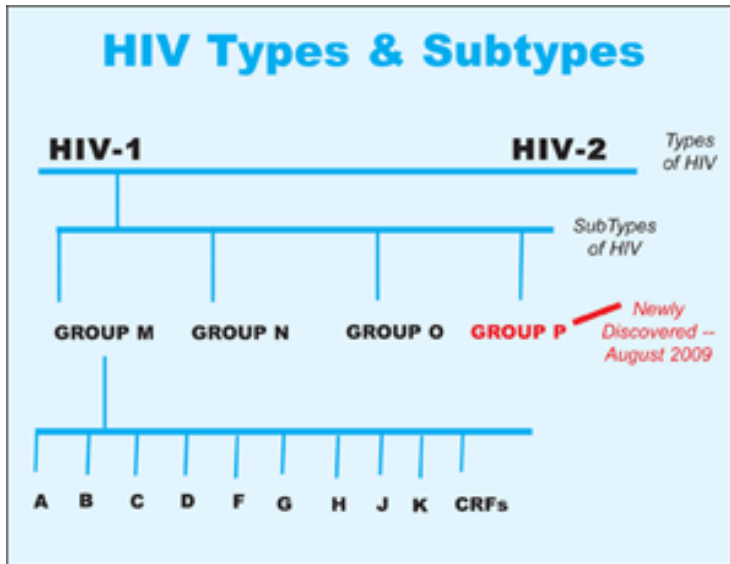


Cấu trúc HIV

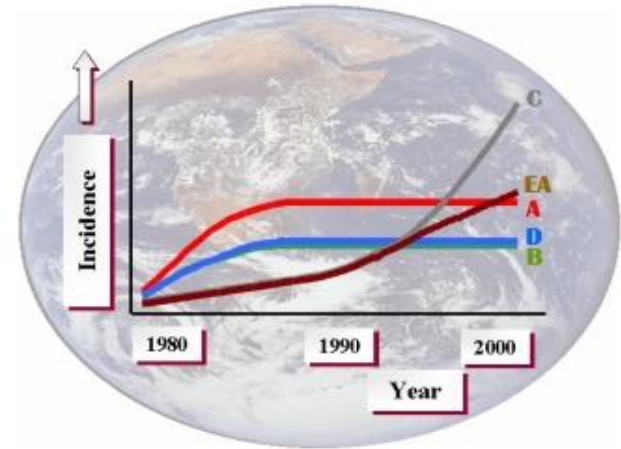
- Thuộc họ Retroviridae, hình cầu,
- Gồm HIV-1 và HIV-2, đường lây giống nhau

Khác nhau:

- kháng nguyên
- thời gian mang bệnh
- tỷ lệ lây nhiễm
- tiến triển của bệnh

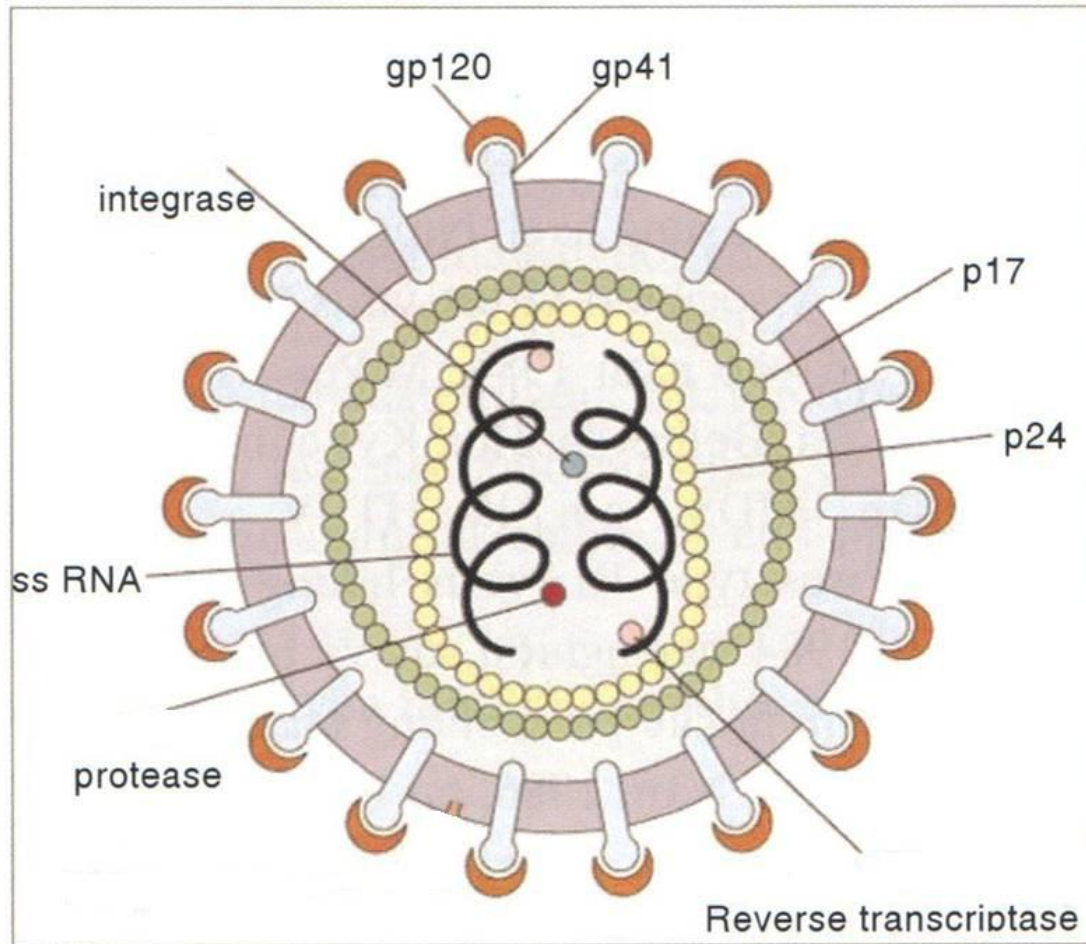


Incidence of HIV-1 subtypes



- Nhóm O và nhóm N: Phương Tây – trung Phi
- Nhóm M, có ít nhất 9 phó type (**subtypes** or clades) gene di truyền khác biệt nhau của HIV-1. Các phó type này là A, B, C, D, F, G, H, J và K
 - Phó type A và CRF A/G: phương Tây và Trung Phi
 - Phó type B: châu Âu, châu Mỹ, Nhật Bản và Australia
 - Phó type C: Nam và Đông Phi, Ấn Độ và Nepal
 - Phó type D: Đông và Trung Phi
 - **CRF A/E: phổ biến ở Đông Nam Á, nhưng có nguồn gốc từ Trung Phi**
 - Phó type F đã được tìm thấy ở Trung Phi, Nam Mỹ và Đông Âu
 - Phó type G và CRF A/G đã được quan sát ở Tây và Đông châu Phi và Trung Âu.
 - Phó type H chỉ được tìm thấy ở Trung Phi
 - Phó type J chỉ có ở Trung Mỹ và K chỉ có tại Cộng hòa Dân chủ Congo và Cameroon.

Virus HIV



Lớp vỏ bên ngoài

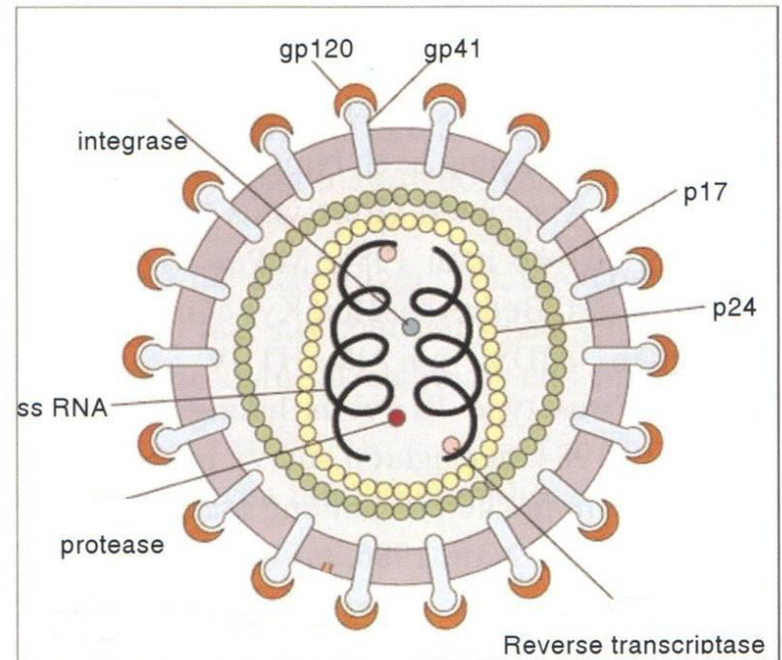
Lớp vỏ bên trong

Lớp lõi trong
cùng

Cấu trúc của virus HIV

1. Lớp vỏ bên ngoài

- Màng lipid kép, có 72 cấu trúc lồi trên bề mặt: glycoprotein (gp) trọng lượng phân tử 120 và 41 Kilo Dalton (gp120 và gp41).



Cấu trúc của virus HIV

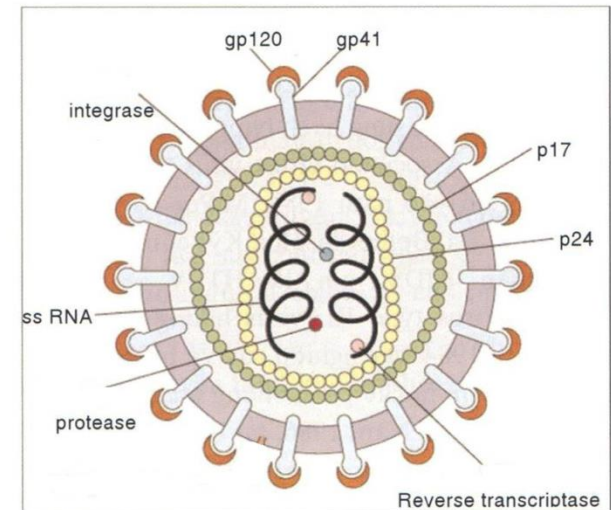
2. Lớp vỏ bên trong

Gồm 2 lớp protein:

+ Lớp ngoài hình cầu: protein có trọng lượng phân tử 18 kilodalton (p18).

+ Lớp trong hình trụ: trọng lượng phân tử là 24 kilodalton (p24)

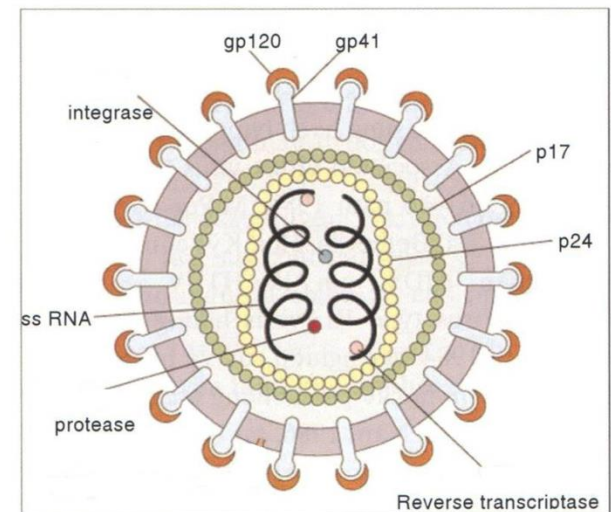
Đây là KN rất quan trọng để chẩn đoán nhiễm HIV/AIDS.



Cấu trúc của virus HIV

3. Lớp lõi trong cùng

- Genom của HIV: hai phân tử ARN đơn
 - gồm rất nhiều các gen để tham gia vào quá trình sao chép nhân lên của HIV
 - + các gen cấu trúc (gag, pol, env)
 - + các gen điều hòa chính (tat, rev) và các gen điều hoà phụ (nef, vif, vpr, vpu)
- Men RT: là men sao chép ngược giúp HIV sao chép thành DNA từ RNA.

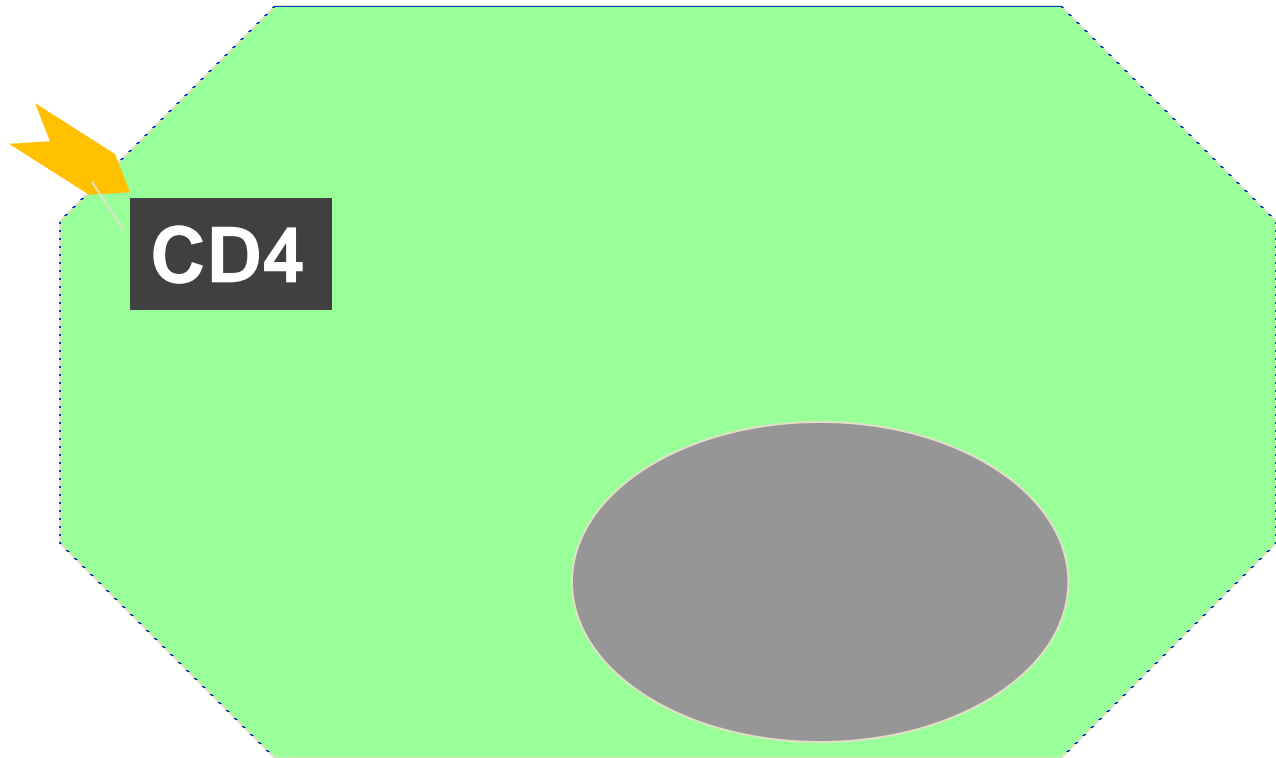
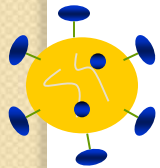


Vòng đời của HIV

- Sau nhiễm vi rút 3 - 5 ngày, những TB nhiễm HIV từ vị trí xâm nhập di chuyển đến cơ quan Lympho ngoại vi
- HIV nhân lên trong những tế bào CD4
- **Quá trình nhân lên của HIV trải qua 5 giai đoạn**
 - Giai đoạn gắn kết
 - Sao chép ngược
 - Quá trình nhân lên
 - Giai đoạn nảy chồi
 - Giai đoạn trưởng thành

Vòng đời của virus HIV

1. Giai đoạn gắn kết



Vòng đời của virus HIV

1. Giai đoạn gắn kết

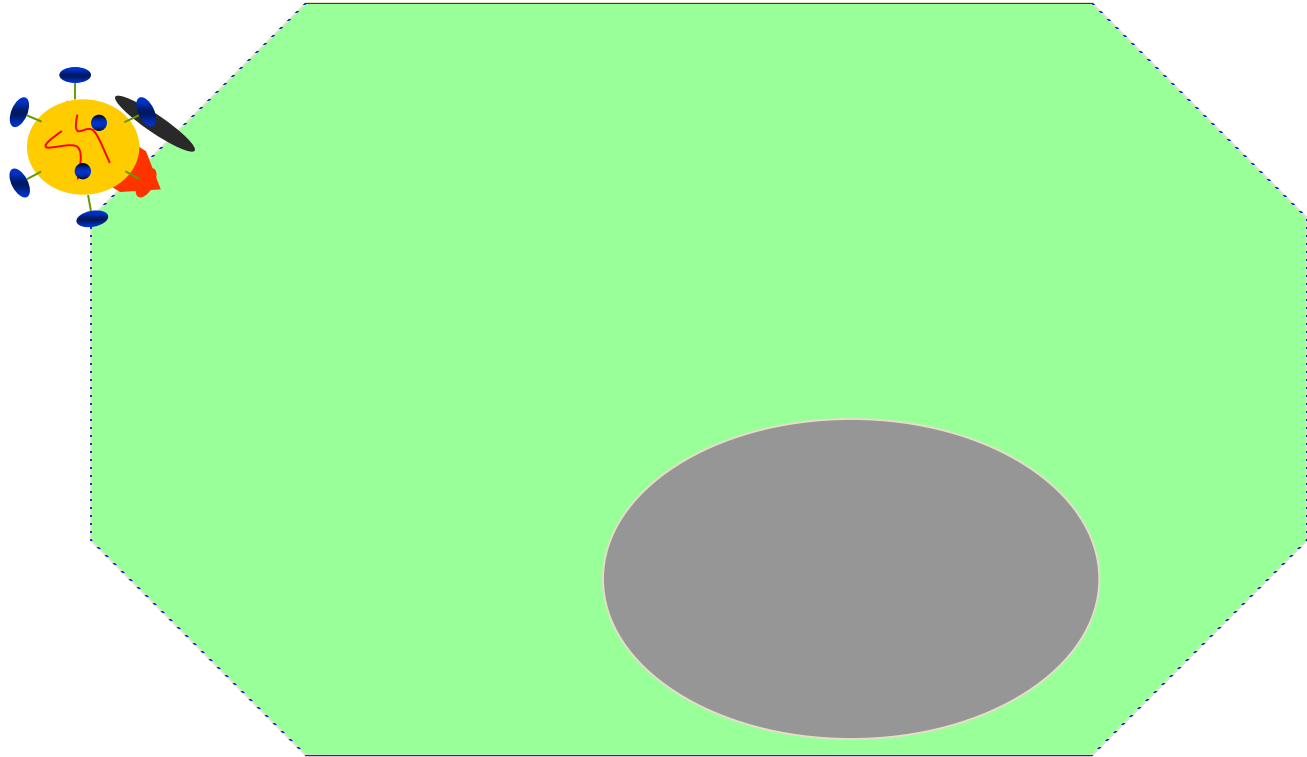
Gắn vào tế bào CD4



Vòng đời của virus HIV

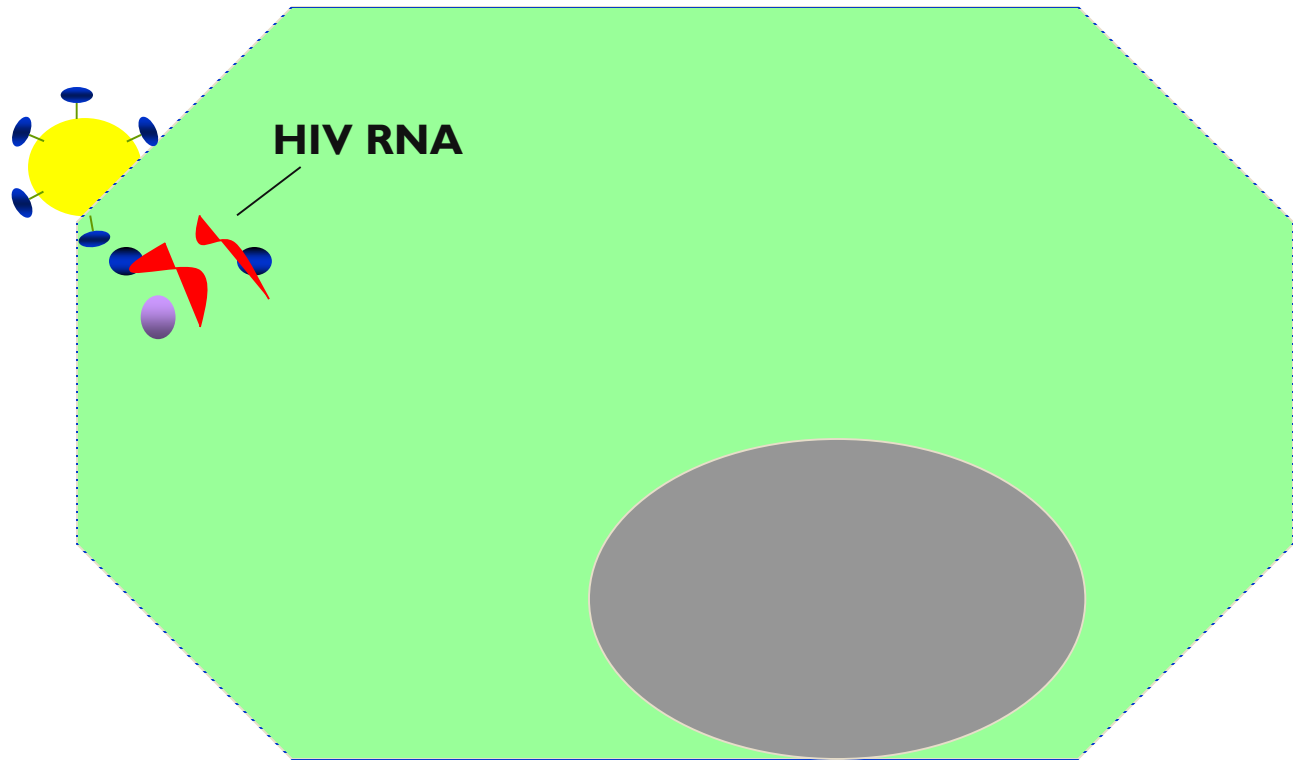
1. Giai đoạn gắn kết

Hòa màng



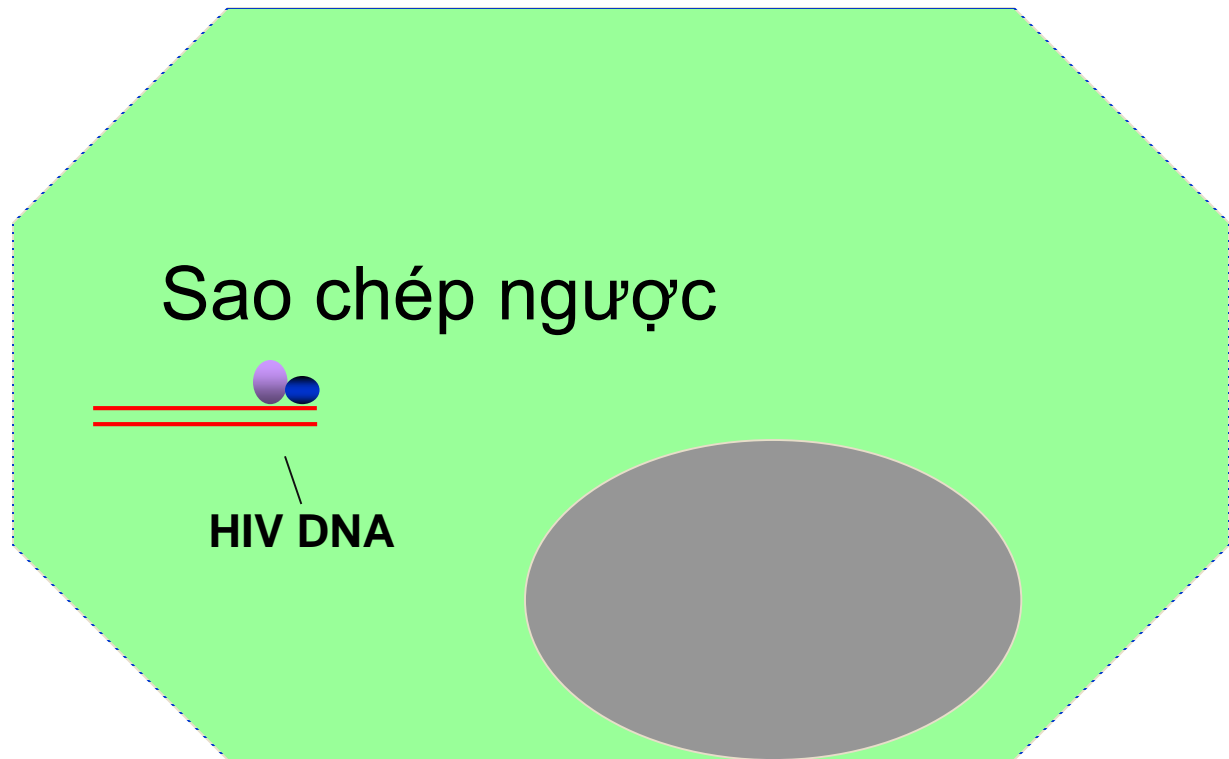
Vòng đời của virus HIV

2. Giai đoạn sao chép ngược



Vòng đời của virus HIV

2. Sao chép ngược



Vòng đời của virus HIV

2. Sao chép ngược



Vòng đời của virus HIV

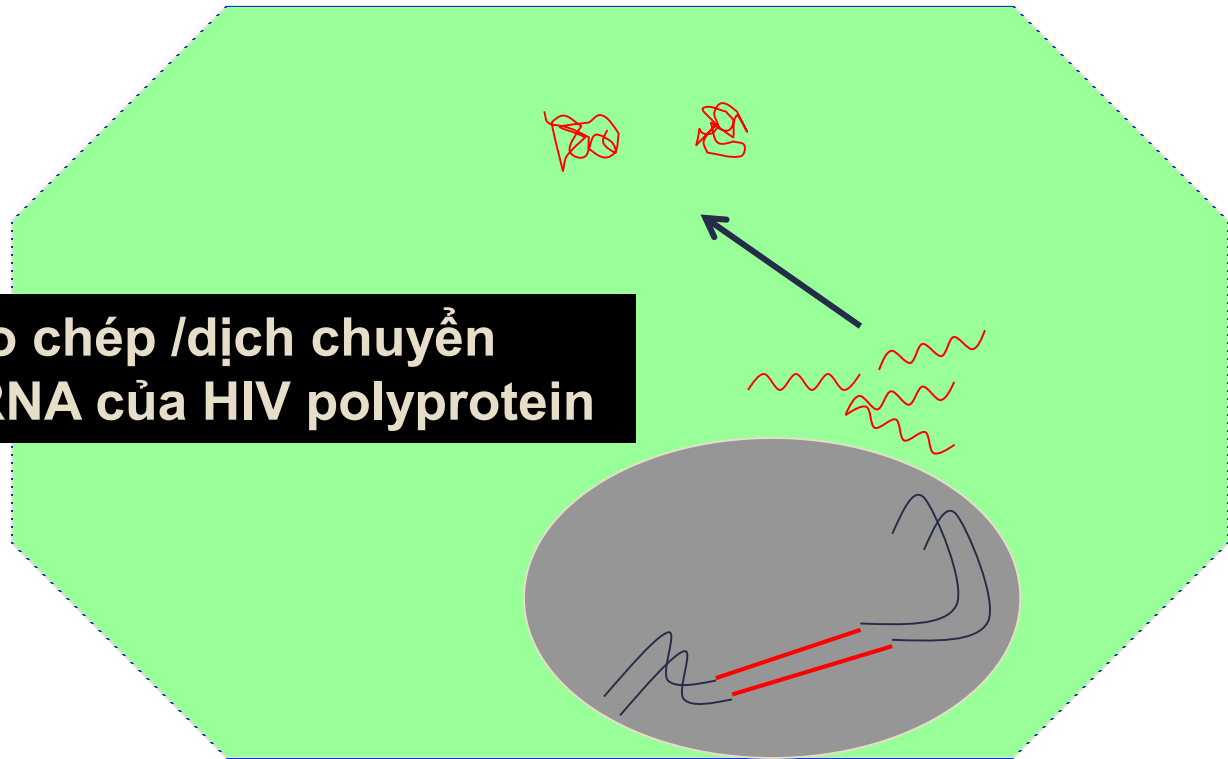
3. Giai đoạn nhân lên



Vòng đời của virus HIV

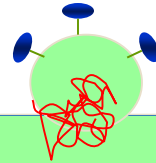
3. Giai đoạn nhân lên

Sao chép /dịch chuyển mRNA của HIV polyprotein

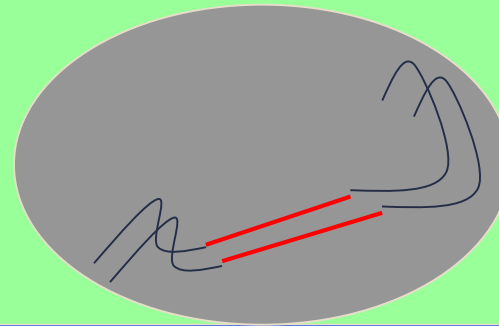


Vòng đời của virus HIV

4. Nảy chồi



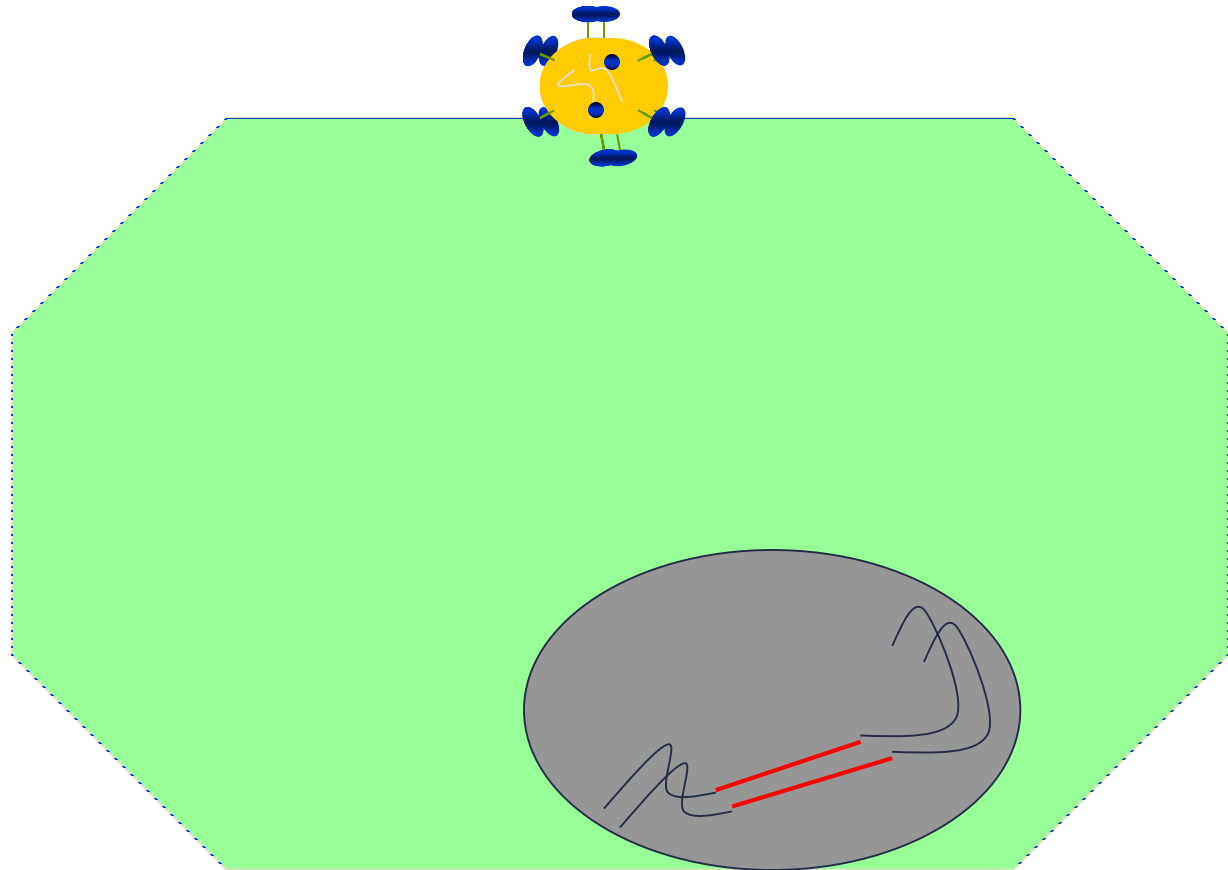
**Quá trình proteaza
và hợp thành virus**



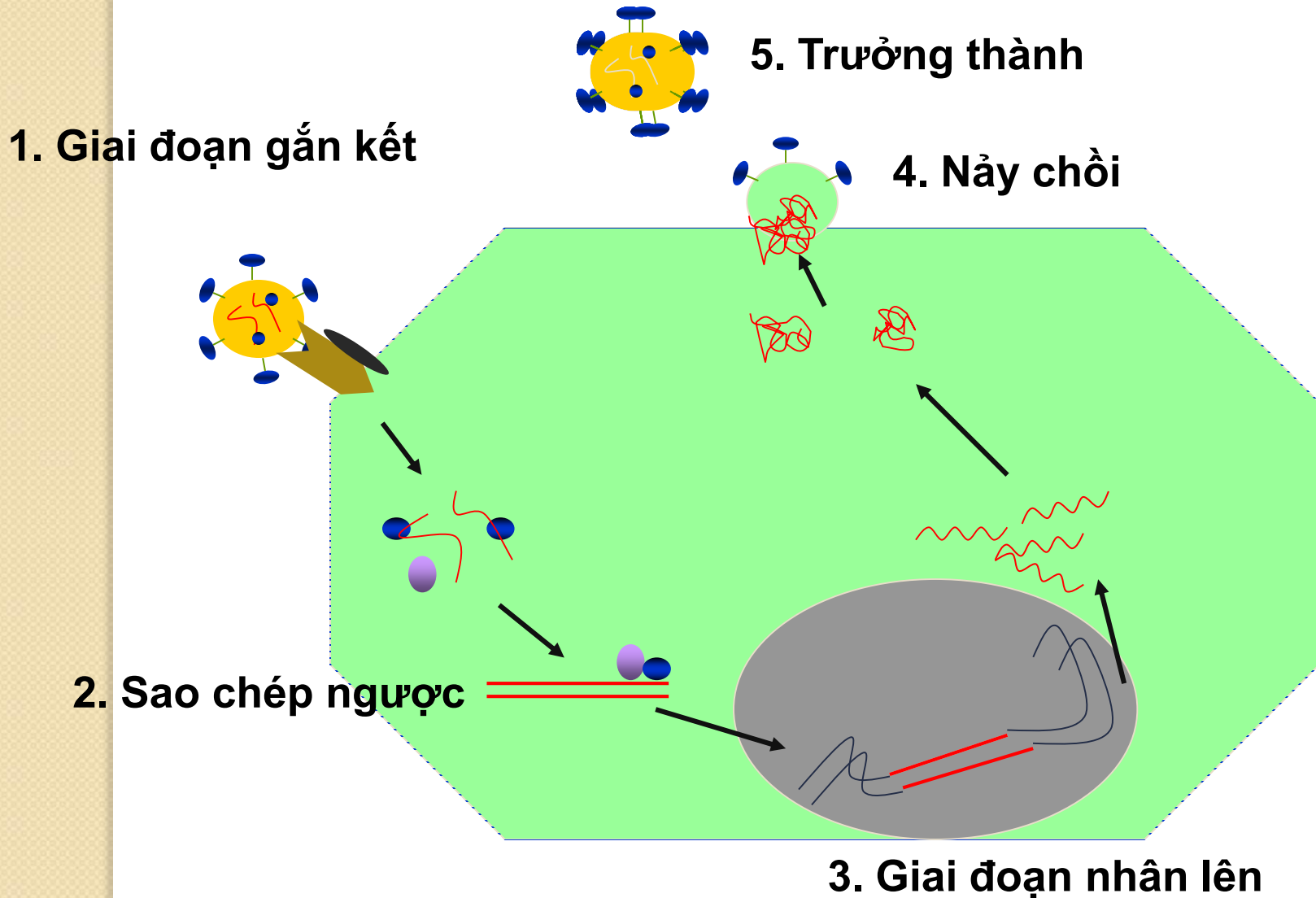
Vòng đời của virus HIV

4. Nảy chồi

Phóng thích virus mới



Vòng đời của virus HIV



Động học của HIV

- Tùy theo tổng lượng HIV trong cơ thể, trung bình mỗi ngày, hàng chục, hàng trăm triệu đến hàng tỷ HIV được sản sinh và có khoảng 200 triệu tế bào TCD4 bị tiêu diệt.
- TCD4 cũng được thay thế bằng các TCD4 mới.
- Diễn biến của bệnh, thời gian chuyển giai đoạn sẽ khác nhau giữa người này với người khác tùy thuộc vào tương quan giữa số lượng TCD4 chết đi và số lượng tế bào TCD4 được sản sinh thay thế.
- Đến một giai đoạn nào đó số lượng TCD4 bị chết do HIV nhiều hơn số TB mới được sản sinh thay thế - lượng TCD4 sẽ giảm dần với các tốc độ khác nhau.

Câu hỏi lượng giá

1. Cấu trúc của HIV gồm:
 - a. 1 lớp
 - b. 2 lớp
 - c. 3 lớp
 - d. 4 lớp
 - e. 5 lớp

Câu hỏi lượng giá

1. Cấu trúc của HIV gồm:
 - a. 1 lớp
 - b. 2 lớp
 - c. 3 lớp**
 - d. 4 lớp
 - e. 5 lớp

Câu hỏi lượng giá

2 . Vòng đời của HIV trong tế bào cơ thể người có:

- a. 4 giai đoạn
- b. 5 giai đoạn
- c. 6 giai đoạn
- d. 7 giai đoạn
- e. 8 giai đoạn

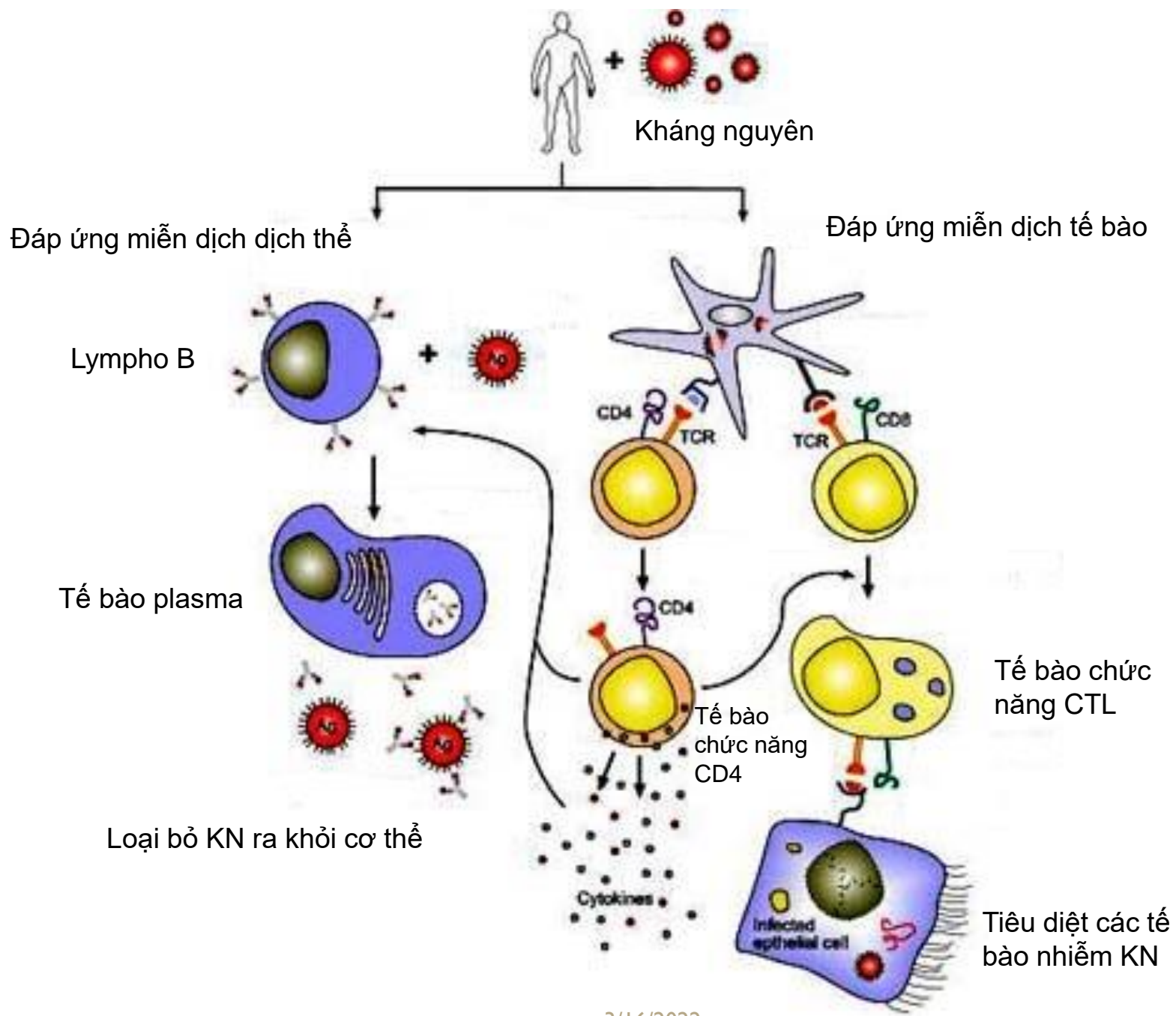
Câu hỏi lượng giá

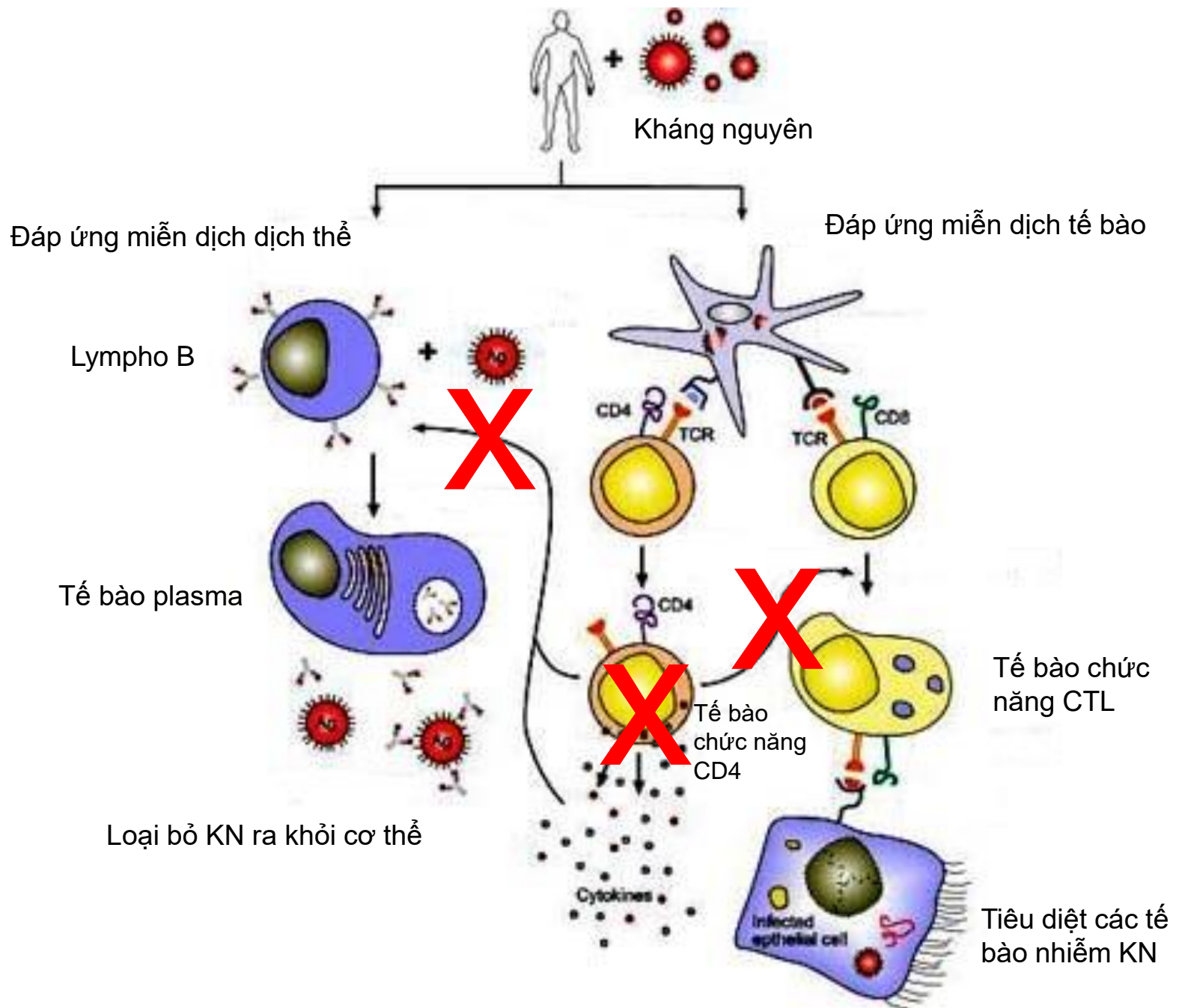
2 . Vòng đời của HIV trong tế bào cơ thể người có:

- a. 4 giai đoạn
- b. 5 giai đoạn**
- c. 6 giai đoạn
- d. 7 giai đoạn
- e. 8 giai đoạn



Đáp ứng miễn dịch trong HIV/AIDS





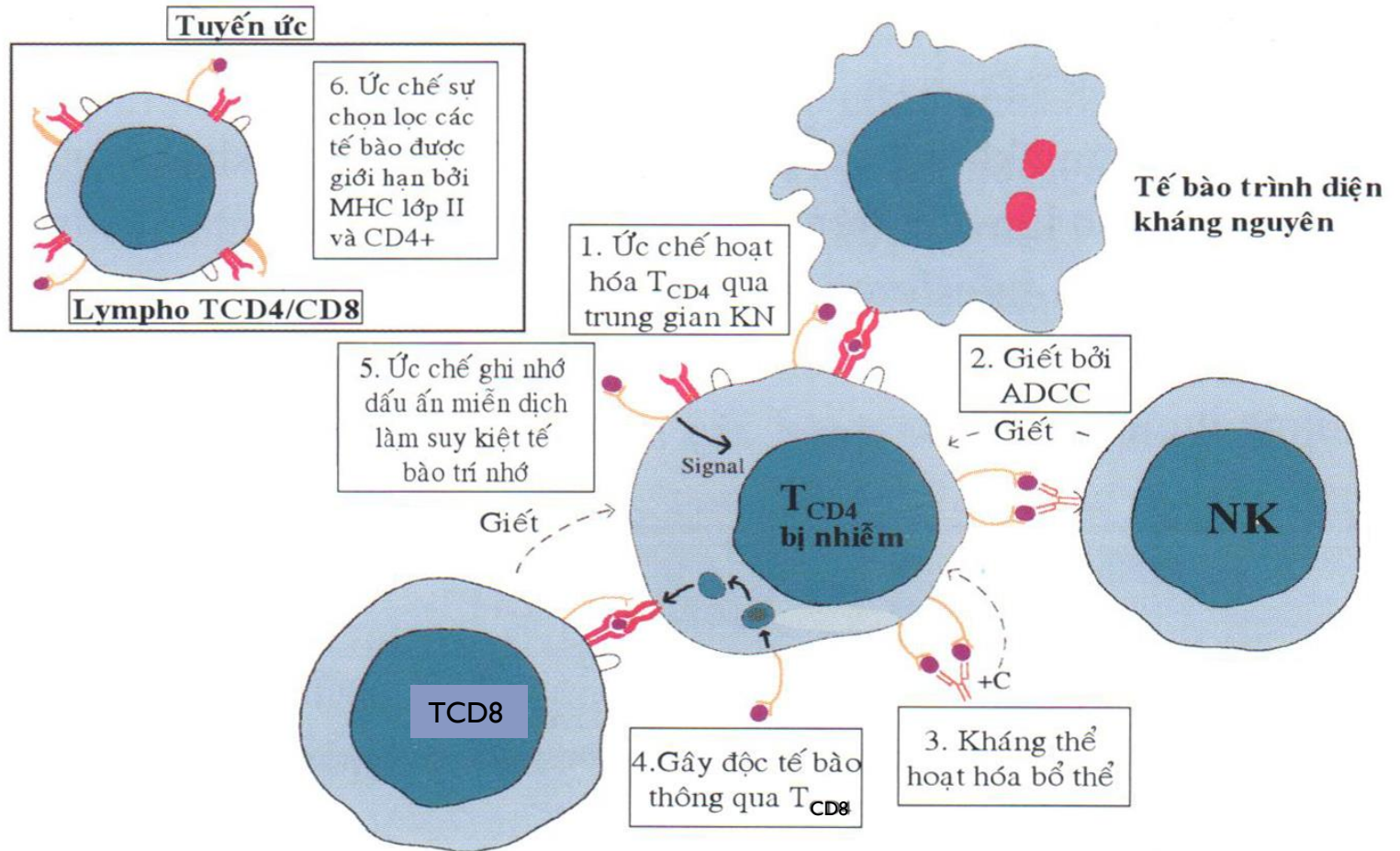
Các rối loạn chính trong đáp ứng miễn dịch trong nhiễm HIV

- **Miễn dịch tế bào:**
 - Giảm tuyệt đối TB lympho CD4
 - Giảm chức năng TB MD: mất đáp ứng da, giảm khả năng tăng sinh TB đối với các chất gây phân bào và KN

Rối loạn miễn dịch dịch thể

- Tăng gama globulin máu: IgG, IgA
- Tăng kháng thể tự miễn
- Giảm đáp ứng MD dịch thể đối với KN lần đầu tiếp xúc và KN tiếp xúc lại

Cơ chế diệt tế bào lympho T CD4



Quá trình phản ứng của hệ MD (3 trạng thái)

1. Trạng thái provirus kéo dài:

- DNA virus tích hợp vào DNA tế bào
- Chưa có kháng thể trong huyết thanh
- Nguồn lây
- Không thể phát hiện bằng Serodia, ELISA
- Phát hiện bằng kỹ thuật phân lập virus hoặc PCR

2. Trạng thái được hệ thống MD của cơ thể kiểm soát:

- Chức năng trình diện KN của đại TB chưa giảm
- Số lượng và chức năng của CD4 còn đảm bảo
- Tế bào lympho CD8 tăng do được kích thích bởi tế bào CD4
- Tế bào lympho B phát triển, tương bào sinh kháng thể dịch thể
- Có thể phát hiện được kháng thể trong huyết thanh: Serodia, ELISA...

3. Trạng thái virus phát triển: chậm hay nhanh phụ thuộc vào khả năng kiểm chế của hệ thống MD

- Giảm tế bào lympho T CD4
- Giảm chức năng tế bào lympho B
- Suy giảm chức năng của hệ miễn dịch
- Phá hủy cấu trúc của hệ miễn dịch

Hậu quả của các rối loạn MD trong nhiễm HIV

- Khi cơ thể nhiễm HIV kéo dài, các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên của virus đều không ngăn cản được virus phát triển.
- Cơ thể lâm vào tình trạng suy giảm miễn dịch AIDS

Đối với cá nhân người nhiễm

- **Các nhiễm trùng cơ hội:**
 - Các mầm bệnh cơ hội như vi khuẩn, virus, nấm, ký sinh vật thường sinh sản bên trong tế bào
 - Người suy giảm miễn dịch HIV, các mầm bệnh gây ra bệnh cảnh lâm sàng nặng, khó chữa => tử vong

Đối với cá nhân người nhiễm

- **Ung thư:**

- Suy giảm miễn dịch đặc biệt là giảm chức năng tế bào Lympho T CD8 và NK
- Tăng sản các tế bào nội bào mạch máu tạo điều kiện cho ung thư phát triển: Sarcoma Kaposi, nhiễm Epstein Barr virus (ung thư Lympho B)

Đối với cá nhân người nhiễm

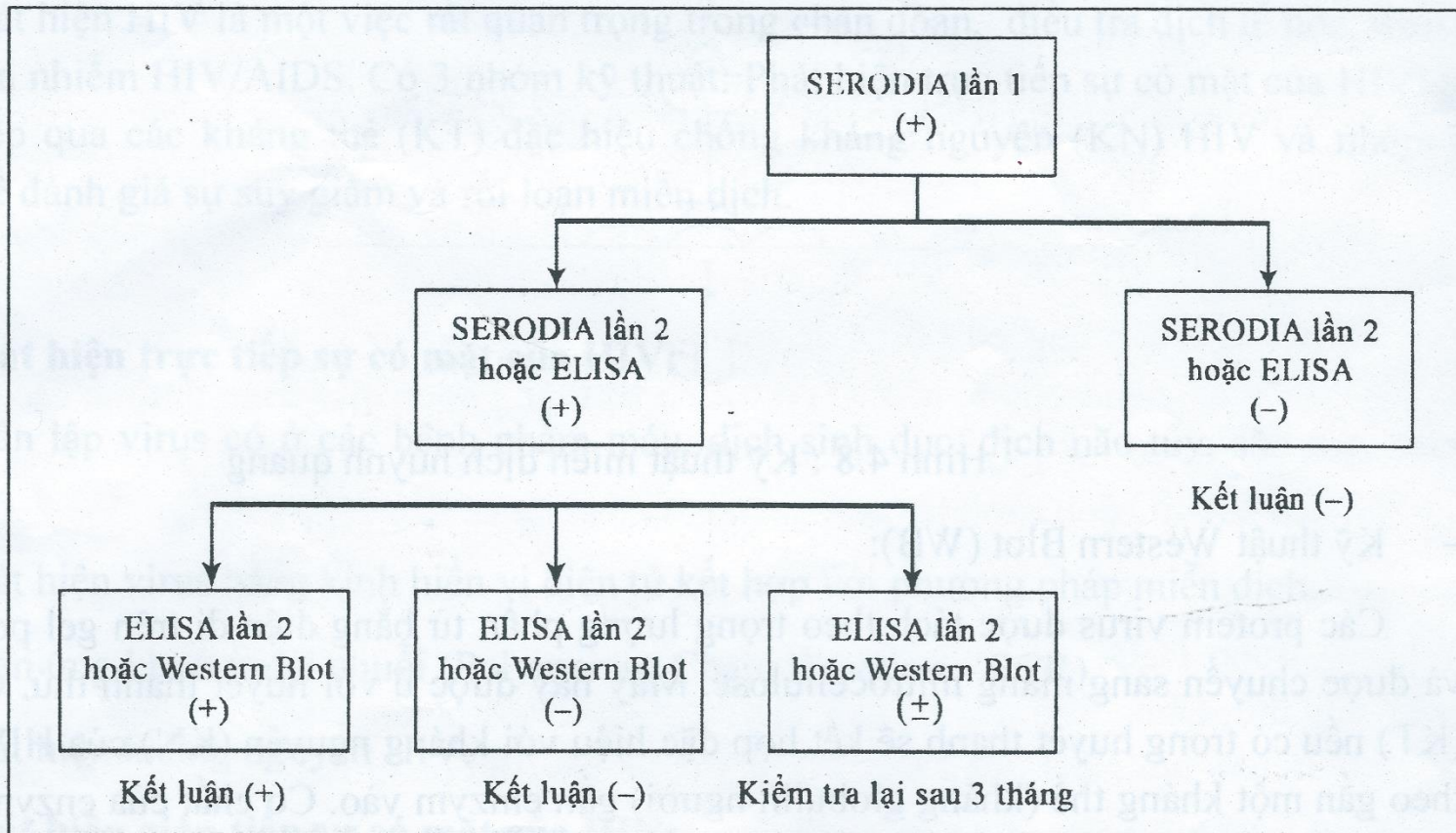
- **Bệnh lý hệ thống thần kinh:**
 - HIV tấn công trực tiếp hoặc gián tiếp vào hệ thống thần kinh
 - + Đại thực bào nhiễm HIV trực tiếp di tản tới não gây độc cho não và sợi dẫn truyền TK
 - + Các chất tiết của chúng hoặc gián tiếp qua việc gây nhiễm làm tổn thương các TB nội mạc mạch ở não và các TB đệm
 - Gp120 của virus giống một số chất dẫn truyền TK => ảnh hưởng đến chức năng dẫn truyền bình thường của các tế bào TK

- **Bệnh lý ở dạ dày, ruột:**

- Rối loạn hấp thu và tiêu chảy
- Giảm chức năng các TB ruột ưa chrome có chức năng sản sinh chất giữ vai trò điều hòa nhu động ruột và tiêu hóa thức ăn

Một số kỹ thuật phát hiện và theo dõi HIV/AIDS

- Phát hiện trực tiếp sự có mặt của HIV
- Gián tiếp qua kháng thể đặc hiệu chống kháng nguyên HIV
- Kỹ thuật đánh giá sự suy giảm, rối loạn miễn dịch



Phát hiện trực tiếp sự có mặt của HIV

- Phân lập virus: bệnh phẩm máu, dịch sinh dục, dịch não tủy, sữa mẹ, mảnh cắt tổ chức
- Phát hiện bằng kính hiển vi điện tử kết hợp với phương pháp miễn dịch
- PCR
- Phát hiện kháng nguyên HIV

Phát hiện sự có mặt gián tiếp của HIV

- Kỹ thuật ngưng kết (Agglutination)
- Kỹ thuật miễn dịch hấp thụ enzym (ELISA):
ELISA gián tiếp, ELISA sandwich, ELISA cạnh tranh
- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang
- Kỹ thuật Western blot
- Serodia

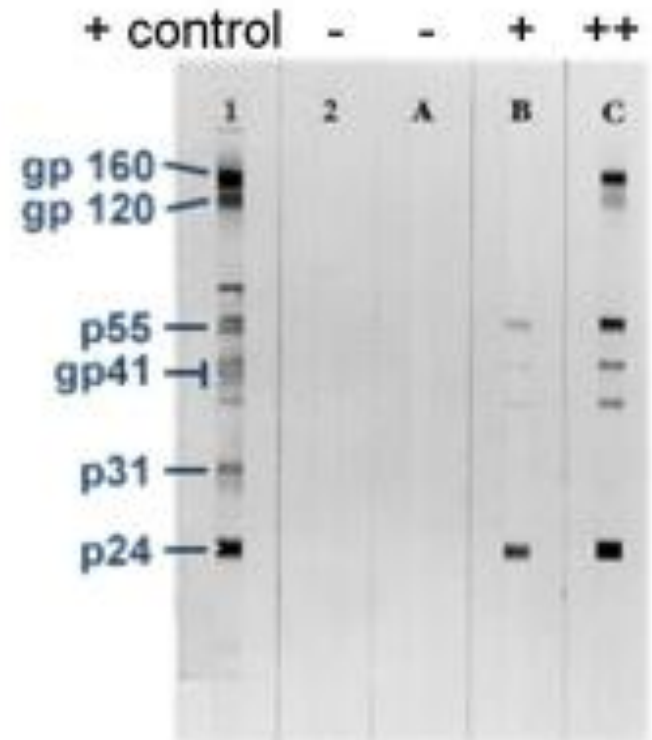
Đánh giá sự suy giảm và rối loạn miễn dịch

- Số lượng tế bào CD4
- Số lượng tế bào CD8
- Số lượng tế bào NK
- Tỷ lệ tế bào lympho CD4/CD8
- Kháng thể: IgG, IgA, β -microglobulin, kháng thể tự miễn

Kỹ thuật Western Blot (WB)

- Protein virus được tách theo trọng lượng phân tử bằng điện di trên gel polyacrylamide và được chuyển sang màng nitrocellulose
- Màng này được ủ với huyết thanh thử
- Kháng thể (nếu có) trong kháng nguyên sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên của HIV đã tách
- Kháng thể (kháng globulin người) gắn enzym vào
- Cơ chất của enzym sẽ tạo ra các băng màu tại vị trí có phức KN-KT-a.KT-enzym
- Kết quả: dương tính khi có ít nhất hai băng màu hiện hình: một băng protein vỏ (gp120/110/160 đối với HIV-1 và 130/140 đối với HIV-2) và protein phần nhân (p24, p25, p36).

ELISA Serodiagnosis and first generation HIV confirmation test: western blot



Kỹ thuật miễn dịch phóng xạ kết tủa

- Chất nghiền của virus chứa KN được ủ với huyết thanh cần thử
- Trong mẫu có KT => phức hợp KN-KT thể bị giữ lại trên các giá đỡ có gắn các chất ái lực với KT (viên bi Sepharose protein A)
- Các KN virus được tách ra khỏi KT bằng điện di trên gel polyacrylamide
- Phát hiện bằng tự chụp phóng xạ (autoradiography)

Thử nghiệm ngưng kết hạt Serodia

Nguyên lý:

- Những hạt gelatin được gắn với các thành phần KN của virus HIV sẽ tạo ngưng kết khi trong huyết thanh (hoặc huyết tương) bệnh nhân có KT kháng HIV
- Kháng nguyên được gắn trên hạt gelatin:
 - ✓ HIV 1 gp41 protein tái tổ hợp
 - ✓ HIV 1 p24 protein tái tổ hợp
 - ✓ HIV2 gp36 protein tái tổ hợp

Phát hiện các axit nucleic (RNA) của virus hoặc DNA (provirus) trong tế bào nhiễm RNA của virus HIV bằng kỹ thuật RT-PCR

- RNA enzyme sao chép ngược và môi cDNA
- Quá trình PCR là chuỗi nhiều chu kỳ kế tiếp nhau
- **Mỗi chu kỳ gồm 3 bước:**
 - Bước 1:** biến tính tách rời 2 chuỗi của phân tử DNA đích ở nhiệt độ $94^{\circ} - 95^{\circ}\text{C}$
 - Bước 2:** bắt cặp, các cặp môi đặc hiệu cho một trình tự DNA xác định bắt cặp với sợi DNA đích ở nhiệt độ $40^{\circ} - 70^{\circ}$.
 - Bước 3:** tổng hợp, kéo dài. Ở nhiệt độ 72° , Taq polymerase hoạt động tổng hợp sợi DNA có trình tự bổ sung cho sợi khuôn.

Câu hỏi lượng giá

- Tại sao người nhiễm virus HIV thường bị chết bởi các bệnh cơ hội?

Câu hỏi lượng giá

HIV thuộc họ nào sau đây:

- a. Picornavirus
- b. Myxovirus
- c. Retroviridae
- d. Rhinovirus
- e. Enterovirus

Câu hỏi lượng giá

HIV có ái tính nhất với:

- a. Tế bào lympho B
- b. Tế bào lympho T
- c. Tế bào thần kinh
- d. Tế bào thượng bì của da
- e. Tế bào biểu mô đường ruột



CÂU HỎI?

CẢM ƠN SỰ THAM GIA CỦA ANH, CHỊ!