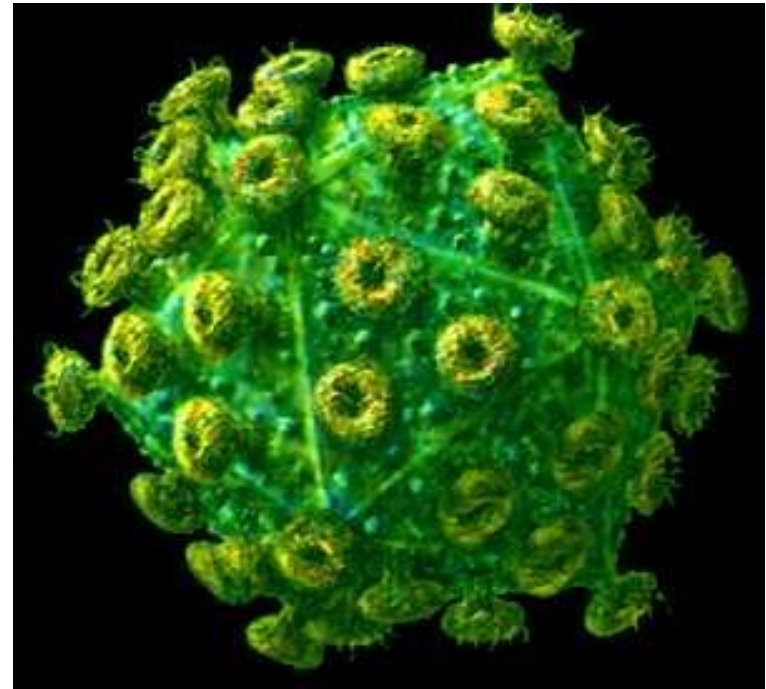
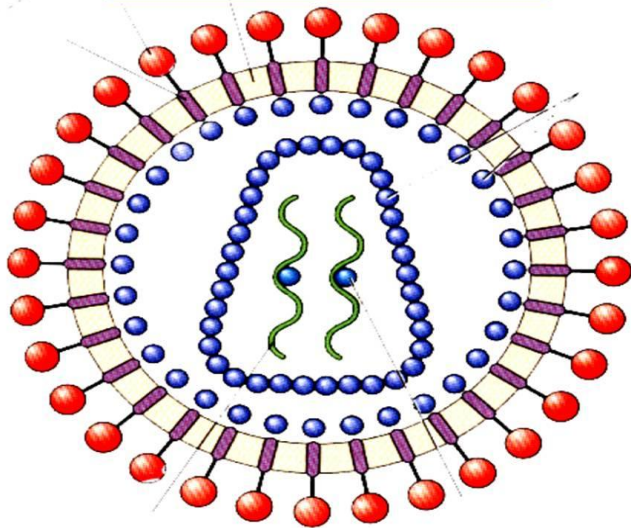


СПИД

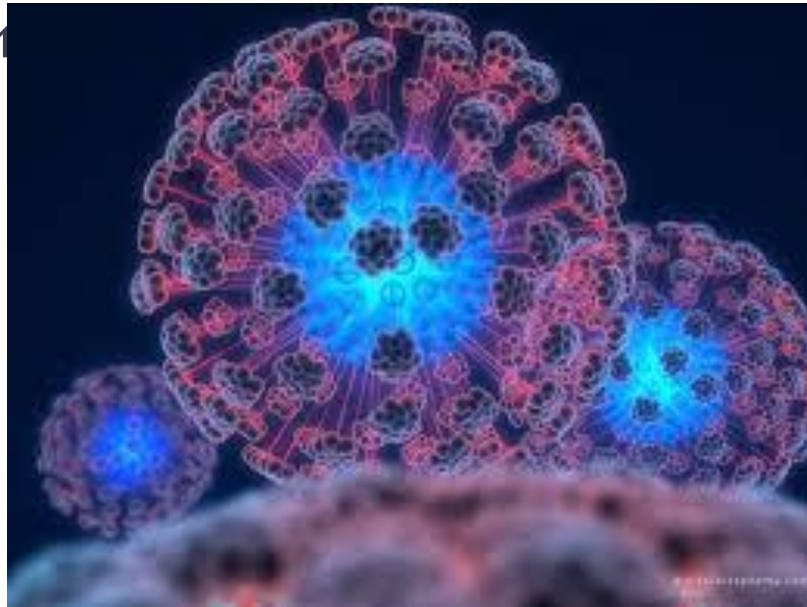
Выполнила
студентка 481"а"гр.
Меликян Л.П.

СПИД (AIDS) - состояние, развивающееся на фоне ВИЧ-инфекции и характеризующееся падением числа CD4+ лимфоцитов, множественными оппортунистическими инфекциями, неинфекционными и опухолевыми заболеваниями.

СПИД - ЧУМА 21 ВЕКА.



ВИЧ — вирус иммунодефицита человека, поражающий прежде всего клетки иммунной системы (CD4+ Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки), передающийся через незащищенный половой контакт, с помощью зараженных вирусом шприцев, игл и других медицинских и парамедицинских инструментов; от инфицированной матери ребенку во время родов или при грудном вскармливании.



ИСТОРИЯ

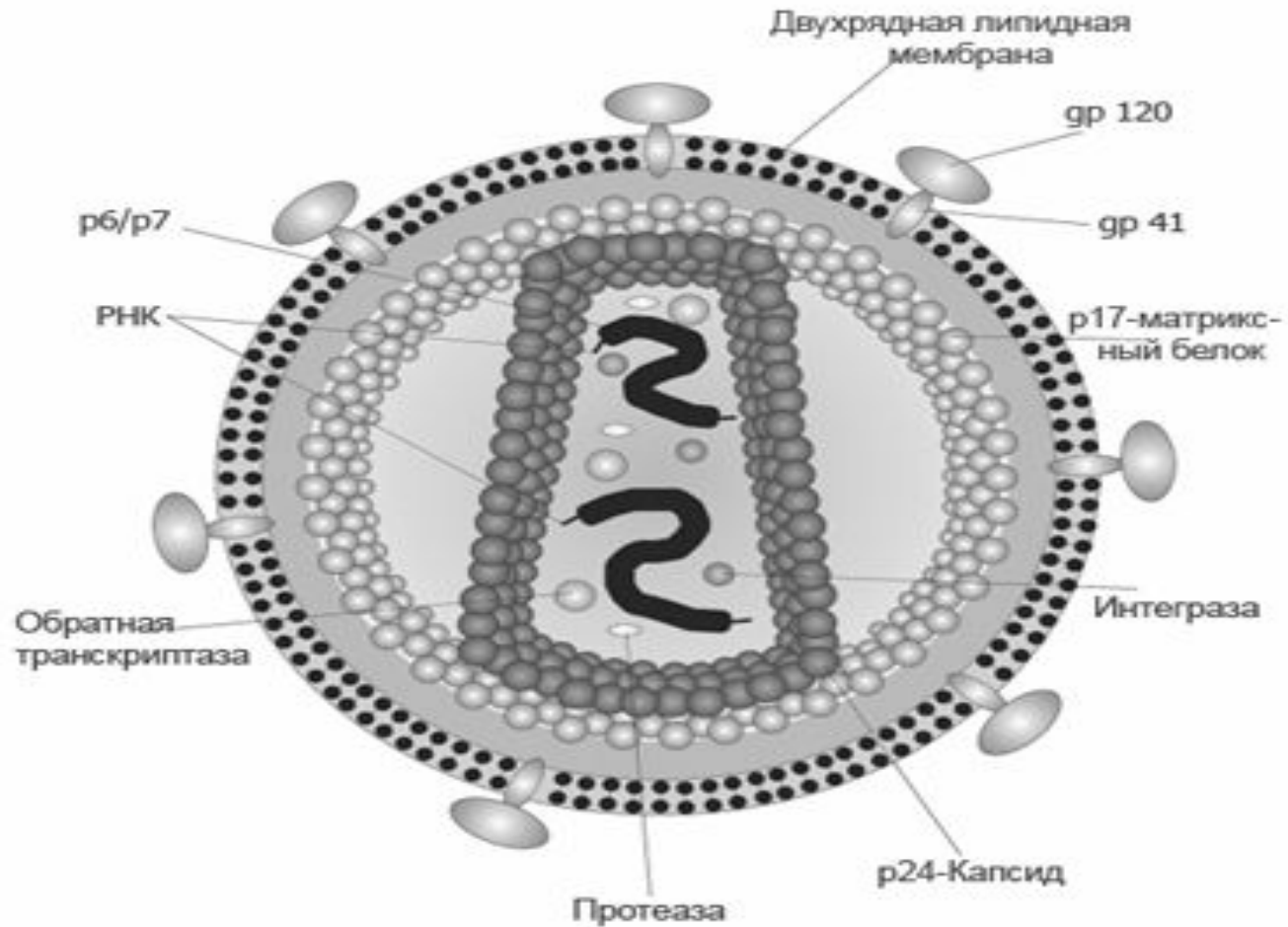
- В 1981г. было обнаружено заболевание характеризовавшееся тяжелой формой пневмонии, вызванное условно-патогенным агентом *Pneumocystis carinii*.
- В 1983г. практически одновременно в США и Франции была обоснована вирусная природа СПИД и описан его возбудитель - вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

ВИЧ

- Относится к ретровирусам.
- Относится к подсемейству лентивирусов.
- Включает виды ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
- Обнаружил у 46% африканских зеленых обезьян.
- Для вируса характерна высокая частота генетических изменений, возникающих в процессе самовоспроизведения.
- Частота мутаций равна 10^{-4}
- Размер геномной РНК 9200осн.



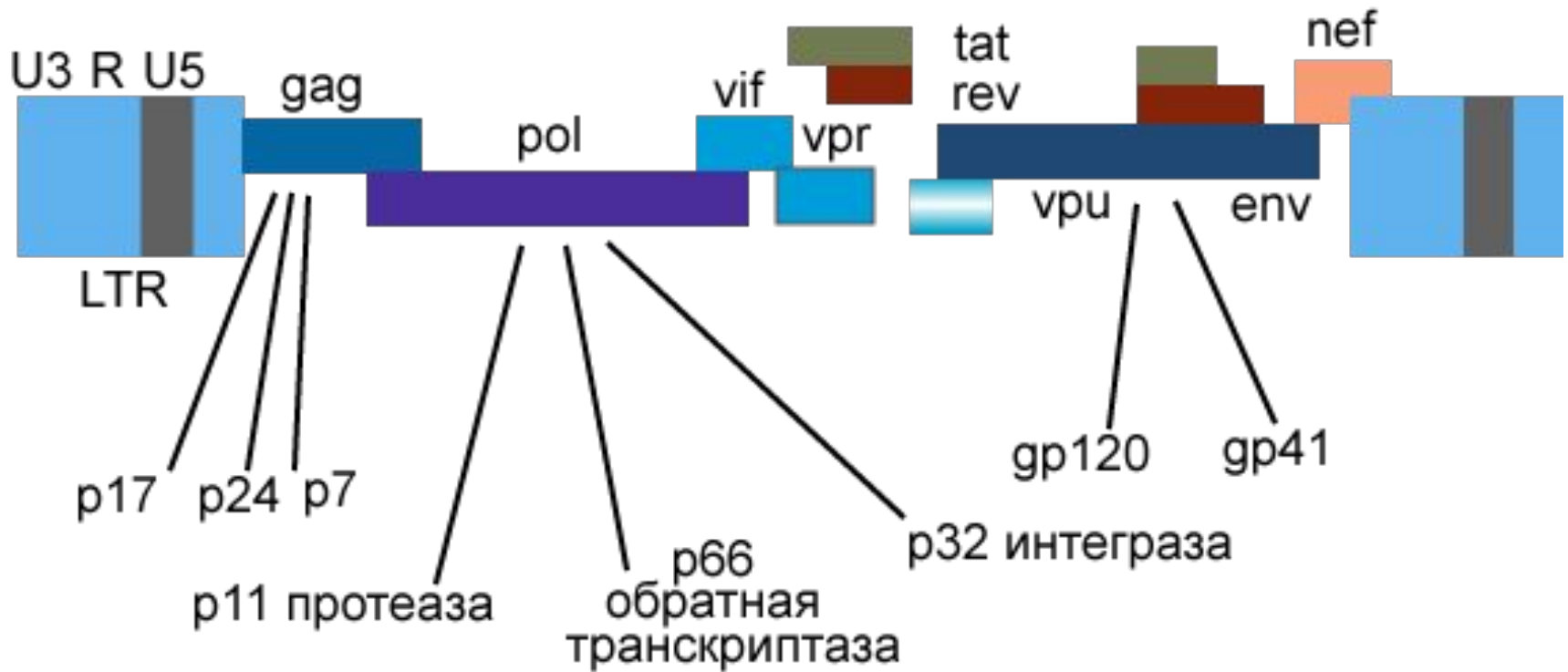
ГЕНЫ И БЕЛКИ ВИЧ



Сокращение	Описание	Функции
gp41 (TM, transmembrane)	трансмембранный гликопротеин массой 41 кДа	Располагается во внешнем слое липидной мембраны. Играет роль «якоря», удерживающего молекулы другого белка — gp120
gp120 (SU, surface)	гликопротеин массой 120 кДа	Наружный белок вириона. Способен связываться с CD4 рецептором.
p24 (CA, capsid)	белок массой 24 кДа	белок, образующий оболочку нуклеоида (капсида) вируса
p17 (MA, matrix)	Матриксный белок массой 17 кДа	Около двух тысяч молекул этого белка образуют слой толщиной 5 — 7 нм, располагающийся между внешней оболочкой и нуклеоидом вируса
p7 (NC, nucleocapsid)	Нуклеокапсидный белок массой 7 кДа	Белок, входящий в состав нуклеоида вируса. Образует комплекс с вирусной РНК.

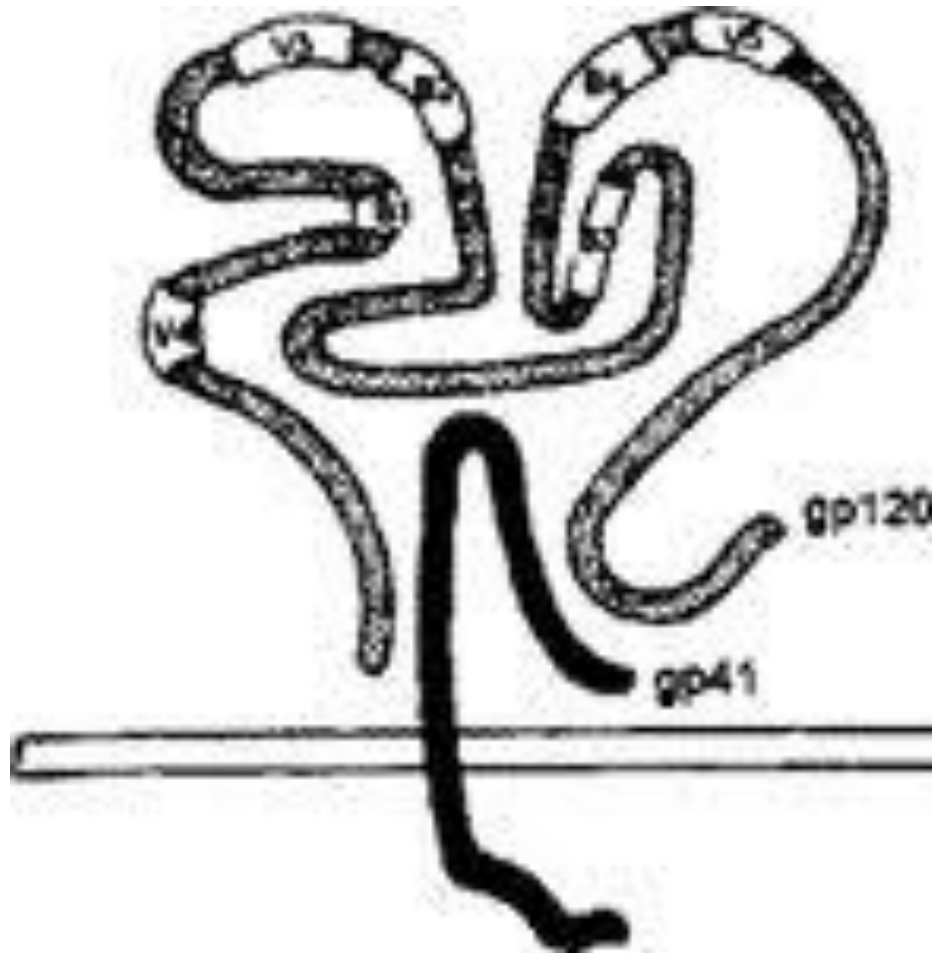


ГЕНЫ И БЕЛКИ ВИЧ

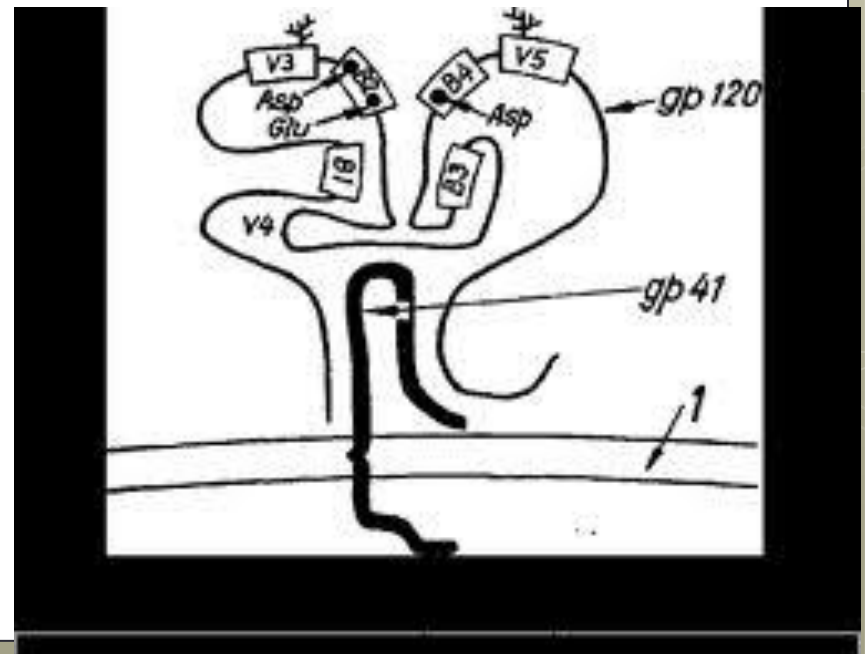
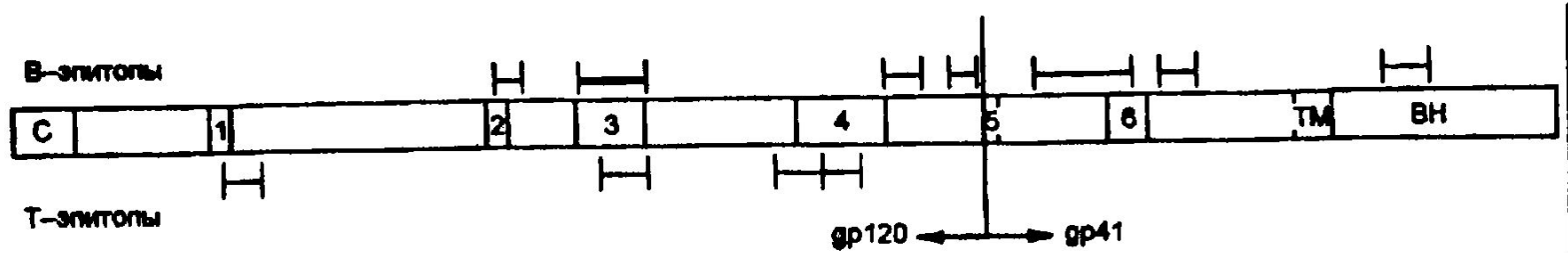


- Генетический материал представлен двумя не связанными нитями положительной РНК.
- Имеет длину 9000 нуклеотидов.
- Концы генома представлены длинными концевыми повторами (LTR) - управляют продукцией новых вирусов, активирующиеся как белками вируса, так и белками инфицированной клетки.
- Гены кодировки:
- **pol** — кодирует ферменты: обратную транскриптазу (RT), интегразу (IN) и протеазу (PR).
- **gag** — кодирует полипротеин Gag/p55, расщепляемый вирусной протеазой (PR) до структурных белков p6, p7, p17, p24.
- **env** — кодирует белок gp160, расщепляемый клеточной эндопротеазой фурином на структурные белки gp41 и gp120.
- Другие шесть генов — *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, *vpu* (*vpx* у ВИЧ-2) — кодируют белки, отвечающие за способность ВИЧ-1 инфицировать клетки и производить новые копии вируса.

Белки оболочки gp120 и gp41



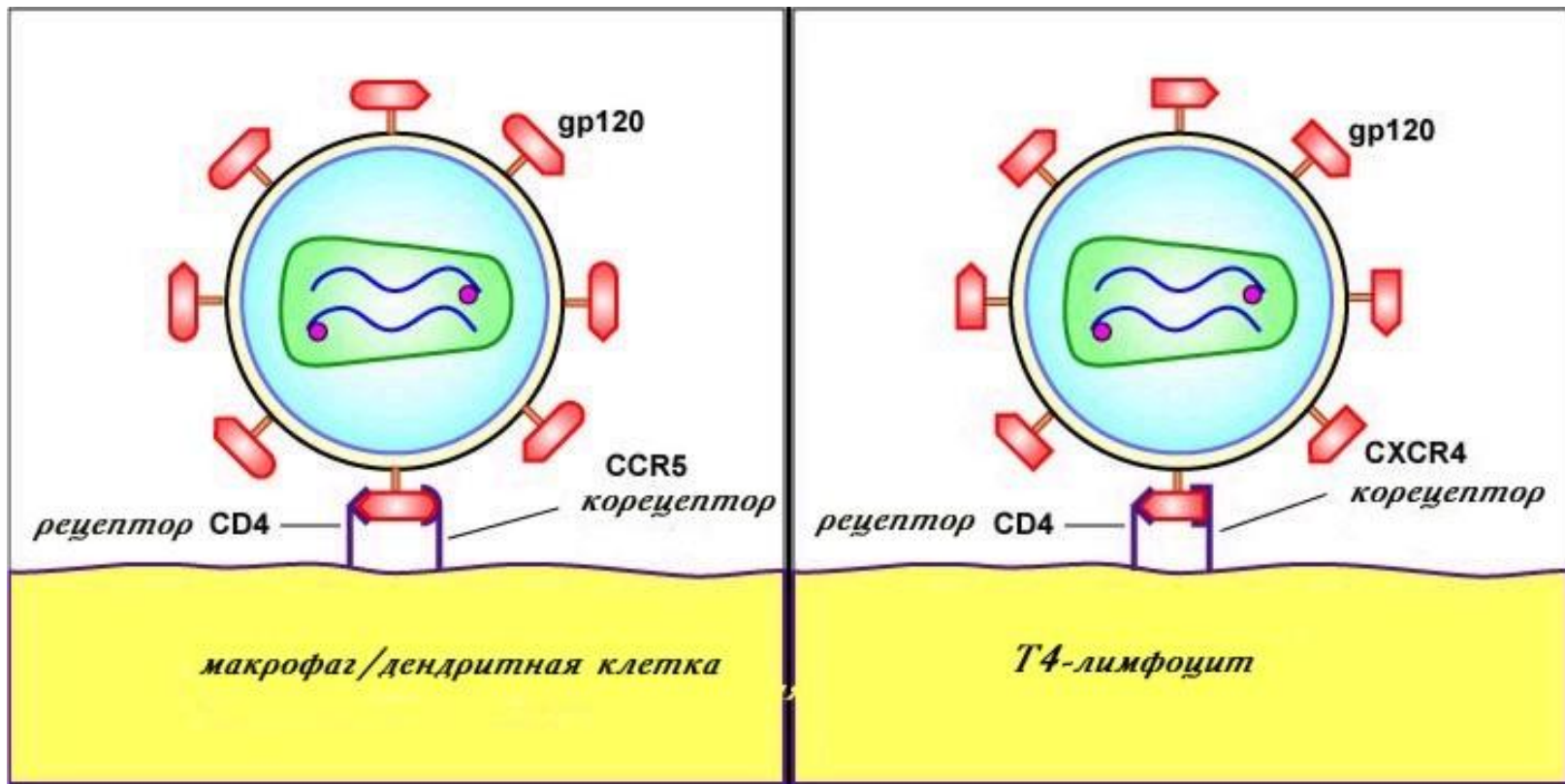
Белки оболочки gp120 и gp41



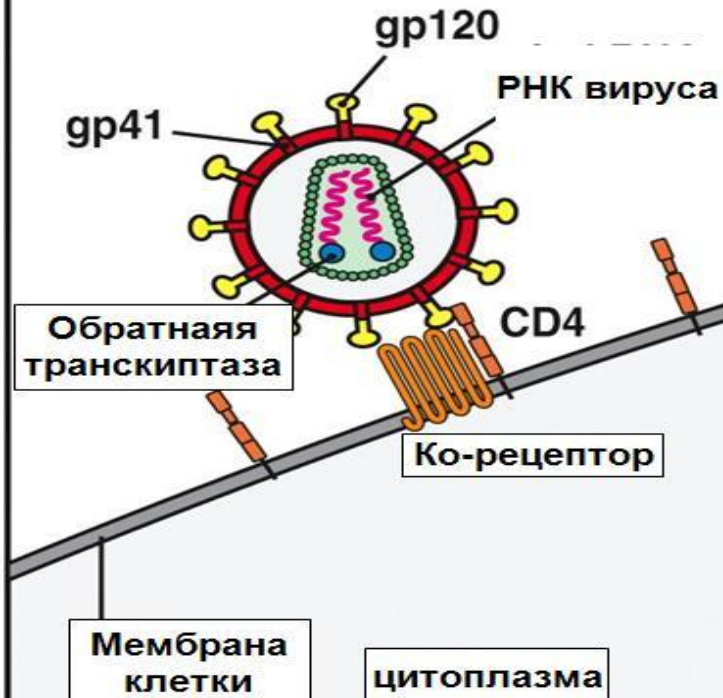
Инфицирование клеток вирусом ВИЧ

- Связывание ВИЧ с поверхностью клетки (рецепция).
- Слияние мембран вируса и клетки и его проникновение внутрь клетки (пенетрация).
- Высвобождение нуклеоида и геномной РНК.
- Интеграция геномов клетки и ВИЧ.
- Активация транскрипции и трансляции после латентного периода.
- Репликация вируса (морфогенез).
- Цитопатогенный эффект ВИЧ, высвобождение вирионов из клетки.

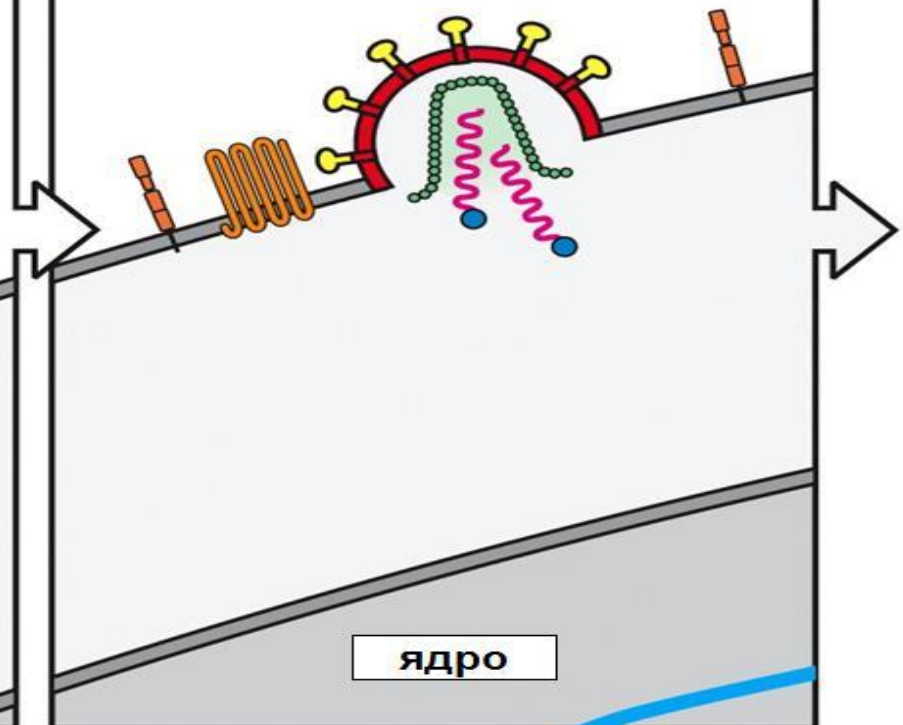
Взаимодействие CD4 и gp120



Вирус связывается с рецептором CD-4 и корецептором на Мембране клетки (например Т-4 хелпера)



Вирусная оболочка сливается с мембраной клетки и вирусный геном с белками проникает в Цитоплазму



Вирусный фермент – обратная транскриптаза копирует на вирусной РНК комплементарную нить вДНК, затем происходит синтез второй нити вДНК

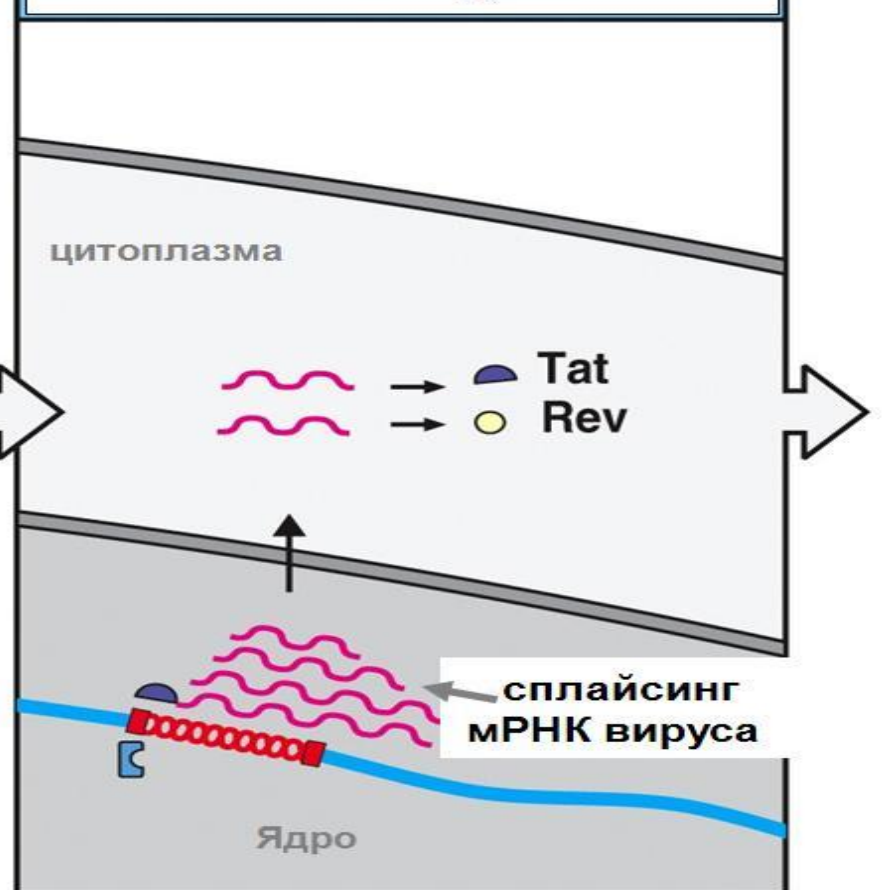
Вирусная ДНК встраивается в геном клетки – стадия образования провируса



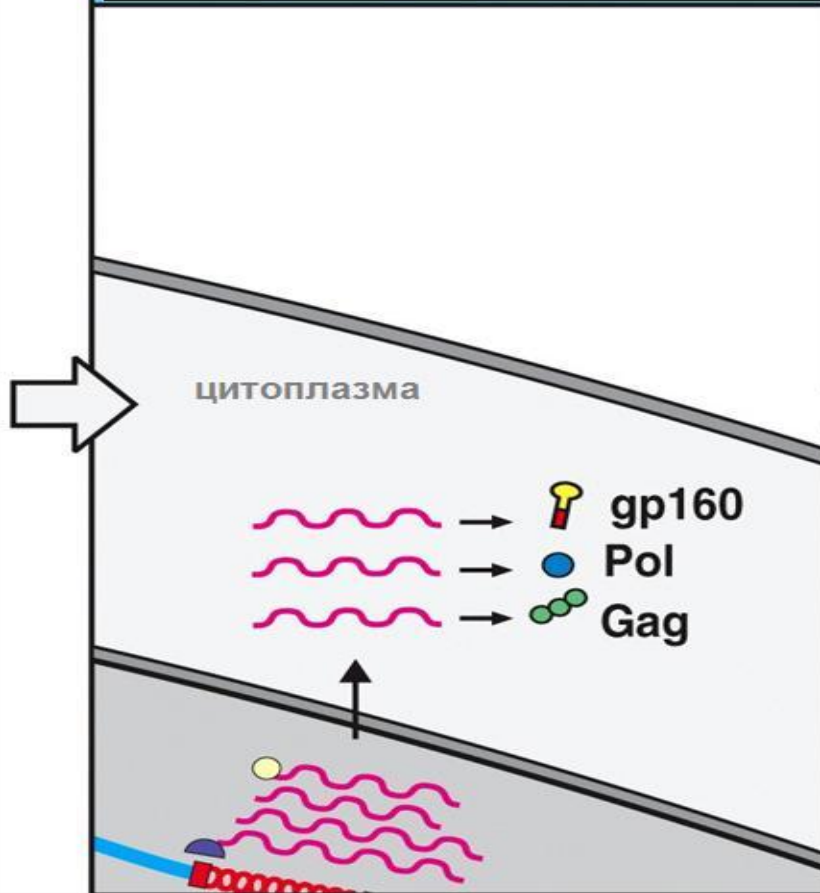
Активация клетки (стресс, инфекция, травма) индуцирует активацию вир-генома и происходит синтез (транскрипция) вир мРНК



Вир мРНК претерпевает сплайсинг и образуется несколько молекул и-РНК, с которых транслируются белки вируса

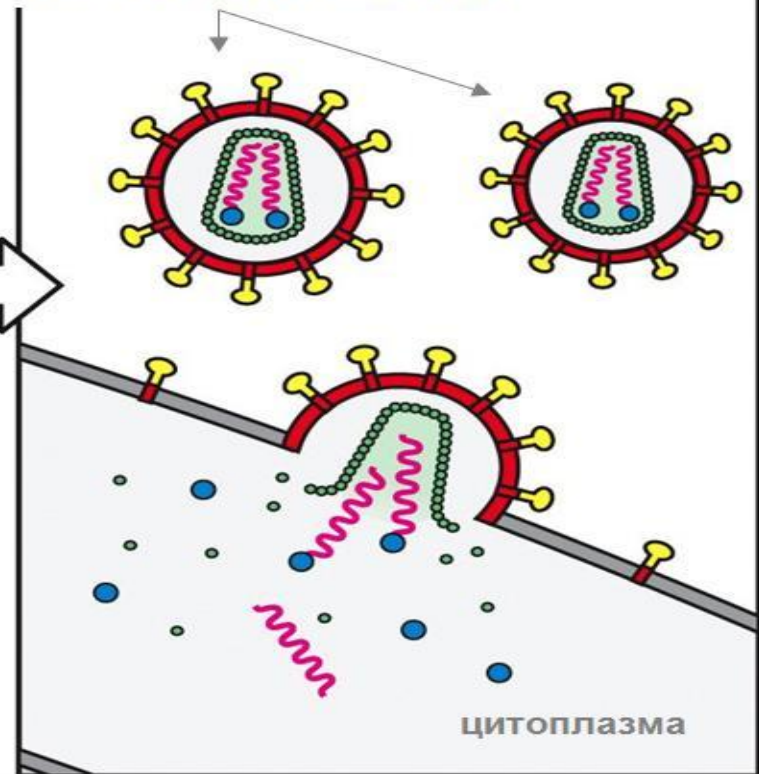


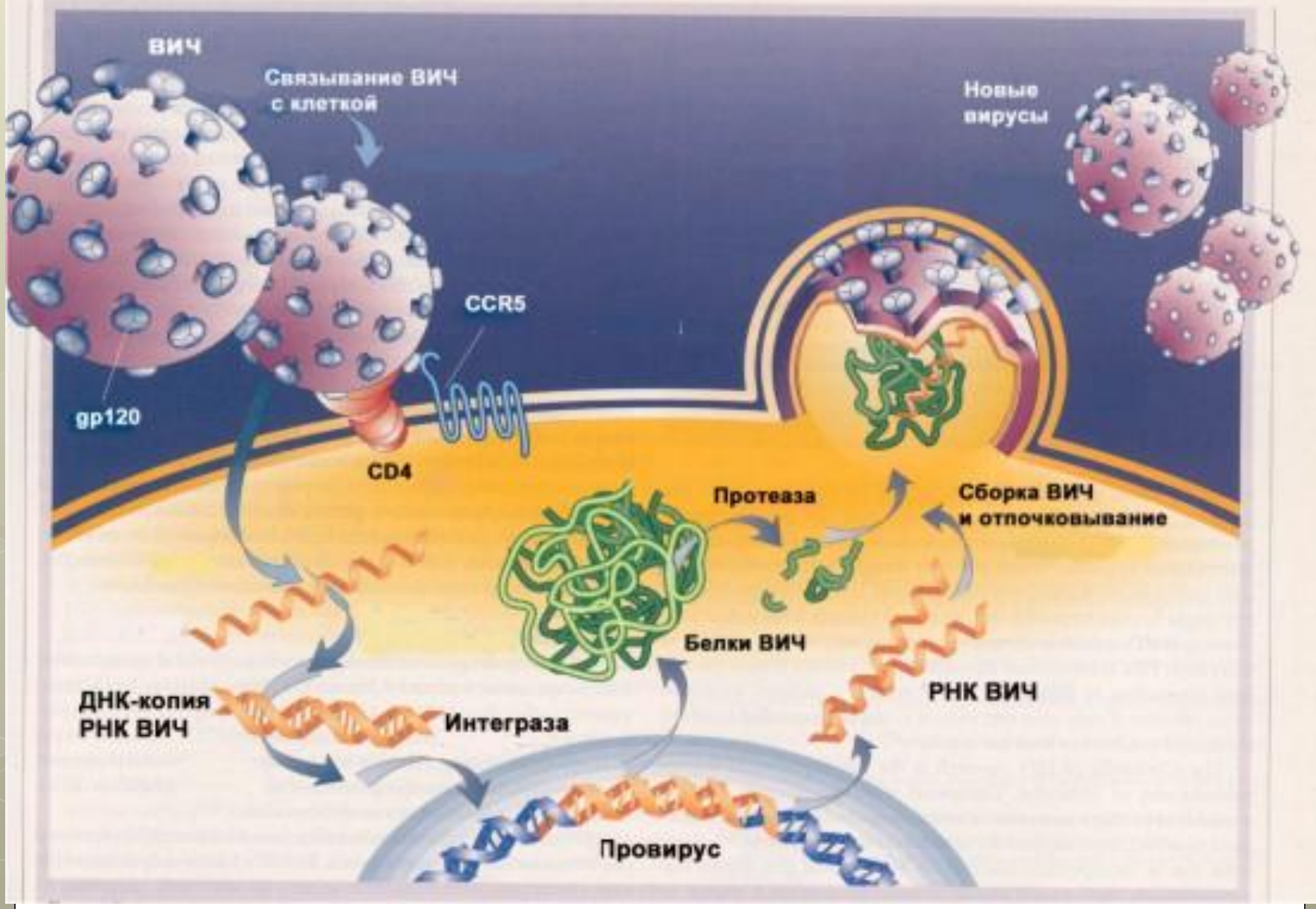
Фермент Tat увеличивает синтез вирус м-РНК. Фермент Rev усиливает транспорт и-РНК в цитоплазму клетки, где идет интенсивный синтез белков



Идет синтез белков капсида вируса и сборка вирусных частиц, которые покидают клетку

Вирусы
вышедшие из клетки





Особенности вируса

- Повышенная мутабельность вируса(из-за работы обратной транскриптазы)
- Фермент копирует вирусную РНК не точно, и в результате скорость генерации "ошибок" очень высока.
- В одном цикле репликации вируса ревертаза делает от 1 до 10 таких ошибок
- В результате у больного создается целая "популяция" разнообразных вирусов ("квазивидов").

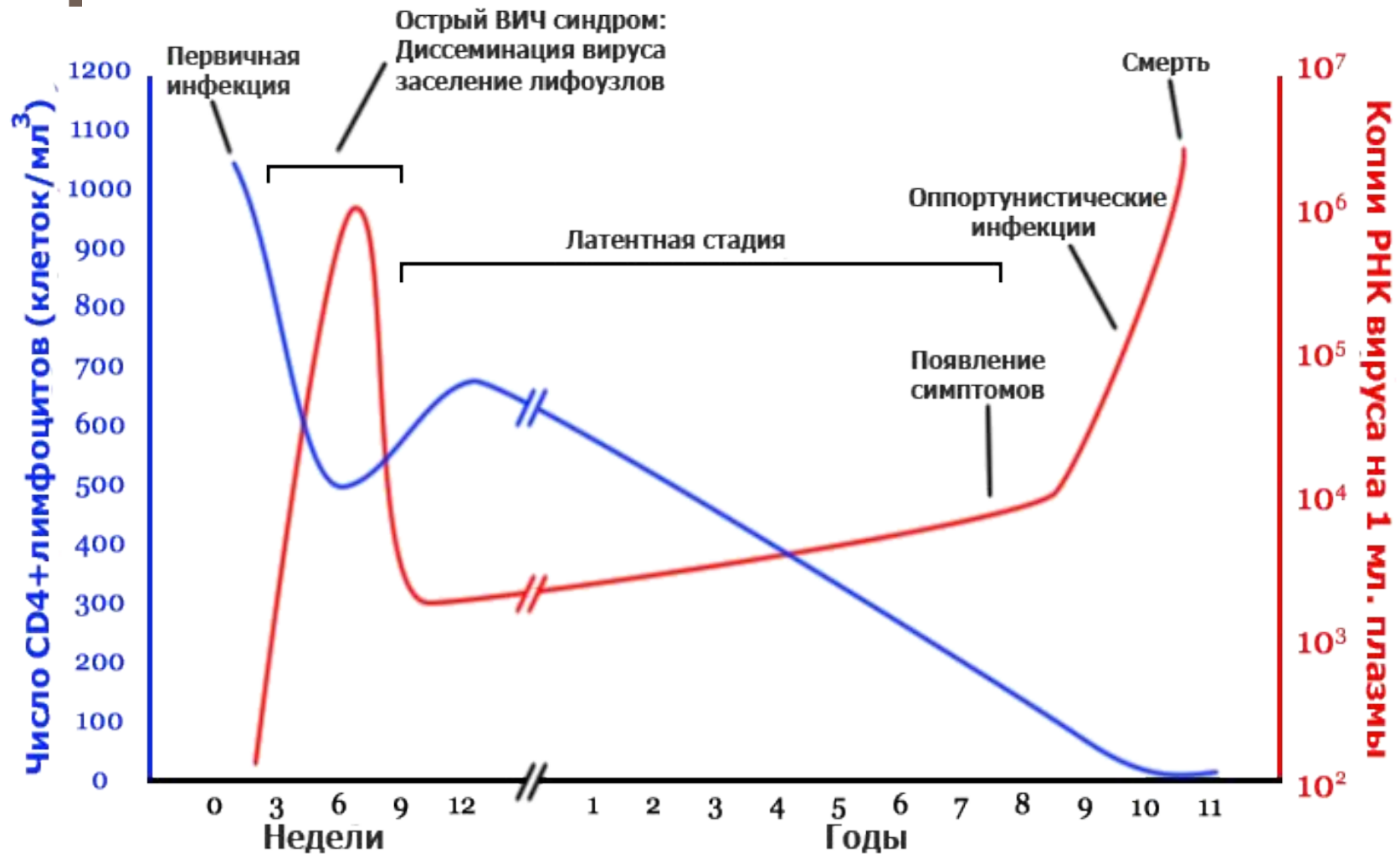
ФАКТОРЫ УГНЕТЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

- Непосредственное разрушение клеток вирусом
- Истощении субпопуляции CD4 T-клеток и угнетении их реакции на антигены с параллельным снижением продукции ИЛ-2
- Ослабление их функций под влиянием инфицирования и действия растворимых белков ВИЧ (gp120 блокируют CD4+ - клетки, вызывает потерю CD4 или неэффективную активацию клеток.
- Сдвиг баланса Th1/Th2 в сторону Th2, тогда как эффективная противовирусная защита может реализоваться с участием Th1
- Индукция супрессорных клеток белком gp120 и ВИЧ-ассоциированным белком p67.

- Клеточный иммунитет снижается
- Появляются В-клетки, невосприимчивые к действию Т-независимых В-клеточных активаторов, возрастает образование аутоантител и иммунных комплексов .
- При достижении критического уровня количества CD4+ Т-лимфоцитов организм становится восприимчивым к оппортунистическим (условно-патогенным) инфекциям



Стадии инфекционного процесса



- Всплеск АГ в ранний период развития ВИЧ-инфекции отражает интенсивную репликацию вирусов внедрившихся в клетки. В условиях сохранной иммунной системы хозяина это вызывает наработку АТ.
- Параллельно с накоплением в сыворотке крови АТ к вирусным АГ повышается концентрация всех сывороточных Ig (включая IgE)
- АТ не вызывают комплемент зависимого лизиса инфицированных клеток и не делают их чувствительными к антителозависимому клеточному цитолизу.
- Клоны цитотоксических CD8⁺ - лимфоцитов, получаемых из крови больных СПИД, вырабатывают набор цитокинов, свойственных Th2 – клеткам.
- На поздних стадиях развития СПИД добавляется еще фактор, способствующий прогрессированию иммунодефицита,- истощение тимуса, обусловленное поражением его эпителиальных клеток.

Инфекционные процессы характерные для СПИД

25

Индикаторное заболевание	Частота %
Исхудание, лихорадка, диарея	20
Кандидозы пищевода, трахеи, бронхов	16
Саркома Капоши	7
Туберкулез легких	7
Диссеминированная микобактериальная инфекция	5
Бактериальная пневмония	5
Криптококкоз экстрапульмонарный	5
Токсоплазмоз	4
Лимфома иммунобластная	3

ДИАГНОСТИКА



Характеристика

- В зависимости от того, на какой стадии находится заболевание:
 1. Определение p24 в крови в период острого заболевания
 2. Сероконверсия (когда наработались Ат против вируса):
 - Персональна диагностика
 - Иммуноблоттинг
 - Скрининг
 - Мониторинг
 - Высев клеток в культуре *in vitro*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ Р24 В КРОВИ В ПЕРИОД СТРОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ (ИФА)

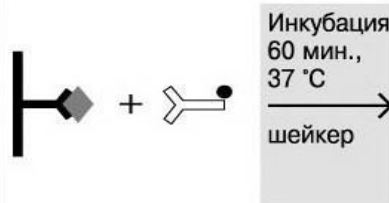
Схема проведения анализа

ПРЯМОЙ

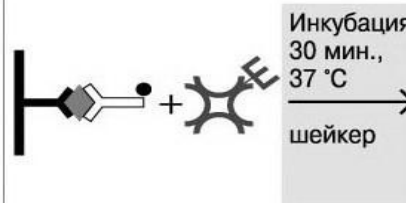
Внесение образца



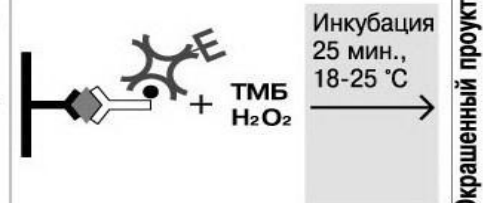
Внесение конъюгата №1



Внесение конъюгата №2



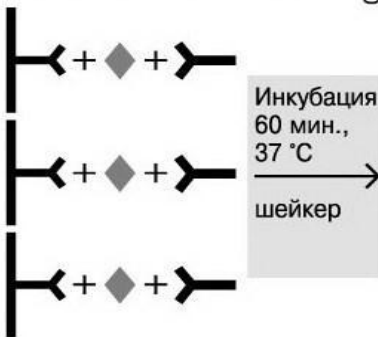
Внесение субстратной смеси



Окрашенный продукт

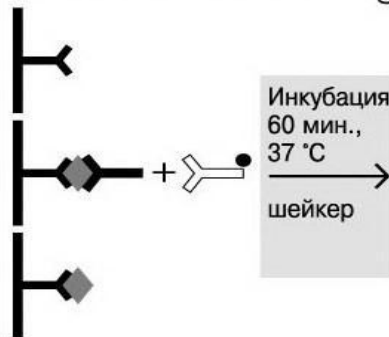
КОНКУРЕНТНЫЙ

Внесение РПА, образца



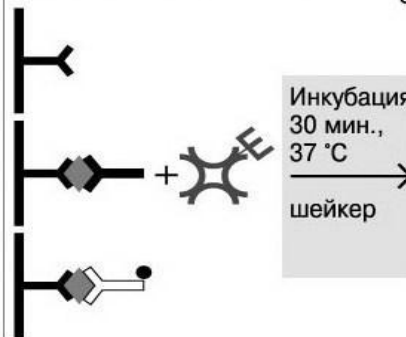
ОТМЫВКА

Внесение конъюгата №1



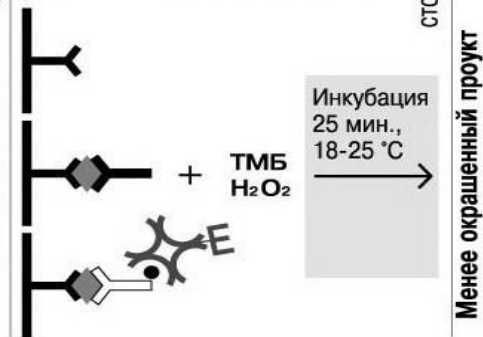
ОТМЫВКА

Внесение конъюгата №2



ОТМЫВКА

Внесение субстратной смеси



СТОП-РЕАГЕНТ

Менее окрашенный продукт

моноклональные антитела к ядерному антигену p24, сорбированные в лунках планшета

ядерный антиген p24 ВИЧ-1 в исследуемом образце

поликлональные антитела к p24 ВИЧ-1 (РПА)

биотинилированные кроличьи антитела к p24 ВИЧ-1 (конъюгат №1)

стрептавидин с полимерной пероксидазой хрена (конъюгат №2)

Особенности метода

Особенности тест-системы:

- 1) Высокие чувствительность и специфичность;
- 2) Возможность определения концентрации р24-антигена ВИЧ-1 в исследуемом образце;
- 3) Подтверждение присутствия ядерного антигена р24 ВИЧ-1 в исследуемом образце;
- 4) В состав набора входит контрольный образец с концентрацией р24-антигена 160 пг/мл;
- 5) Цветовой контроль внесения исследуемых образцов;
- 6) Окрашенные компоненты набора;
- 7) Возможны 6 независимых постановок ИФА по 8 анализов, включая контроли, в подтверждающем тесте;
- 8) Возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов, включая контроли, в прямом тесте с определением концентрации р24-антигена;
- 9) Содержит все необходимые для постановки анализа реагентов, кроме дистиллированной воды.

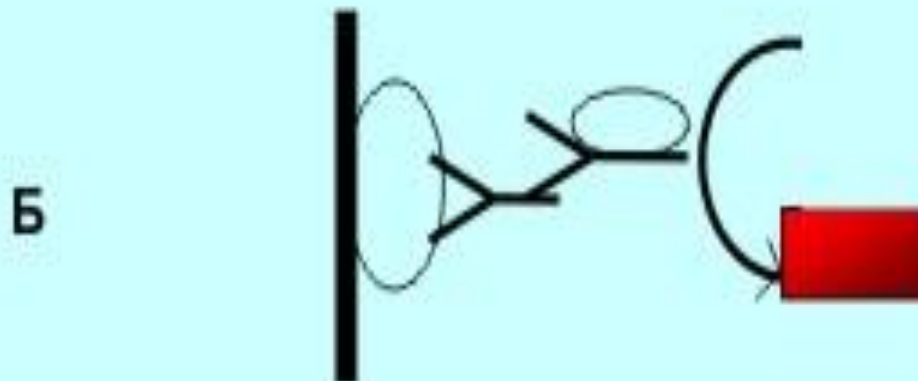
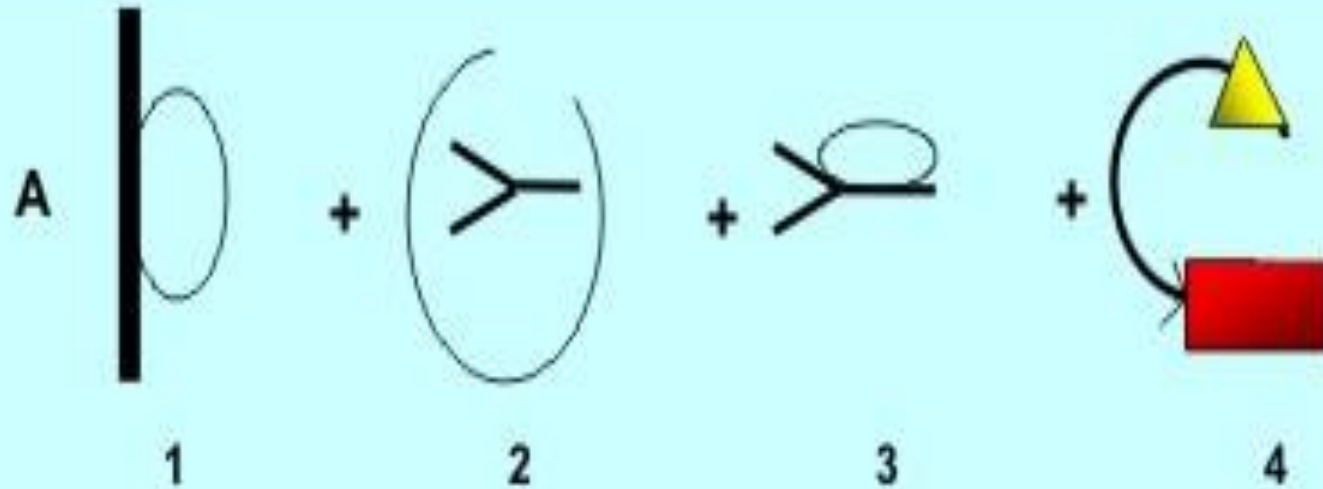
Иммуноферментный анализ



Определение

- Персональная диагностика – скрининг на планшетах с твердой фазой (используют уже Ат против инфекции)
- Наибольший распространён – гетерогенный вариант иммуноферментного анализа:
 1. Антиген (определяемое соединение) или антитело фиксируется на твердой основе (полистироловый планшет, полистироловые бусины, пористая подложка или магнитный носитель).
 2. Анализ проводят в 3 стадии.

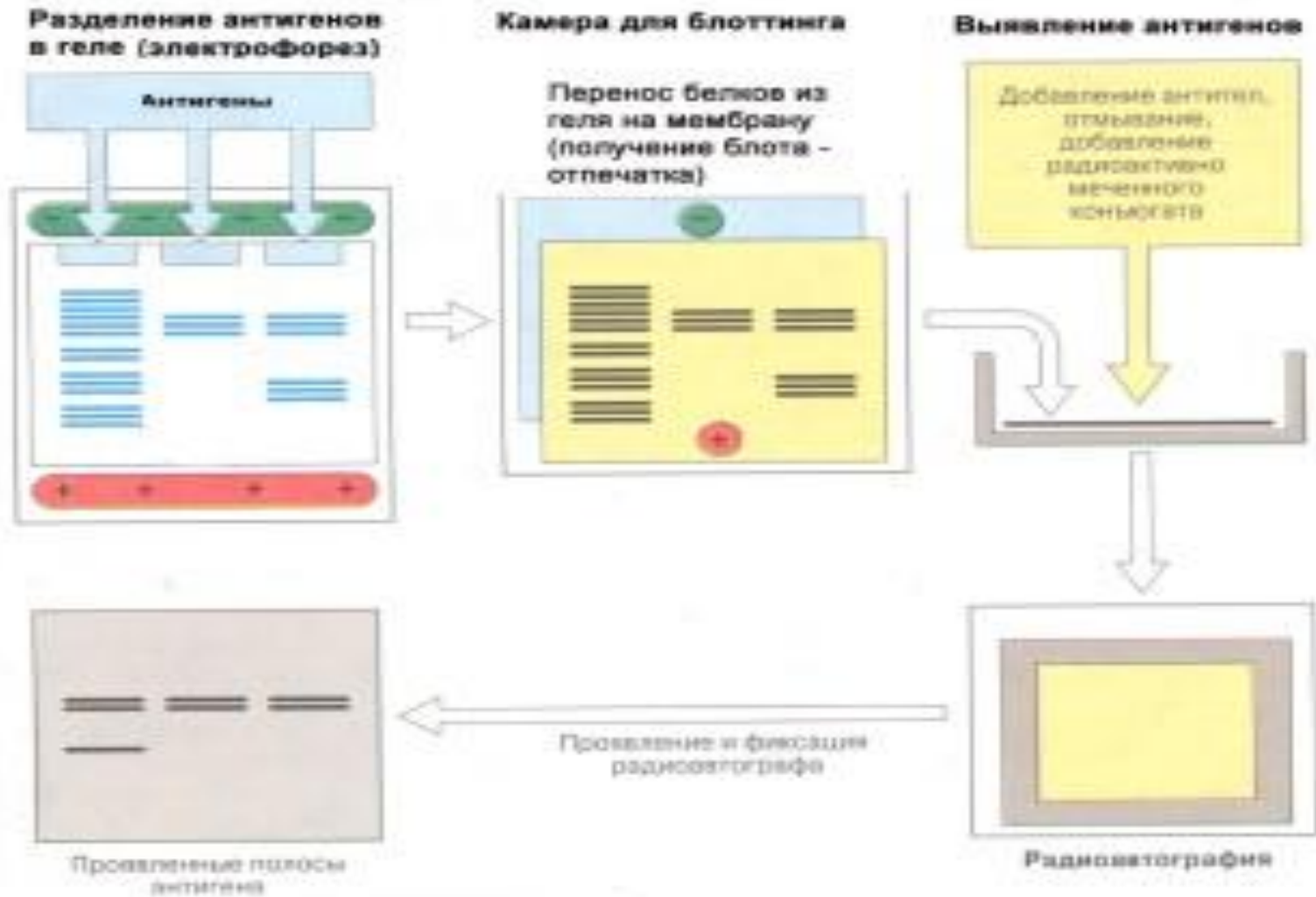
Схема метода иммуноферментного анализа (ИФА)



Иммуноблотинг

- Подтверждающий тест
- Проводят с нативным вирусом
- Выявляют комплексы Ат с его Аг, используя гель-электрофорез

Процедура иммуноблоттинга



СКРИНИНГ

- Используют для Банков крови
- Это ПЦР
- - очень точный метод, который позволяет определить наличие вируса независимо от появления антител
- Есть серьезный недостаток - его сверхчувствительностью: ПЦР с достаточно большой вероятностью может дать ложноположительный результат.

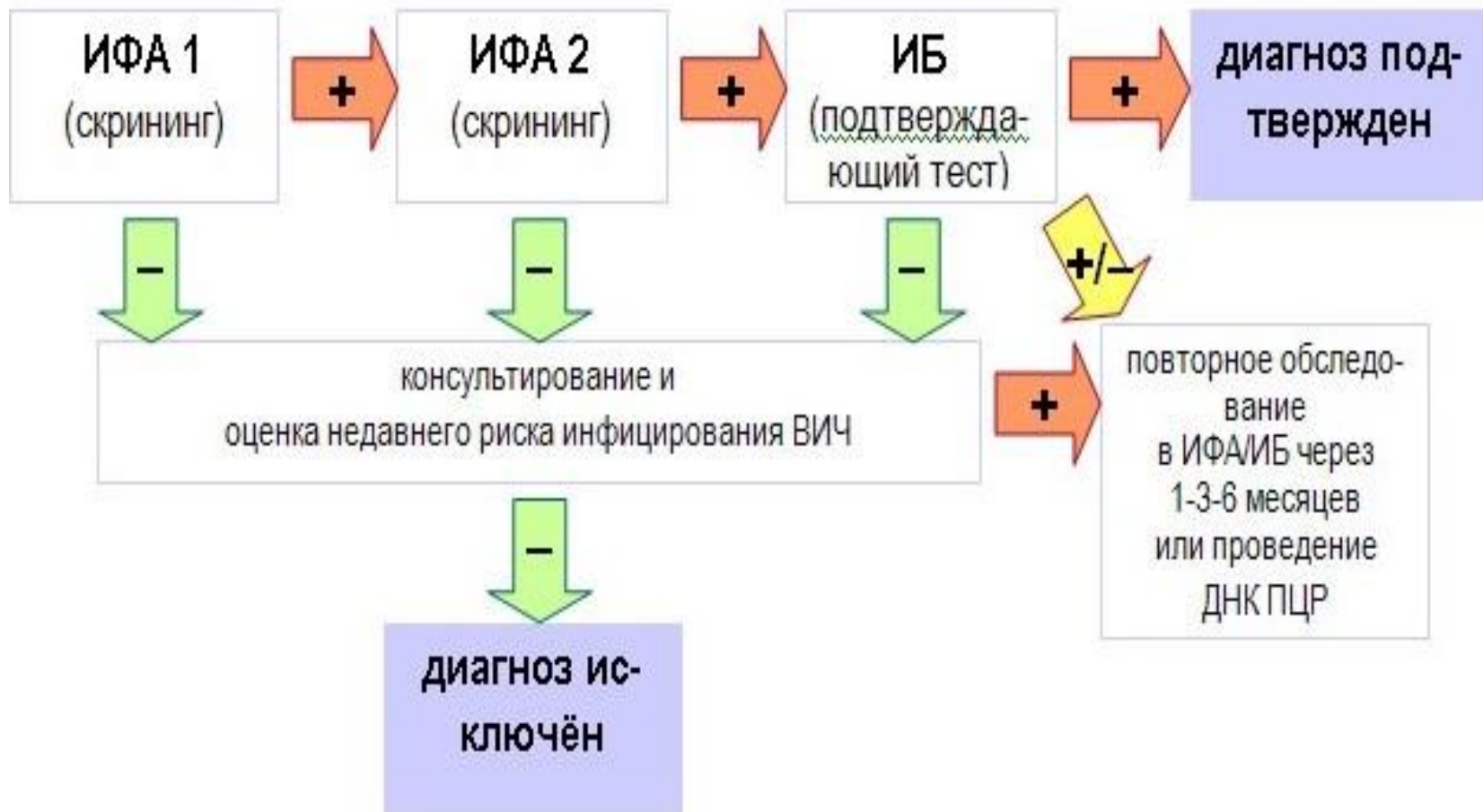
МОНИТОРИНГ

- ▣ Определения РНК вируса в плазме крови
- ▣ Также используют ПЦР

Посев

- Посев клеток, зараженных ВИЧ, в культуру *in vitro*
- Очень трудоемкий и кропотливый метод

Результат тестовой системы

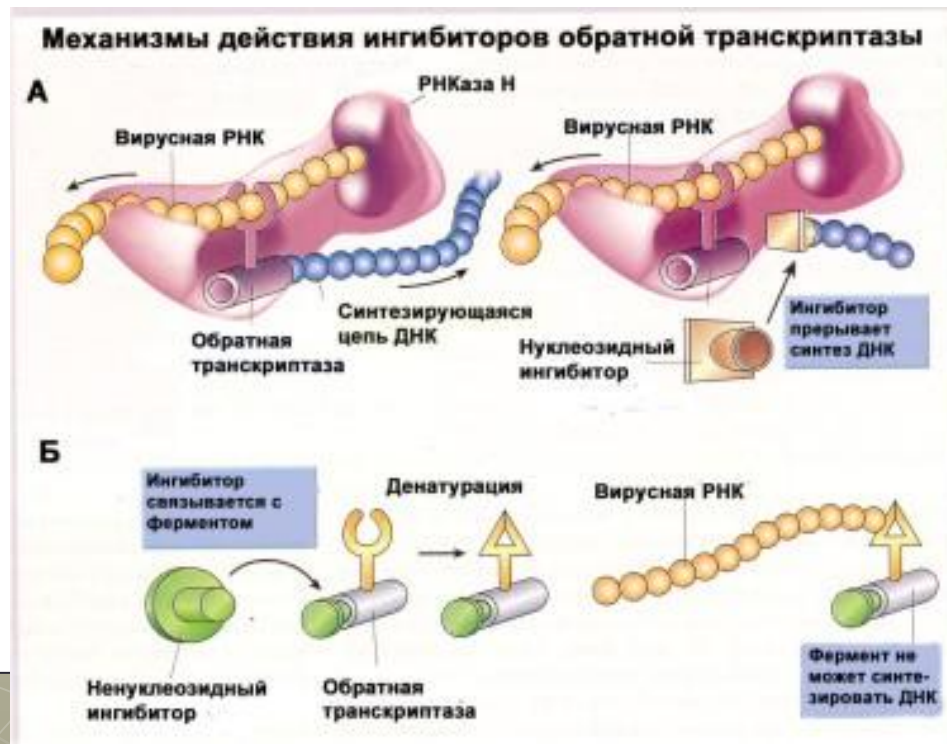


Лечение

- Основывается на применении противовирусных препаратов :
азидотимидин – действует как антиметаболит.
- Иммуномодулирующая терапия не нашла «серьезного» применения при СПИД:
интерферон а + азидотимидин.
- Применяемые средства дают временный эффект, ослабляют проявление сопутствующих заболеваний, улучшают качество жизни, но не оказывают радикального влияния на основной процесс, связанный с присутствием ВИЧ в организме.

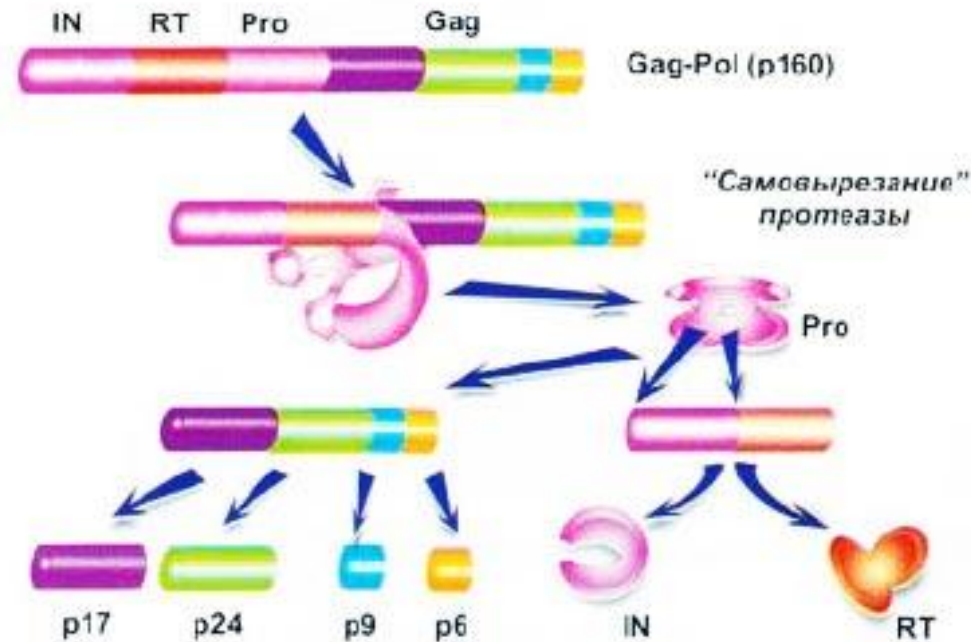
Механизм действия ингибиторов обратной транскриптазы

Эти препараты блокируют синтез цепочки ДНК из цепочки РНК вируса. Дело в том, что лишь цепочка ДНК может быть встроена в генетический аппарат клетки человека. Потому, если вирус не смог по цепочке РНК синтезировать соответствующую цепь ДНК, то и размножение вируса блокируется. Однако оказалось, что вирус достаточно быстро адаптируется к данным препаратам благодаря своей изменчивости. И, как правило, спустя 6 месяцев непрерывной терапии данным препаратом формируется большое количество устойчивых к нему форм вируса, которые ведут себя более агрессивно.



Действие ингибиторов протеаз

Данный препарат блокирует появление в инфицированной клетке человека белков, которые необходимы вирусу для размножения. Блокируя вирусный фермент протеазу, инфекционный агент теряет способность разрезать собственные молекулы белка – без чего невозможно запустить цикл воспроизведения вирусных частиц. Стоит отметить, что эффективность протеаз в разы превосходит эффективность препаратов блокаторов обратных транскриптаз. Но ВИЧ достаточно быстро приспосабливается и к этому медикаменту – непрерывные мутации вируса приводят к формированию армии устойчивых к этому препарату клонов.



Препараты

- Для преодоления возникающей устойчивости вируса в отношении используемых противовирусных препаратов в настоящее время используются курсовые комбинации нескольких видов антиретровирусных препаратов. Их комбинация и использование средств, усиливающих их совокупный эффект, приводит к значительному снижению концентрации вируса в плазме крови.

□ **Ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ**

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ)

Ламивудин, Азидотимидин плюс ламивудин, Ставудин, Зальцитабин, Диданозин, Абакавир.

Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ)

Невирапин, Эфавиренз.

□ **Ингибиторы фермента протеазы ВИЧ**

Индинавир, Нельфинавир, Саквинавир - Инвираза, Саквинавир – Фортоваза, Ритонавир

Спасибо за внимание

