

ENCEFALOPATIA PRI AIDS – ZVÝŠENÁ TVORBA CHEMOKÍNOV- β MONOCYTMÍ PO INFEKCII VÍRUSOM HIV TYPU 1: PRÍSPEVOK K MECHANIZMOM POSTIHNUTIA CNS

MAYER V., SCHMIDTMAYEROVÁ H.

AIDS ENCEPHALOPATHY HIV TYPE 1 INFECTION ALTERS CHEMOKINE- β EXPRESSION IN MONOCYTES: CONTRIBUTION TO THE MECHANISMS OF THE CNS INVOLVEMENT

The characteristic trait of the family of lentiviruses (Retroviridae) which includes the human immune deficiency virus (HIV), is the tendency to cause a subacute neurologic disease in their animal host. The neuraxis can be inflicted at all its levels. In the advanced stage of HIV disease, more than 60 percent of patients suffer from a clinically evident neurological dysfunction. Neuropathologic changes are demonstrated in 75–90 percent of them at autopsy. HIV enters the CNS during the early phase of infection. HIV replicates predominantly in the nervous tissue macrophages which serve also as intrathecal reservoirs of infection. HIV isolated from the CNS is usually macrophagotropic. Neural cells are not susceptible to a productive HIV infection, contrasting with the permissivity of activated astroglial cells. The neuropathological picture of the brain involvement is typical by the giant multinuclear cells, i.e. fused monocytes/macrophages, then neuronal loss and changes in the white matter. The clinical manifestations of CNS involvement (AIDS encephalopathy) in HIV disease are variable protean, frequently associated with dementia. The pathogenesis of the neurological disease remains elusive. The cells supporting the HIV replication in the CNS (microglia, monocytes, astroglia) do not play a major role in dementia development. The neurotoxicity of viral glycoproteins, virus-induced cytokines and a neurotoxin produced by CNS macrophages infected with particularly efficiently replicating HIV strains are being intensively studied. Dementia is associated with an increased virus load in the brain in the advanced stage of HIV disease. Neurotoxicity associated with HIV-infected microglial cells and macrophages activity remain to be considered, for the time being, as the most likely pathogenetic mechanism of neural dysfunction and injury. Our investigations have demonstrated that HIV infection of macrophages stimulate considerably the synthesis of MIP-1-alpha, MIP-1-beta RANTES chemokines (subgroup CC). These substances by their chemoattractant and activating properties may participate in the pathogenesis of HIV/AIDS encephalopathy, contributing to

Charakteristickou vlastnosťou čelade lentivírusov (Retroviridae), kam sa taxonomicky zaraďuje aj vírus imunitnej nedostatočnosti človeka (HIV), je tendencia spôsobovať u ich živočíšnych hostiteľov subakútne nervové ochorenie. Neuraxis môže byť postihnutá na všetkých jej úrovniach. Vyše 60 % pacientov v pokročilom štádiu ochorenia spôsobeného HIV trpí klinicky zjavnou dysfunkciou nervového systému. Neuropatologické zmeny sú vyskytujú pri autopsii u 75–90 % chorých. HIV preniká do CNS vo včasnej fáze infekcie. V nervovom tkanive sa pomnožujú v prvom rade bunky makrofágového pôvodu, ktoré sa súčasne stávajú intratekálnymi rezervoármi infekcie. Vírus izolovaný z postihnutého CNS je obvykle makrofágotropný. Nervové bunky nie sú vnímavé na produktívnu infekciu HIV na rozdiel od permisivity aktivovaných buniek astroglie. Pre neuropatologický obraz CNS postihnutého infekciou HIV sú typické obrovské viacjadrové bunky, ktoré vznikajú fúziou infikovaných monocytov/makrofágov, úbytok nervových buniek a zmeny bielej hmoty. Klinické manifestácie tohto procesu (encefalopatia pri AIDS) sú neobvyčajne rôznorodé, často sprevádzané demenciou. Patogenéza nervového ochorenia pri infekcii HIV ostáva zatiaľ neobjasnená. Pri rozvoji demencie nemajú dôležitú úlohu tie bunky CNS, v ktorých sa HIV pomnožuje (mikroglia, monocyty, astroglia). Intenzívne sa skúma neurotoxita vírusových glykoproteínov, cytokíny indukované vírusovou infekciou a neurotoxín syntetizovaný makrofágmi CNS, infikovanými kmeňmi HIV, ktoré sa osobitne dobre v nich replikujú. Demencia sa obvykle prejavuje v pokročilom štádiu ochorenia spôsobeného HIV, keď vírusová záťaž v mozgu narastá. Zdá sa, že neurotoxita, ktorá súvisí s aktivitami buniek mikroglie a makrofágov infikovaných HIV je nateraz najpravdepodobnejším patogenetickým mechanizmom pri vzniku dysfunkcie a poškodenia nervového systému. Naše štúdium ukázalo výraznú stimuláciu syntézy chemokínov podskupiny CC, MIP-1-alfa, MIP-1-beta a RANTES po infekcii HIV. Tieto látky svojimi chemoatraktantnými a aktivujúcimi vlastnosťami sa môžu zúčastňovať na patogenetickom procese pri vzniku a priebehu encefalopatie pri AIDS. Prispievajú k leukocytóze a zápalovým prejavom, zvyšujú počet buniek vnímavých na infekciu HIV a uľahčujú ich infekciu. Môžu takto prispievať k intratekálnemu šíreniu sa vírusu HIV. (Tab. 2, lit. 22.)

Kľúčové slová: HIV, makrofágy, CNS, demencia, imunopatogenéza, chemokíny.

Virologický ústav SAV v Bratislave
Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava
Address for correspondence: V. Mayer, MD, DSc, Dúbravská 9, 842 46 Bratislava, Slovakia.
Phone/Fax: +421.7.374 468

leucocytosis and inflammation, increasing thus the population of HIV-susceptible cells, facilitating their infection and enhancing finally the intrathecal spread of the virus. (Tab. 2, Ref. 22.)

Key words: HIV, CNS, macrophages, cytokines, dementia, immunopathogenesis, chemokines.

Bratisl Lek Listy 1997; 98: 330–334

Prevenia nákazy vírusom imunitnej nedostatočnosti človeka (HIV/AIDS) zaznamenala na niektorých úsekoch čiastkové úspechy, ale napriek intenzívnym snahám epidemické šírenie infekcie v globálnom meradle výrazne napreduje. V Európe sa zaznamenáva v niektorých krajinách istá tendencia k endemickosti ochorenia (napr. v severských krajinách), kým v južnej časti kontinentu šírenie nákazy vírusom HIV/AIDS typu 1 výrazne narastá. Spoločný program boja proti HIV/AIDS Organizácie Spojených Národov (UNAIDS) zaznamenáva doteraz v európskych krajinách celkovo vyše 190 000 prípadov AIDS, pričom odhad počtu osôb žijúcich s nákazou HIV je približne 450 000. V krajinách strednej Európy výskyt prípadov infekcie HIV trvale stúpa. Je preto pravdepodobné, že v blízkej budúcnosti sa aj u nás budeme častejšie stretávať s ochorením spôsobeným infekciou HIV/AIDS, vrátane postihnutia nervovej sústavy.

Vírus HIV (čelad *Retroviridae*, rod *Lentivirus*) preniká do CNS už v počiatočnom štádiu infekcie (Resnick a spol., 1988) a podporuje vznik subakútneho nervového ochorenia, ktoré obvykle progreduje (Price a Warley, 1991). CNS nie je však pritom jediným terčovým systémom pre replikáciu daného lentivírusu. Pri AIDS — klinicky zjavnom neskorom štádiu ochorenia spôsobeného HIV vychádzajú symptómy z primárneho poškodenia najmä imunitného systému.

Lentivírusy — kauzálni činitelia tzv. pomaly sa rozvíjajúcich vírusových nákaz sa vyznačujú osobitne v prípade HIV obzvlášť výrazným neurotropizmom, t.j. schopnosťou poškodzovať bunky nervového systému (Johnson, 1995). V skorom období po infekcii je nápadná neuroinvasivnosť HIV, t.j. schopnosť prenikať do CNS pri súčasnej nízkej neurovirulencii, t.j. schopnosti zapríčiniť nervové ochorenie. V pokročilom štádiu nákazy, už so symptómami AIDS, je v popredí zrejma neurovirulencia vírusu. Medzi typické patologické nálezy tu patrí významný úbytok nervových buniek napriek tomu, že HIV nie je neuronotropný, t.j. nemnoží sa dokázateľne v nervových bunkách. Čo je dominantnou príčinou tohto posunu, či dochádza napr. k zmene prevalentnej vírusovej populácie s iným tropizmom, alebo či je to jedna z komplikácií, pri ktorých je primárnu príčinou prehlbujúca sa imunitná nedostatočnosť, nie je dosiaľ jasné.

Doterajšie nálezy však naznačujú, že pri postihnutí CNS pôsobi dlhodobo, počas celého trvania nákazy u daného jednotlivca, komplex faktorov alebo procesov, výslednica ktorých sa v literatúre označuje širokým pojmom neurotoxicity. Takýmto faktorom sa napr. javia aj abnormity v tvorbe určitých cytokínov produkovaných v prvom rade infikovanými monocytmi alebo bunkami makrofágového pôvodu. V prípade nervového systému tu ide o mikroglia. Intratekálnu tvorbu cytokínov významne ovplyvňujú aj niektoré špecifické subjednotky častice HIV uvoľňované z extracelulárnych zreých viriónov alebo infikovanými bunkami do prostredia (Lantos, 1995).

Prv, ako uvedieme niektoré vybrané prípady takéhoto dejov, uvedieme širokú škálu a mimoriadnu variabilitu klinického obrazu, ktorými sa manifestuje infekcia CNS lentivírusom HIV.

Pritom je potrebné upozorniť, že v CNS pacienta s infekciou HIV sa takmer vždy, často aj paralelne, rozvíjajú, resp. exacerbujú

aj iné nákazy predtým napr. latentne prítomné. Najčastejšie tu prichádza do úvahy infekcia cytomegalovírusom alebo *Toxoplasma gondii* (Vinters a spol., 1989).

Polymorfný klinický obraz postihnutia CNS pri infekcii HIV

Prejavy infekcie HIV sa môžu prejavovať na všetkých úrovniach neuraxis, vrátane mozgu, mening, miechy, periférnych nervov a ďalších lokalizácií. Nervové ochorenie ako prvá manifestácia symptomatickej fázy nákazy HIV (AIDS) sa pozoruje u 20–40 % osôb, kým v pokročilej, neskoršej fáze nákazy má klinicky zreteľné nervové ochorenie až vyše 60 % pacientov.

Patologické nálezy v CNS sa vyskytujú pri autopsii v 90 % prípadov. Nedá sa teda vylúčiť, že pri dlhšom trvaní ochorenia, resp. prežitia niektorých postihnutých by časť týchto subklinicky prebiehajúcich chorobných procesov mohla progredovať a nakoniec sa prejaví aj symptomaticky (Spencer a Price, 1992).

HIV prechádza hematoencefalickou bariérou vo veľmi skorých štádiách infekcie charakteristickej vysokou virémiou (Resnick a spol., 1988). HIV pravdepodobne preniká do CNS súčasne s postihnutím iných telesných systémov, napríklad imunitného systému. V izolačnom pokuse sa podarilo HIV preukázať v tkanive CNS, periférnych nervov a v mozgovomiechovom moku počas všetkých štádií infekcie, vrátane obdobia sérokonverzie z negativity do positivity a dlhej bezpríznakovej fázy ochorenia spôsobeného HIV. Opísaná skorá infekcia CNS prebieha zvyčajne asymptomaticky, hoci v niektorých prípadoch sa zo strany nervového systému zaznamenala akútna aseptická meningitída, encefalitída alebo periférna polyneuropatia (Berger a Kaderman, 1995).

Zdá sa užitočným deliť ochorenia CNS na: a) také, o ktorých sa predpokladá, že priamo súvisia s infekciou HIV, aj keď ich patogenéza nie je dosiaľ definitívne objasnená, b) ochorenia s presne identifikovateľnou príčinou, napr. oportúnne nákazy (vírusy, baktérie, choroboplodné huby, prvoky) alebo neoplázie, či vaskulárne príhody. Pri oportúnnych afekciách súvisí ich vznik jasne s narušením efektorových imunitných mechanizmov, najmä bunkami sprostredkovanej zložky imunitnej odpovede, ku ktorému dochádza počas nákazy HIV/AIDS. Najčastejšie tu ide o vzplanutie nákaz latentne prítomných, resp. perzistujúcich už dlhšie. Príkladom tu môže slúžiť infekcia ľudským papovavírusom, pôvodcom progresívnej multifokálnej leukoencefalopatie (Berger a spol., 1987).

Pomaly progredujúce nervové ochorenie so zhoršujúcou sa demenciou pri pacientoch v neskorších štádiách ochorenia spôsobeného HIV upútava pozornosť najviac. Pre široké príznakové spektrum sa opisovalo z rôznych hľadísk a takisto sa rôzne označovalo (Mayer a spol., 1993). Uvedieme niektoré z nich: subakútna vírusová encefalitída, HIV encefalopatia, encefalopatia pri AIDS, komplex demencie pri AIDS, demencia pri AIDS, kognitívno-motorický komplex asociovaný s nákazou HIV a podobne. V súvislosti s infekciou HIV sa uvádzajú aj ďalšie nervové ochorenia označované ako HIV leukoencefalopatia, myopatia s leukoencefalopatiou, poliodystrofia pri AIDS, syndróm periférnej polyneuropatie asociovaný s nákazou HIV a ďalšie (McGuire a So, 1994; Berger a Kaderman, 1995). Nie je známe, že by išlo o určité klinické príznakové kontinuum. Ako sme uviedli, vyše 60 % terminálnych pacientov s AIDS má demenciu rôzneho stupňa, ktorá máva najčastejšie subkortikálny charakter. Može sa s ňou spájať aj široká škála psychiatrických manifestácií. Pozornosť si zaslúži návrh používať pre rámcové označenie tohto mimo-

Tab. 1. Tvorba chemokínov MIP-1-alfa, MIP-1- β a RANTES v časovej závislosti od infekcie monocytových kultúr makrofágotropným kmeňom vírusu HIV typu 1.**Tab. 1. Time-dependent synthesis of MIP-1 alpha, MIP-1 β and RANTES chemokines after infection of monocyte cultures with macrophagotropic HIV type 1 strain.**

Deň po infekcii	MIP-1-alfa* kultúry		MIP-1-beta* kultúry		RANTES* kultúry	
	infikované	neinfikované	infikované	neinfikované	infikované	neinfikované
Day after infection	MIP-1-alpha* cultures		MIP-1-beta* cultures		RANTES* cultures	
	infected	uninfected	infected	uninfected	infected	uninfected
3.	200	184	318	314	31	31
9.	3779	98	833	98	105	31
11.	7560	75	1568	203	245	31
14.	9703	158	1367	215	178	31

* Sledované chemokíny boli kvantifikované enzýmovou imunoanalýzou a ich hladiny sú vyjadrené v pg/ml živného prostredia kultúr.

* Respective chemokines were measured in culture nutrient medium by ELISA and expressed in pg/ml. No synthesis of chemokines was detected in monocyte cultures inoculated by heat-inactivated virus or in cultures inoculated with HIV in the presence of inhibitory concentrations of azidothymidine.

riadne širokého spektra nervových komplikácií infekcie HIV názov, ako napríklad neurologický AIDS, neuroAIDS.

Neuropatologický obraz postihnutia CNS pri infekcii HIV

Pre progredujúce postihnutie CNS nákazou HIV sú z neuropatologického hľadiska (Budka, 1991) typické obrovské mnohojadrové bunky/syncýciá, ktoré vznikajú fúziou infikovaných monocytov, resp. makrofágov. Cytologické analýzy ukazujú nápadný úbytok (18–38 %) nervových buniek (Wiley a spol., 1991). Keďže však nervové bunky nie sú vnímateľné na infekciu HIV, ich úbytok sa nedá považovať ako dôsledok produktívnej vírusovej infekcie. Mimoriadne zaujímavé sú nálezy výskytu provírusu HIV v nervových bunkách (Everall a spol., 1993), vyžadujú si však rozsiahlejšie potvrdenie. Pozoruje sa poškodenie dendritov a synáps spolu s ich úbytkom. Často sa vyskytujú špongioformné zmeny, no bez prítomnosti príónového proteínu. Napriek zreteľným patologickým zmenám v bielej hmote mozgu nie sú oligodendrocyty, tiež nevnímateľné na infekciu HIV, morfológicky výraznejšie poškodené (Epstein a Gendelman, 1993). Infekciu CNS vírusom HIV sprevádza rozsiahla astrocytóza. Približne 20 % reaktívnych astrocytov (Lantos, 1995) preukazuje známky infekcie HIV dokázateľné napríklad imuno fluorescenčným vyšetrením alebo in situ polymerázovou reťazovou reakciou. HIV sa teda intenzívne pomnožuje v bunkách mikroglie, monocytoch a obrovských mnohojadrových bunkách, vrátane aktivovaných astrocytov. Osobitne zaujímavý je výskyt molekuly CD4, hlavnej receptorovej štruktúry pre HIV na povrchu cytoplazmatickej membrány nervových buniek hipokampu, no metódy, ktoré sú v súčasnosti k dispozícii, ich infekciu nedetegovali (Shapshak, osobné údaje). Úloha galaktozylceramidu, alternatívneho receptora HIV pri niektorých druhoch buniek CNS, nie je zatiaľ doriešená, aj keď je napríklad známe, že pri infekcii astrocytov sa neuplatňuje receptor CD4. Podobne koreceptora pre HIV, ktorý je súčasne aj receptorovou substanciou (CC-CKR-5) pre chemokíny (Weiss a Clapham, 1996).

Imunopatologické mechanizmy dysfunkcie pri infekcii CNS vírusom HIV

Molekulové mechanizmy dysfunkcie mozgu, miechy alebo periférneho nervového systému pri infekcii HIV nie sú zatiaľ defi-

nitívne objasnené. Nezodpovedanou ostáva základná otázka, ako spôsobuje infekcia HIV taký závažný neurohistologický a klinický obraz. Uviedli sme, že nervové bunky nepomnožujú vírus HIV a v mozgu produkujú vírus len bunky mikroglie, monocyty, obrovské mnohojadrové bunky a časť reaktívnych astrocytov.

Pozornosť sa však v poslednom čase sústreďuje práve na bunky makrofágového pôvodu považované pre perzistentný charakter ich infekcie za rezervoáry vírusu v CNS (Tyor a spol., 1992). Aj keď infikované makrofágy majú zachované niektoré zo svojich biologických funkcií, viaceré ďalšie sú dlhodobo pretrvávajúcou infekciou poškodené. Alterovaná môže byť súhra syntézy cytokínov, čo prispieva k narušeniu ich kaskád a komunikačných sietí medzi bunkami imunitného systému navzájom, ako aj s bunkami napr. nervového systému. Nové nálezy (Gelbard a spol., 1995) navyše verifikované dokázali niekoľko druhov solubilných látok s nízkou molekulovou hmotnosťou syntetizovaných makrofágmami, infikovaných makrofágotropnými kmeňmi HIV, teda variantmi izolovanými obvykle z postihnutého CNS. Tieto látky produkované pri kokultivácii s astrogliou boli výrazne toxické pre nervové bunky in vitro. Niektoré práce tu uvažujú o mechanizme neurotoxického účinku v spojitosti s poruchami napr. intracelulárných hladín kalcia (Giuliam a spol., 1991).

Makrofágy kokultivované s astrogliou a infikované makrofágotropným kmeňom HIV produkujú aj významné množstvá faktora aktivujúceho trombocyty, bioaktívneho lipidu, nielen výrazne toxického pre nervové bunky in vitro, ale stimulujúceho aj syntézu faktora nekrotizujúceho tumory (TNF-alfa). V kultúrach monocytov infikovaných HIV dochádza na rozdiel od neinfikovaných buniek po stimulácii LPS (lipopolysacharid) k nadprodukcii TNF- α (Gendelman a spol., 1995). Z hľadiska jeho účinku je zaujímavé, že aktivuje mikroglia, ktorá potom produkuje zvýšené množstvá toho istého cytokínu. TNF- α bol v koncentrácii 20 pg/ml v pokuse cytotoxický pre nervové bunky (Wilt a spol., 1995). TNF- α je dôležitý aj z ďalších aspektov. Už sme uviedli, že počas neskorších štádií ochorenia HIV prebieha vo väčšine buniek mikroglie produktívna infekcia, pričom exprimujú aj TNF-alfa, ktorý podporuje replikáciu HIV stimuláciou tvorby tzv. NF-kB proteínu, ktorý zvyšuje transkripciu HIV v infikovaných monocytoch a mikroglii. V týchto bunkách dochádza potom k tvorbe zvýšených množstiev interle-

Tab. 2. Detekcia HIV-1 DNA a RNA a bunkovej RNA in situ polymerázovou reakciou v rezoch tkaniva šedej kôry mozgu.
Tab. 2. Detection of HIV type 1 DNA and RNA and cellular RNA by in situ polymerase chain reaction in sections of cerebral cortical gray matter tissue.

Pacient Patient	Diagnóza Diagnosis	Pozitívne bunky v sériových rezoch* Positive cells in serial sections*	HIV-1 DNA	HIV-1 RNA	MIP-1-a RNA	MIP-1-beta RNA
1	encefalopatia pri AIDS, demencia AIDS encephalopathy dementia		+++	+++	++	++
2	AIDS (bez príznakov demencie) AIDS, no dementia		+	o	o	o
3	nie infikovaný s HIV no HIV-1 infection		o	o	o	o

* Počet pozitívnych buniek (hybridizácia po amplifikácii polymerázovou reakciou) sa určoval analýzou sériových rezov. Ak sa v poli mikroskopu pri zväčšení 200-krát zistilo 1—10 pozitívne reagujúcich buniek, takýto prípad sa označil +, ak ich bolo 11—25 buniek ++, viac ako 25 pozitívnych buniek +++. Číatočne podľa Schmidtmayerovej a spol. (1995).

* The number of positive cells (hybridization after amplification of respective material by polymerase chain reaction) was determined by analyzing serial sections. If 1—10 positive cells were identified in a x200 field, the case was scored as +, 11—25 positive cells ++, and >25 positive cells +++. Partially according to Schmidtmayerová et al. (1995).

ukínu-1- β , ktorý stimuluje napríklad reakciu astroglie dôležitú pre diskutované interakcie s nervovými bunkami.

Mikroglia produkovaný TNF- α je bezprostredne cytotoxický pre oligodendrocyty. Je zaujímavé, že infikované makrofágy a infikovaná mikroglia sú často lokalizované vo vyššej denzite v podkôrovej bielej hmote, v bazálnych gangliách a v mozgovom kmeni, čo korešponduje s oblasťami demyelinizácie a vakuolizácie a nasvedčuje tu dysfunkcii oligodendrocytov pri tvorbe myelínu.

Závažným faktorom pri poškodení CNS je neurotoxické pôsobenie povrchového antigénu HIV, glykoproteínu s molekulovou hmotnosťou 120 000 (gp120). Uvoľňuje sa zo zreých viriónov a z povrchov infikovaných buniek (Lipton, 1991). Pikomólové množstvá gp 120 spôsobujú za prítomnosti subletálnych množstiev extracelulárneho glutamátu usmrtenie nervových buniek in vitro. Toxický účinok tu pravdepodobne súvisí so zvýšením intracelulárnej hladiny vápnika nervových buniek vystavených účinku gp120. O zmenách koncentrácie kalcia je známe, že môžu pôsobiť ako intracelulárny signál iniciujúci mechanizmy geneticky programovaného odumretia buniek. Pre nervové bunky in vitro je toxický aj rekombinantný gp120. Tieto nálezy sú významné preto, lebo rekombinantný gp120 je hlavným komponentom dnes skúmaných experimentálnych vakcín overovaných už terénymi sledovaniami.

Nateraz je dôležité zistenie, že pri vzniku neurologických komplikácií počas ochorenia spôsobeného HIV ide o komplexné situácie, kde pre tvorbu napr. neurotoxických faktorov HIV infikovanými makrofágmi a mikroglia sú potrebné interakcie medzi mikroglia, astrocytmi a samými makrofágmi/monocyty. Teda rep-

likácia HIV a špecifické subjednotky vírusu spolu s určitými cytokínmi pravdepodobne iniciujú intratekálne komplexný systém bunkových interakcií, dôsledky ktorých môžu viesť k dysfunkcii a poškodzovaniu/odumieraniu nervových buniek bez toho, aby sa v nich pomnožoval vírus (Lantos, 1995). Neurotoxická prejavujúca sa v súvislosti s aktivitami mikroglie a makrofágov pri HIV infekcii v nervovom tkanive zostáva dosiaľ najpravdepodobnejším patogenetickým mechanizmom encefalopatie pri AIDS. Poukazujeme iba na vybrané situácie. Látok s neurotoxickým účinkom vzniká pri replikácii HIV v CNS viac (Lantos a spol., 1995).

Zápalové mediátory pri postihnutí CNS infekciou HIV

Zdá sa, že pri komplexných dejoch vedúcich pri infekcii HIV napokon k dysfunkcii a poškodeniu CNS majú úlohu aj látky označované ako mediátory zápalu. Tieto rozpustné látky pôsobia lokálne napr. v mieste infekcie a uplatňujú sa pri regulácii zápalového procesu (Ferenčík, 1995). Delia sa na exogénne a endogénne. Doterajšie údaje zo štúdií postihnutia nervového systému infekciou HIV svedčia o významnej úlohe endogénnych zápalových mediátorov. V nižších koncentráciách aktivujú bunky imunitného systému a vo vyšších koncentráciách tieto bunky a tkanivá poškodzujú. Uviedli sme tu ako príklad faktor aktivujúci trombocyty (PAF), TNF- α a neurotoxické faktory produkované monocytmi za osobitných podmienok infekcie.

Pri štúdiu okolností zúčastňujúcich sa na poškodení CNS pri AIDS sa doteraz venovalo menej pozornosti prozápalovým cytokínom označovaným ako chemokíny. Pôsobia ako chemotaktické a imunomodulačné faktory na špecifické subpopulácie buniek zúčastňujúce sa na zápalovej reakcii. Zvyšovanie počtu monocytov a T-lymfocytov vnímavých na HIV, v postihnutom tkanive a ich aktivácia, uľahčuje nielen replikáciu etiologického agensu, ale zvyšujú lokálne aj celkové množstvo zreleho infekčného vírusu, resp. koncentráciu jeho neurotoxických komponentov.

Podľa štruktúry sa chemokíny delia na podskupiny C-X-C (α), CC (β) a C.

Do podskupiny alfa-chemokínov patrí interleukín-8, neutrofilový aktivačný proteín-2, trombocytový faktor a ďalšie. Sú chemoatraktčné v prvom rade pre neutrofilné leukocyty.

Do podskupiny beta-chemokínov patrí makrofágový zápalový proteín-1 (MIP-1- α a MIP-1- β), RANTES, monocytový chemoatraktčný proteín-1 (MCP-1), MCP-2, MCP-3. Pôsobia chemoatraktčne na makrofágy, T-bunky, eozinofilné a bazofilné granulocyty.

MIP-1- α , MIP-1- β a RANTES vzbudzujú v súčasnosti zvýšený záujem, pretože boli identifikované aj ako inhibítory replikácie HIV prítomné v supernatantoch kultúr cytotoxických T-lymfocytov. Tieto beta-chemokíny sa viažu na novoobjavený ko-receptor HIV prítomný na povrchu buniek vnímavých na infekciu primárnymi izolátmi HIV (Weiss a Clapham, 1996). MIP-1- α je chemotaktický viac pre T_C-lymfocyty a B-lymfocyty, kým MIP-1- β pre T_H-lymfocyty. Obidva peptidy pôsobia chemoatraktčne na makrofágy a sú výrazne pyrogénne.

Pre pokusy boli použité kultúry purifikovaných monocytov získaných leukoferézou krvi zdravých darcov. Po infekcii makrofágotropným kmeňom vírusu HIV_{ADA} začali bunky in vitro v zvýšenej miere syntetizovať beta-chemokíny, pričom k výraznému zvyšovaniu ich hladiny dochádzalo na 9. deň po infekcii. Hladiny MIP-1- β a RANTES boli spravidla najvyššie na 11. deň po infekcii,

kým hodnoty pre MIP-1- α sa zvyšovali až do 14. dňa po infekcii, keď boli pokusy ukončené (tab. 1).

Tvorba sledovaných beta-chemokínov jasne súvisela s infekciou makrofágov vírusom HIV, pretože ich prítomnosť sa nedokázala v supernatante neinfikovaných kultúr monocytov, kultúr infikovaných teplom inaktivovaným HIV, ani kultúr infikovaných HIV za prítomnosti 10 μ M koncentrácie azidotymidínu inhibujúceho replikáciu vírusu.

V prítomnosti TNF- α (hladiny ktorého sa v mozgovomiechovom moku signifikantne zvyšujú počas rozvinutého AIDS), tvorba beta-chemokínov infikovanými makrofágmi bola až 4-násobne vyššia ako v paralelných kultúrach, nie však stimulovaných TNF- α (Schmidtmayerová a spol., 1995). Sledované beta-chemokíny syntetizované makrofágmi po infekcii HIV boli biologicky aktívne.

Pretože v mozgovom tkanive pacientov s diagnózou encefalopatie pri AIDS sa pozoruje značné množstvo HIV-infikovaných aktivovaných makrofágov a obdobne aj mikrogliových buniek, zdalo sa účelným analyzovať vzorky CNS odobraté post mortem od pacientov s infekciou HIV na prítomnosť chemokínovej mRNA. Za týmto cieľom sme použili in situ polymerázovú reťazovú reakciu aplikovanú na sériových rezoch tkaniva (Schmidtmayerová a spol., 1995).

V materiáloch od pacientov s encefalopatiou pri AIDS (a demenciou) bola zreteľne prítomná mRNA pre MIP-1- α v 3 prípadoch z 5 a pre MIP-1- β v 4 prípadoch z 5 sledovaných.

Pri pacientoch s HIV infekciou, ale bez postihnutia CNS sme pozitívne výsledky získali iba v 1 zo 4 vyšetovaných prípadov. Vyšetrenie materiálu od 3 pacientov nie infikovaných HIV nemalo pozitívne výsledky. Reprezentatívne výsledky uvádzame v tabuľke 2.

V našej štúdii sme ukázali, že infekcia makrofágov kultivovaných in vitro makrofágotropným kmeňom HIV indukuje zvýšenú tvorbu beta-chemokínov (MIP-1-alfa, MIP-1-beta, RANTES). Ich tvorba súvisí s replikáciou vírusu HIV v týchto terčových bunkách, dlhodobých rezervoárov infekcie v organizme. Zvýšená intratekálna tvorba beta-chemokínov môže in vivo chemoatraktčným a imunomodulačným účinkom prispievať k zvyšovaniu počtu buniek vnímavých na HIV a na ich infekciu. Prozápalové chemokíny zúčastňujúce sa na regulácii zápalových procesov môžu narušovať hematoencefalickú bariéru, uľahčovať vírusovú inváziu CNS, resp. šírenie sa infekcie v nervovom tkanive, a tak participovať na progresii ochorenia spôsobeného HIV.

Literatúra

Berger J.R., Kaderman R.: HIV encephalopathy: clinical and diagnostic considerations. S. 3–25. In: Major E.O., Levy J.A. (Eds.): Technical Advances in AIDS Research in Human Nervous System. New York, Plenum Press 1995.

Berger J.R., Kasovitz B., Post M.J.: Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with human immunodeficiency virus infection, A review of the literature with a report of sixteen cases. *Ann. Int. Med.*, 107, 1987, s. 78–87.

Budka H.: Neuropathology of human immunodeficiency virus infection. *Brain Pathol.*, 1, 1991, s. 163–175.

Epstein L.G., Gendelman H.E.: Human immunodeficiency virus type 1 infection of the nervous system: pathogenetic mechanisms. *Ann. Neurol.*, 33, 1993, s. 429–441.

Everdal I., Luthert P., Lantos P.: A review of neuronal damage in human immunodeficiency virus infection: its assessment, possible mecha-

nisms and relationship to dementia. *J. Neuropathol. exp. Neurol.*, 52, 1993, s. 561–575.

Ferenčík M.: Molekulový a bunkový mechanizmus zápalovej reakcie. *Bratisl. lek. Listy*, 96, 1995, s. 509–519.

Gelbard H.A., Dzenko K.A., Wang L., Tolley A., Epstein L.: HIV-1 derived neurotoxic factors: effect on human neuronal cultures. S. 61–71. In: Major E.O., Levy J.A. (Eds.): Technical Advances in AIDS Research in Human Nervous System. New York, Plenum Press 1995.

Giuliam D., Voca K., Noonan C.A.: Secretion of neurotoxins by mononuclear phagocytes infected with HIV-1. *Science*, 250, 1991, s. 1593–1595.

Johnson R.T.: Technical advances and the challenge of HIV-related neurological diseases. S. 363–365. In: Major E.O., Levy J.A. (Eds.): Technical Advances in AIDS Research in Human Nervous System. New York, Plenum Press 1995.

Lantos P.: Cellular and molecular pathology of novel cerebral diseases in AIDS. S. 27–40. In: Major E.O., Levy J.A. (Eds.): Technical Advances in AIDS Research in Human Nervous System. New York, Plenum Press 1995.

Lipton S.A.: HIV-related neurotoxicity. *Brain Pathol.*, 1, 1991, s. 193–208.

Mayer V., Mitrová E., Baum M.K.: Subakútna encefalopatia pri infekcii vírusom imunitnej nedostatočnosti typu 1: epidemiológia ochorenia a mechanizmy patogenézy. *Lek. Obzor*, 42, 1993, s. 32–39.

McGuire D., So Y.T.: Neurologic dysfunction: Overview. S. 5.6.1–5.5.13. In: Cohen P.T., Sande M.A., Volberding P.A. (Eds.): The AIDS Knowledge Base. Boston, Little, Brown and Co., 1994.

Price R.W., Warley J.M.: Neurological complications of HIV-1 infection and AIDS. S. 489–505. In: Broder S., Merigan T., Bolognesi D. (Eds.):

Textbook of AIDS Medicine. Baltimore, Williams and Wilkins 1994.

Resnick L., Berger J.R., Shapshak P.: Early penetration of the blood-brain barrier by HIV. *Neurology*, 38, 1988, s. 9–14.

Schmidtmayerová H., Nettet H., Nuova G., Raabe T., Flanagan C.R., Dubrovsky L., Gendelman H., Bukrinsky M.: Human immunodeficiency virus type 1 infections alters chemokine b peptide expression in human monocytes: implication for recruitment of leukocytes in brain and lymph nodes. *Proc. Soc. Acad. Sci. USA*, 92, 1995, s. 1361–1366.

Spencer D.C., Price R.W.: Human immunodeficiency virus and the central nervous system. *Amer. Rev. Microbiol.*, 46, 1992, s. 655–693.

Tyor W.R., Glass J.D., Griffin J.W.: Cytokine expression in the brain during the acquired immunodeficiency syndrome. *J. Neuroimmunol.*, 23, 1992, s. 340–350.

Vinters H.V., Knock M.K., Ho H.W.: Cytomegalovirus in the nervous system of patients with the acquired immune deficiency syndrome. *Brain*, 112, 1989, s. 245–268.

Weiss R., Clapham P.R.: Hot fusion of HIV. *Nature*, 381, 1996, s. 647–648.

Wiley C.A., Mosliak E., Morey M.: Neocortical damage during HIV infection. *Ann. Neurol.*, 29, 1991, s. 651–666.

Wilt S.G., Zhou J.M., Wesseligh S., Dubois-Dalcq M.: Tumor necrosis factor alpha derived from human microglia enhances HIV-1 replication and is toxic for rat oligodendrocytes in vitro. S. 163–176. In: Major E.O., Levy J.A. (Eds.): Technical Advances in AIDS Research in Human Nervous System. New York, Plenum Press 1995.