

Jacek Juszczak

Patogeneza zakażenia HIV-1 i AIDS

AIDS (skrót od angielskich słów *acquired immune deficiency syndrome*) jest chorobą wywołaną przez ludzkiego wirusa upośledzenia odporności (HIV – *human immunodeficiency virus*). Przebiega pod postacią zakażeń drobnoustrojami oportunistycznymi, podostrego zapalenia mózgu i/lub nowotworów typu mięsak Kaposiego, chłoniak niezmaczy i inne. Mimo bardzo intensywnych badań, zarówno w zakresie wirusologicznym, jak i immunopatogenetycznym, do tej pory nie wyjaśniono wszystkich mechanizmów oddziaływania HIV-1. W największym skrócie jest to wywoływanie dysregulacji odpowiedzi odpornościowej aż do całkowitego jej zniszczenia. Skutki zakażenia HIV-1 można określić jako bezpośrednie i pośrednie. Bezpośrednie powodują zaburzenia odpornościowe, te zaś są pośrednim podłożem zakażeń drobnoustrojami oportunistycznymi i rozwoju nowotworów. Patogenetyczne podłoże zakażenia HIV-1 zostanie poniżej przedstawione tylko w zarysie, z uwzględnieniem najważniejszych wątków. Szczegółowy opis znanych faktów, powiązań między nimi oraz interpretacji wymaga bardzo obszernego opracowania. Tego rodzaju ujęcia czytelnik znajdzie w piśmiennictwie specjalistycznym (monografie, artykuły).

Dwa wirusy HIV

Znane są dwa wirusy HIV: HIV-1 oraz HIV-2, posiadające w 40–60% homologiczne sekwencje aminokwasów.

HIV-1 występuje w kilkunastu genotypach. Są one oznaczone kolejnymi literami od A do K (łącznie należą do grupy podtypów M) oraz literą O dla najbardziej zróżnicowanego w porównaniu z pozostałymi (55–70% homologii z podtypami grupy M). Podtyp O i niedawno opisana grupa „N” (*new*) występują przede wszystkim w Afryce Zachodniej. Poza tym w ostatnich latach wykryto liczne rekombinanty określane jako CRF (*circulating recombinant forms*), o mozaikowej strukturze różnych podtypów; głównie to łączące cechy podtypów A i E (CRF01_A) oraz A i G (CRF02). W niektórych regionach (Azja) rekombinanty mogą stanowić 20% zidentyfikowanych wirusów HIV-1. Występowanie podtypów umożliwia śledzenie dróg rozprzestrzeniania się zakażenia. W Europie Środkowej i Wschodniej

występują podtypy A i B, w Zachodniej – B, w Ameryce Północnej – B, a największe zróżnicowanie dotyczy obszarów Afryki Subsaharyjskiej: A, C, D, F, G, H, J, K. W skali globalnej dominuje podtyp C (około 60%). Kliniczne znaczenie podtypów nie jest jasne. Zarejestrowano natomiast szybszy przebieg choroby u zakażonych jednocześnie dwoma podtypami. Częściej obserwuje się współzakażenia niż nadkażenia.

Zakażenia HIV-2 występują przede wszystkim w Afryce Zachodniej, lecz na niewielką skalę stwierdza się je także w innych rejonach świata. Jego infekcyjność jest 5–8 razy mniejsza w porównaniu z HIV-1. Rzadko przynosi się drogą wertykalną. Powoduje mniejszą wiramię i wolniejszą dynamikę zmniejszania się liczby limfocytów CD4+. Zakażenie tym wirusem o wiele wolniej, w porównaniu z infekcją HIV-1, doprowadza do rozwoju AIDS. Wiele osób (w Afryce Zachodniej) jest jednocześnie zakażonych HIV-1 i HIV-2. Z punktu widzenia klinicznego istotne jest to, że HIV-2 nie wykazuje wrażliwości na NNRTI (patrz rozdział o leczeniu zakażeń HIV-1) i może mieć wiele mutacji powodujących oporność na inhibitory proteazy.

HIV-1 i HIV-2 są retrowirusami. Mają one unikalny enzym, odwrotną transkryptazę dokonującą transkrypcji wirusowego RNA na dwuniciowy DNA (odwrotna transkrypcja; dlatego inna nazwa enzymu brzmi rewertaza). DNA HIV-1 ulega integracji z chromosomem zakażonej komórki dzięki aktywności integrazy. W ten sposób może przetrwać lata i nie uda się go stamtąd wykorzenić za pomocą żadnego znanego obecnie środka przeciwwirusowego.

Wirion ma średnicę 110–130 nm. Posiada osłonkę lipidową oraz oddzielony warstwą macierzy rdzeń białkowy (kapsyd). Osłonka lipidowa zawiera fragmenty błony komórkowej gospodarza z jego białkami: MHC-I, MHC-II, ICAM-1. Zawiera przezbłonową glikoproteinę gp41 oraz połączoną z nią gp120 (liczby oznaczają masę cząsteczkową w tysiącach daltonów, a więc gp41 to glikoproteina o masie 41 tys. daltonów). Obie te struktury tworzą jednostkę funkcjonalną *env* gp160. Jest ona niezbędna do rozpoznawania receptorów komórkowych oraz bierze udział w procesie infekcyjnym. Macierz otaczająca rdzeń zawiera białko p17. Kapsyd jest zbudowany z białka p14 w połączeniu z białkami p1, p6 i p7.

W rdzeniu znajdują się dwie niesegmentowane nici (+)ssRNA o długości 92 knt każda oraz enzymy: dwie cząsteczki odwrotnej transkryptazy (p51/p66) oraz po jednej cząsteczce proteazy (p11) i integrazy (p32). Genom zawiera geny strukturalne i regulacyjne. Geny strukturalne (o symbolach: *pol*, *gag* i *env*) kodują białka niezbędne do utworzenia rdzenia (*gag*) i otoczki (*env*) oraz odtworzenia rewertazy (*pol*). Każdy z nich koduje duży

prekursorowy łańcuch polipeptydowy, rozcinany przez komórkową lub wirusową proteazę, w wyniku czego powstają mniejsze białka wchodzące w skład cząstki HIV-1.

Produktami genu *gag* jest poliproteina o m.cz. 55 kDa, z której po cięciu przez proteazę powstają białka strukturalne macierzy, kapsydu i nukleokapsydu. W podobny sposób, po cięciu enzymatycznym poliproteiny kodowanej przez gen *pol*, powstają trzy enzymy wirusa: odwrotna transkryptaza, proteaza i integraza. Poza tym w genomie znajduje się sześć enzymów czynnościowych (regulatorowych, pomocniczych): *tat*, *rev*, *nef*, *vir*, *vpr* i *vpu*.

Geny kodujące białka strukturalne i czynnościowe umieszczone są pomiędzy długimi powtarzającymi się sekwencjami nukleotydów (LTR – *long terminal repeats*), posiadającymi rejony regulujące transkrypcję prowirusa i mające własności zaburzania komórkowych mechanizmów regulacyjnych, przez co nasila się ekspresja genów wirusowych.

Charakterystyczną cechą HIV-1 jest duża zmienność antygenowa. Izolaty wirusa mogą się różnić między sobą nawet do 20% składu aminokwasów kodowanych przez gen *env*. Cecha ta ma duże znaczenie patogenetyczne. Powoduje, iż HIV-1 unika w znacznej mierze odpowiedzi immunologicznej. Przede wszystkim dotyczy to przeciwciał neutralizujących. Przyczyną zmienności wirusa są błędy w aktywności odwrotnej transkryptazy oraz brak mechanizmów jej korygujących.

Wrażliwość na czynniki fizykochemiczne

HIV-1 jest bardzo wrażliwy na czynniki fizykochemiczne. Znajdując się w roztworze, ginie w temperaturze 56 °C po 10–20 min. W zliofilizowanych białkach (np. czynnik VIII) ulega inaktywacji po 2 godzinach w temperaturze 68 °C. Jest wrażliwy na niskie stężenia związków chloru, formaliny i aldehydu glutarowego. Etanol i alkohol izopropylowy w stężeniach 40–70%, woda utleniona, fenole i paraformaldehyd bardzo szybko inaktywują ten wirus, jeśli znajduje się on w zawiesinie, lecz są mniej efektywne wówczas, gdy HIV-1 jest w stanie wysuszonym lub w środowisku bogatobiałkowym. HIV-1, wysuszony w roztworze soli lub na powierzchniach stalowych, mimo dziesięciokrotnie mniejszej infekcyjności jest wykrywalny jeszcze po upływie tygodnia. HIV-1 jest wrażliwy na powszechnie stosowane czynniki sterylizujące.

Cykl replikacyjny

Aby wnikać do komórki, HIV-1 wykorzystuje receptory i koreceptory. Receptorem komórkowym dla gp120 wirusa jest cząstka CD4+. Dlatego

w pierwszej kolejności ulegają zakażeniu komórki wykazujące ekspresję tej cechy fenotypowej. Komórki CD4⁺ to limfocyty T pomocnicze oraz komórki z linii monocytu/makrofagi, w tym wyspecjalizowane komórki mikrogleju, komórki Hofbauera łożyska, a także komórki dendrytyczne węzłów chłonnych oraz Langerhansa w skórze. Zidentyfikowano także inne receptory komórkowe HIV-1 (patrz niżej).

Po związaniu się gp120 z cząstką CD4⁺ dochodzi do interakcji z koreceptorami znajdującymi się w błonie komórkowej. Najważniejsze z nich to CKR-5 i CXCR4 (fuzyna). W procesie tym bierze udział także gp41. Zarówno gp120, jak i gp41 są rozpoznawane przez przeciwciała neutralizujące anty-HIV-1. Po wnikięciu do komórki dochodzi do odpłaszczenia HIV-1 z udziałem białka komórkowego cyklofiliny A (chaperon). Dzięki aktywności odwrotnej transkryptazy następuje przepisanie (transkrypcja) informacji genetycznej zakodowanej w pierwszorzędowej strukturze (+)ssRNA na sekwencje nukleotydomowe komplementarnego dsDNA. Tak powstała nić jest transportowana w składzie kompleksu preintegracyjnego z cytoplazmy do jądra komórkowego. Dzięki aktywności integrazy wirusa oraz enzymów reperacyjnych DNA gospodarza dochodzi tam do wbudowania wirusowego DNA w dowolne miejsce DNA komórkowego. Integraza HIV-1 współdziała z komórkowym czynnikiem wiążącym LEDGF/p75 (*lens epithelium-derived growth factor*). Po zintegrowaniu powstaje prowirus HIV-1. Integracja jest zmianą nieodwracalną. Powoduje zmianę własności komórki, która staje się potencjalnym producentem HIV-1. Spośród limfocytów CD4⁺ spoczynkowych, znajdujących się w węzłach chłonnych, zakażonych jest od 1/1000 do 1/100 000 tych komórek. W trakcie podziałów komórkowych prowirus jest przekazywany komórkom potomnym. Może temu nie towarzyszyć ekspresja genów wirusa. Jest to utajona (latentna) faza zakażenia. Stan zakażenia utajonego należy uważać za jedną z form ucieczki wirusa przed oddziaływaniem limfocytów cytotoksycznych. Wzbudzenie replikacji dokonuje się pod wpływem czynników endogennych, egzogennych lub ich obu. Czynniki wpływające na aktywację replikacji HIV-1 to liczne drobnoustroje (toksyny grzybów, bakterii i wirusów), powodujące aktywację monocytów i makrofagów, jak również czynniki wewnątrzustrojowe doprowadzające do wzbudzenia odpowiedzi typu zapalnego etc. Uruchomiona zostaje kaskada sygnałów komórkowych o własnościach transkrypcyjnych. Łączą się one z rejonem LTR prowirusa, inicjując replikację wirusowego DNA. Komórkowa polimeraza RNAII, wirusowe białka regulatorowe *tat* i *rev*

oraz komórkowe czynniki transkrypcyjne NF κ B, NFAT-1, AP-1 i SP1 są niezbędne do transkrypcji genomu w pełnoniciowy RNA i mRNA. Następnym etapem jest wytworzenie białek strukturalnych i uformowanie pełnej cząstki wirusa umiejscowionej przy błonie komórki. Wędrowka do błony zakażonej komórki oraz jej opuszczenie przez wirusa odbywa się z wykorzystaniem układu pęcherzyków ESCRT-I, II i III z udziałem białka p6 kodowanego przez gen *gag*. Wirus opuszcza komórkę poprzez pączkowanie.

Zakażanie komórek

Do zakażenia różnymi komórkami dochodzi przez różne receptory. Ponieważ głównym receptorem wirusa jest cząstka CD4+, zakażeniu może ulegać każda komórka posiadająca ten receptor. Są to limfocyty o tym fenotypie, makrofagi i inne. Receptorem jest także ceramid galaktozylceramidowy i lektyna typu C mannozy (np. DC-SIGN) zlokalizowana na komórkach dendrytycznych i makrofagach. Na początku infekcji zakażeniu ulega stosunkowo niewielka liczba limfocytów CD4+, makrofagów i komórek dendrytycznych, znajdujących się np. w *lamina propria* błony śluzowej pochwy, co poznano w badaniach nad zakażeniem SIV (*simian immunodeficiency virus*) u małp.

Wyróżnia się dwa typy tropizmu HIV-1 w zależności od preferencji w zakażaniu limfocytów CD4+ i monocytów/makrofagów: wirus M-tropowy (lub R5) oraz wirus T-tropowy (lub X4), zakażający nieodróżniewane limfocyty CD4+, komórki pamięci tej linii i komórki dendrytyczne. Wirus M-tropowy wykorzystuje jako koreceptor CKR5 (lub CC-CKR5), będący receptorem β -chemokin. W zakażeniu drogą seksualną biorą udział przede wszystkim wirusy M-tropowe. Koreceptorem wirusa T-tropowego jest chemokinowy receptor CXCR4. Na ogół ten rodzaj tropizmu pojawia się w późniejszym okresie zakażenia, kiedy dochodzi do ilościowej przewagi wirusów typu T-tropowego. Jest to związane z szybkim zmniejszeniem liczby limfocytów CD4+ i postępowaniem w kierunku rozwoju AIDS. Wirus T-tropowy tworzy zespólnie (*syncytium*), w skład których wchodzi komórki zakażone i niezakażone, upośledzone czynnościowo i szybko ginące. Wirusy o podwójnym tropizmie to R5X4.

Poza wymienionymi koreceptorami opisano kilkanaście rodzajów receptorów chemokinowych aktywnych w zakażaniu różnymi szczepami HIV-1. Są to m.in. receptory chemokin CC, CXC, CX3C, tzw. receptory sieroce i inne.

Rozsiew wirusa

Szczególnie dynamiczne procesy infekcyjne toczą się we wczesnych okresach zakażenia. Zostały one bliżej poznane dzięki badaniom nad zakażonymi SIV naczelnymi. Wolne wiriony i zakażone komórki po przezwaniu bariery błony śluzowej zakażają komórki znajdujące się w *lamina propria*. Są to limfocyty CD4+, makrofagi i komórki dendrytyczne. Dochodzi w nich do replikacji wirusa. Następnie, w postaci cząstek wolnych lub poprzez zakażone komórki, HIV-1 jest przenoszony do lokalnych węzłów chłonnych. Około 7. dnia odbywa się w nich namnażanie wirusa i jego dalszy rozsiew. Wirusy opuszczające pierwotnie zasiedlony układ chłonny przedostają się do krążenia ogólnego. We frakcji komórkowej płynów ustrojowych znajduje się 50–100 razy więcej zakażonych komórek niż wolnych cząstek HIV-1. W układzie pokarmowym, śledzionie i w szpiku kostnym dochodzi do masywnego zakażenia wrażliwych komórek i intensywnej replikacji o charakterze ekspotencjalnym. W tym okresie dochodzi do zmniejszenia liczby zakażonych komórek pamięciowych CD4+ należących do zasobów komórek pamięciowych centralnych. Przejawem odpowiedzi odpornościowej w tym wczesnym okresie (między 7. a 10. dniem od zakażenia) jest wykrywanie w lokalnej tkance limfatycznej cytokin prozapalnych. Jednakże stosunkowo późno dochodzi do pojawienia się przeciwwirusowego interferonu typu 1. Ta opóźniona reakcja nie sprzyja hamowaniu rozsiewu. Replikacja odbywa się przede wszystkim w komórkach dzielących się, a zwłaszcza w limfocytach CD4+ (99% wszystkich zakażonych komórek). Tylko 1% makrofagów ulega infekcji. Jednakże w warunkach, w których wzrasta liczba makrofagów (np. w zakażeniu oportunistycznym), przekłada się to na ich znaczącą liczbę.

Heterogenność HIV-1

Replikacja HIV-1 jest bardzo wydajna. Codziennie, w okresie maksymalnej wirerii, wytwarzanych jest przeszło 10 mld nowych cząstek. Początkowo populacja wirusów jest w miarę jednorodna. Jednakże każdy cykl replikacyjny jest potencjalnym źródłem powstawania mutantów (*quasi-species*, pseudotypy). Mogą się one pojawiać w liczbie około 10 w trakcie jednej amplifikacji materiału genetycznego HIV-1. Ich zróżnicowanie, w miarę rozwoju zakażenia, kształtują takie warunki jak typ rezerwuaru komórkowego (limfocyty CD4+ i komórki dendrytyczne ze zróżnicowanym umiejscowieniem tkankowym i narządowym, a więc: w węzłach chłonnych, ośrodkowym układzie nerwowym, płucach, układzie rozrodczym etc.).

Na powstawanie pseudotypów silny wpływ ma ustrojowa (humoralna i komórkowa) presja immunologiczna, jak również – w warunkach terapii – oddziaływanie leków. Zmiana właściwości HIV-1 jest możliwa dzięki obecności w strukturze jego genomu obszarów o dużej zmienności. Są to tzw. domeny V1, V2 i V3. Nowe cechy biologiczne wirusa powstają już po zmianie kilku aminokwasów w ww. domenach. Heterogenność populacji wirusa jest jego cechą znaną. Mechanizm ten pozwala wirusowi na ucieczkę przed odpowiedzią odpornościową. Warunkuje to możliwość jego przetrwania w ustroju. Dzieje się tak mimo żywej odpowiedzi ze strony limfocytów cytotoksycznych. Co więcej, wiele wskazuje na to, że mutagenność nasila się pod wpływem presji immunologicznej. Zdolność HIV-1 do przetrwania i replikacji w takich warunkach jest kluczowym, nie do końca poznanym problemem w rozumieniu immunopatogenezy tego zakażenia.

Na zróżnicowanie własności HIV-1 mają wpływ zarówno biologiczne cechy szczepu, jak i oddziaływanie środowiska ustrojowego. Jest to proces dynamiczny. HIV-1 zakażający komórki o różnym umiejscowieniu anatomicznym może przebywać tam przez bardzo długie okresy. Zachowuje wówczas swoje cechy „archiwalne”, co dotyczy także szczepów o cechach odporności na leki antyretrowirusowe.

HIV-1 ma zróżnicowany potencjał replikacyjny. Wyróżnia się odmiany wirusa typu „szybki/wysoki” (*rapid/high*) i „powolny/niski” (*slow/low*). Przeciwstawienie „szybki – powolny” odnosi się do tempa replikacji, a „wysoki – niski” do mian wirerii. Wyróżnia się także izolaty o wysokiej zdolności tworzenia zespólni komórkowych oraz posiadających taką właściwość w mniejszym stopniu (SI – *syncytia inducing*, NSI – *non-syncytia inducing*). „Szybkie/wysokie” są jednocześnie typu SI. Konwersja odmiany NSI w SI u nosicieli jest zapowiedzią rozwoju AIDS po upływie około 2 lat. Pod wpływem presji immunologicznej odmiana wirusa o małej cytotropijności z czasem wykazuje jej wzrost.

HIV-1 bytujący w ustroju zakażonego człowieka to *de facto* bardzo heterogenna grupa wirusów.

Odpowiedź immunologiczna

Przebieg zakażenia HIV-1 jest ściśle powiązany, zarówno w początkowym okresie zakażenia, jak i w jego późnych fazach, z genami HLA klasy I (HLA-I). Interakcja antygenów HIV-1 z cząstkami tego układu ma niezwykle ważny wpływ na losy zakażenia: postępującego lub zwalniającego. W zależności od cech HLA-I wprowadzono rozróżnienie na „złe”

i „dobre” allele. W tym miejscu zostaną tylko zasygnalizowane efekty interakcji z pierwszymi z nich, natomiast w podrozdziale poświęconym zakażonym, u których choroba ma powolny przebieg, z tymi drugimi (patrz niżej).

Ekspresja wirusa jest większa u zakażonych reprezentujących populację o najczęściej występujących w niej allelach. Do kategorii „złych” alleli są zaliczane np. HLA-B35, HLA-B8, HLA-A24, HLA-5802, HLA-A29. Wirus u osób reprezentujących taką, częstą w populacji ogólnej, cechę łatwiej adaptuje się do presji selekcyjnej, wywieranej na ograniczoną liczbę epitopów, które mogą być zaprezentowane efektorom odpowiedzi odpornościowej. Odpowiedź na antygeny wirusa jest w tym wypadku mniejsza ilościowo i słabsza. Większa plastyczność alleli HLA-B w zakresie wiązania peptydów wirusowych powoduje osobnicze zróżnicowanie zależnej od nich odpowiedzi z możliwością wysokiej replikacji i szybszego postępu choroby i *vice versa*. Interakcja pomiędzy allelami HLA-C2 i receptorem komórek NK (ligand: KIR2DL) powoduje powstawanie silnych sygnałów hamujących aktywność komórek NK. Wpływa to na osłabienie ich aktywności anti-HIV-1.

HIV-1 stymuluje uruchomienie efektorów odporności humoralnej i komórkowej. W bardzo wczesnym okresie zakażenia przyrost liczby cząstek wirusowych jest typu eksponentyjnego, przy czym maksimum jest osiągane po 7–10 dniach po wtargnięciu HIV-1. Początkowy okres zakażenia HIV-1 jest skojarzony ze zmniejszeniem się liczby limfocytów CD4+ (limfopenia). Jest to związane z ich niszczeniem, czemu przejściowo towarzyszy wysoka wiremia. Wartości wirerii, podobne jak na początku zakażenia, pojawiają się znowu w okresie pełnoobjawowego AIDS. Oprócz wolnych cząstek HIV-1 i komórek zakażonych tym wirusem w krwi występować mogą znaczne ilości antygeny wirusowego p24. Jest to okres słabej kontroli zakażenia przez komórkowy układ odpornościowy. Rozwija się ona po upływie 2–4 tygodni. Jej przejawem jest wzrost ogólnej liczby limfocytów.

Cytotoksyczne limfocyty CD8+

Odpowiedź komórkowa to przede wszystkim wysoka aktywność limfocytów cytotoksycznych o fenotypie CD8+ (CD38). U większości ludzi zakażonych HIV-1 cytotoksyczność jest skierowana przeciwko licznym epitopom wirusa. Ten typ reaktywności występuje już we wczesnej fazie zakażenia. Jednakże jest ona poniżej potencjału replikacyjnego wirusa, nie może więc być w pełni skuteczna. Jest szczególnie niska w utkaniu limfatycznym węzłów chłonnych, prawdopodobnie w związku z drastycznym zmniejszeniem liczby limfocytów CD4+ w tych miejscach.

Osoby wielokrotnie ekspozowane na HIV-1 (stosunki seksualne, ekspozycja zawodowa pracowników służby zdrowia) mogą jednak nabyć odporność na zakażenie poprzez indukcję właśnie tego rodzaju komórek (zależnych od HLA klasy I). Rolę odgrywa tu także odpowiednio silna odpowiedź limfocytów CD4+, wpływająca na proces różnicowania i dojrzewania limfocytów cytotoksycznych.

W bilansie całego ustroju aktywność limfocytów cytotoksycznych doprowadza do bardzo znacznego obniżenia się wirerii. Dzieje się tak na skutek niszczenia komórek zakażonych HIV-1, jak i hamowania replikacji wirusa w limfocytach CD4+ bez ich niszczenia (niecytotatogenne hamowanie replikacji). Wśród mechanizmów obrony przed rozprzestrzenianiem się wirusa należy także wymienić blokowanie zakażenia limfocytów wirusami M-tropowymi (zależnymi od koreceptora CCR5) przez CC-chemokiny (chemokiny chemotaktyczne), takie jak: RANTES, MIP-alfa1 i MIP-alfa2, wytwarzane przez limfocyty CD8+. Normalną funkcją tych małowcząsteczkowych peptydów jest pobudzanie chemotaksji limfocytów i monocytów i regulacja odpowiedzi immunologicznej.

Nie jest jasne, dlaczego w miarę trwania zakażenia aktywność limfocytów CD8+ ulega wyczerpaniu. Według niektórych autorów, niepowodzenie w pełnej kontroli infekcji może być już pierwotnie związane z niedostatkami HIV-1 swoistych limfocytów CD8+ w stosunku do tempa replikacji subpopulacji HIV-1 o własnościach unikania ich aktywności. Swoiste limfocyty CD8+HIV-1 mają ograniczony potencjał proliferacyjny *in vivo*. Charakteryzuje je także: ograniczona zdolność wytwarzania IFN- γ (lecz nie IL-2 i TNF- α), zwiększona synteza IL-10, niska ekspresja receptorów dla IL-7, mała ekspresja perforyn i obniżona liczba komórek efektorowych.

Niedostatek funkcji tych limfocytów może być związany z ich ubytkiem i wyczerpywaniem się rezerw na skutek ich programowanej śmierci (*apoptosis*). Ponadto zmniejsza się liczba i potencjał stymulacyjny limfocytów o fenotypie CD4+, bez których nie może dochodzić do efektywnej stymulacji cytotoksyczności. Ma to szczególne znaczenie wobec komórek CD4+TH1, gdyż ich niedobór wyłącza możliwość oddziaływania cytokin o własnościach prozapalnych, nasilających odpowiedź komórkową.

Chociaż swoiste anti-HIV-1 limfocyty CD8+ mają bardzo duże znaczenie w kontroli replikacji, to – w odróżnieniu od limfocytów CD4+ – nie są rutynowo oznaczane w przebiegu zakażenia HIV-1.

Od zakażenia HIV-1 do wystąpienia ostrej choroby retrowirusowej upływa od 2 do 4 tygodni. Zdarzają się także przypadki wcześniej (6 dni) i później (6 tygodni) odpowiadające w ten sposób na zakażenie. W toku zakażenia przypada to na okres rozwoju odpowiedzi immunologicznej.

Znaczenie wysokości „punktu ustawienia” wirerii na początku zakażenia

Wielkość wirerii w okresie zakażenia przewlekłego, nazywana obciążeniem wirusem (*viral load*), jest zależna od początkowej aktywności cytotoksycznych limfocytów CD8+. To w tej fazie zakażenia dochodzi do indywidualnie zróżnicowanego ustalenia wysokości tzw. punktu ustawienia (*set point*) wirerii. Wykazano, że jego początkowa wysokość w toku zakażenia silnie koreluje z dynamiką zaniku limfocytów CD4+ i postępem choroby i to niezależnie od początkowych wartości limfocytów CD4+. Tak więc im aktywność limfocytów cytotoksycznych głębiej stłumi replikację HIV-1 na początku zakażenia, tym względne wartości wirerii w ciągu zakażenia przewlekłego będą niższe. Wielkość wirerii decydująco wpływa na pojawianie się zakażeń oportunistycznych wówczas, gdy liczba limfocytów CD4+ osiąga wartość <200 komórek/ml. Im jest wyższa, tym wcześniej dochodzi do nadkażeń typu oportunistycznego i *vice versa*. Wysokość „punktu ustawienia” wirerii jest zatem miarą siły wczesnej odpowiedzi odpornościowej typu komórkowego. Im jest niższy (mniejsza wiremia), tym odpowiedź jest silniejsza.

Dynamika zmian liczby i funkcji limfocytów CD4+

Po początkowym zmniejszeniu liczba limfocytów CD4+ przyrasta, osiągając wartości zbliżone do tych z okresu sprzed zakażenia. Wraz z upływem czasu progresywnie zmniejsza się ich liczba, jak również występują w nich zmiany czynnościowe. Wśród limfocytów CD4+ w różnych okresach ich dojrzewania wyróżnia się młode komórki typu „dziewiczego” (*naïve*) i komórki pamięci. Pierwsze z nich mają fenotyp CD4+5RA+, a drugie CD4+5RA-. Komórki pamięci ulegają aktywacji pod wpływem zadziałania antygeny przez nie „zapamiętanego”. W zakażeniu HIV-1 zniszczeniu ulegają przede wszystkim komórki młode, typu *naïve*.

Dwie subpopulacje tych komórek – TH1 i TH2 – odznaczają się wzajemnym oddziaływaniem kompetytywnym. TH1 wytwarzają cytokiny nasilające odpowiedź komórkową, a TH2 – cytokiny wzmagające wytwarzanie przeciwciał. W zakażeniu HIV-1 z czasem przewagę uzyskują TH2.

Przez to zmniejsza się możliwość supresorowego oddziaływania na wirus, natomiast powstają warunki do aktywacji komórek B i syntezy różnych przeciwciał.

Część zakażonych limfocytów CD4+ ulega efektowi cytotatycznemu, a część – zakażeniu utajonemu. Osoby zakażone tracą rocznie średnio $60 \times 10^6/l$ CD4+. Utrata tych komórek jest powodowana m.in. zakażeniem szczepami o zwiększonej wirulencji. Ginią zarówno komórki pojedyncze, jak i ich zespoły. Śmierć komórki pojedynczej jest prawdopodobnie związana z nagromadzeniem się niezintegrowanego DNA wirusowego (zahamowanie syntezy własnych białek). Komórki zakażone HIV-1, wykazujące tylko ekspresję białek otoczki gp120 i gp160, a także niezakażone, mogą tworzyć zespoły. Są to twory wielokomórkowe połączone błonami komórkowymi poprzez mostki: receptor CD4+/białko otoczki. Rzadko występują *in vivo*. Komórki zespoły nie mogą wypełniać swego programu genetycznego. Szybko ginią. Limfocyty CD4+, zwłaszcza spoczynkowe, są także rezerwuarem HIV-1 w postaci utajonej (patrz wyżej). W tzw. pre-integracyjnej postaci zakażenia utajonego (genom HIV-1 w cytoplazmie), na skutek aktywacji komórki przez obce antygeny, szybko dochodzi do replikacji wirusa i jego uwalniania (patrz wyżej).

Podobnie jak limfocyty CD8+ cytotoksyczne, także limfocyty CD4+ ginią wskutek wzbudzenia w nich apoptozy. Własności wzbudzenia apoptozy w sąsiednich komórkach ma posiadać kompleks gp120+/receptor CD4+. Być może oddziałują w tym procesie także superantygeny pochodzenia drobnoustrojowego.

Dysfunkcja limfocytów CD4+ nie zależy wyłącznie od ich niedoboru ilościowego, lecz także od głębokich zmian funkcjonalnych. Głównym czynnikiem jest tu przewlekła aktywacja odpowiedzi odpornościowej w warunkach przewlekłej stymulacji wysokimi stężeniami antygenów. W zakażeniu HIV-1 swoiste limfocyty HIV-1 wykazują typowo słabą odpowiedź na antygeny wirusa, wytwarzają mało IL-2 i proporcjonalnie więcej IFN- γ , jak również tracą zdolność do ekspresji receptora IL-7 (co powoduje przewagę komórek o fenotypie CCR7-/CD57+). Wywiera to negatywny wpływ na przeżycie komórek T (zarówno limfocytów CD4+, jak i CD8+). Szczególne znaczenie dla dysfunkcji tych limfocytów ma blokujący aktywację cząstki CD3 limfocytu CD4+ kompleks gp120-HIV-1 z cząstką CD4+ limfocytu. Interakcja gp120 z komórką CD4+ zmniejsza także ekspresję CD154, co powoduje zmniejszenie aktywacji komórek dendrytycznych, wpływając w efekcie negatywnie na stymulację cytotoksycznych limfocytów CD8+. Tak więc obecność na błonie komórkowej kompleksu CD4+/gp120 powo-

duje zaburzenie zarówno odbioru, jak i przepływu informacji do komórki o ważnych funkcjach regulacyjnych i z tejże komórki do innych komórek. Limfocyt CD4+ traci zdolność rozpoznania drobnoustrojowych antygenów rozpuszczalnych, co doprowadza do anergii. Mogą się przyczyniać do tego także procesy o podłożu autoimmunologicznym. Ponieważ między cząsteczkami HLA klasy II a gp120 i gp41 HIV-1 występują analogie strukturalne, anty-HIV-1 mogą reagować krzyżowo z antygenami HLA-II. W efekcie w różnym stopniu zablokowane są interakcje pomiędzy limfocytami CD4+ a cząsteczkami HLA-II na komórkach prezentujących antygen, przez co zostaje upośledzona właściwa odpowiedź na antygeny drobnoustrojów. W przewlekłym zakażeniu, jakim jest infekcja HIV, wieloletnia, przetrwała aktywacja immunologiczna, obejmująca nie tylko limfocyty CD4+, doprowadza do postępującego zakłócania czynnościowej organizacji układu odpornościowego i wyczerpuje jego możliwości regeneracyjne. Przez długi czas utrzymują się warunki do replikacji wirusa przystosowującego się do warunków, w jakich się namnaża (heterogenność populacji wirusów). Wirus, mimo stałej presji na jego niszczenie, wyprzedza zdolności obronne aż do ich powolnego wyczerpywania się. Otwiera to drogę do zakażeń oportunistycznych i dysregulacji prowadzącej do rozwoju nowotworów, a więc do rozwoju AIDS, będącego wtórnym skutkiem niedoborów immunologicznych. W badaniach obejmujących przeszło 12 tys. zakażonych wykazano podstawowe znaczenie pomiaru liczby limfocytów CD4+ jako parametru wskazującego na możliwość postępu zakażenia w kierunku AIDS.

Limfocyty CD4+ podczas leczenia antyretrowirusowego

Ponieważ leczenie antyretrowirusowe odbudowuje populację limfocytów CD4+, bardzo ważna jest fazowość tego procesu. Składa się on z trzech etapów. Początkowo dochodzi do redystrybucji tych komórek z węzłów chłonnych. W fazie drugiej ich zwiększona liczba z powrotem odzyskuje wrażliwość na tzw. antygeny przypominające, utraconą w okresie narastania zaburzeń ich funkcji. W okresie trzecim (około 12. tygodnia leczenia) wzrasta liczba komórek typu *naïve*.

Znaczenie układu limfatycznego

Już we wczesnym okresie zakażenia dochodzi do umiejscawiania się wirusa w tkankach limfatycznych, przede wszystkim węzłów chłonnych (także w migdałkach). Cząstki HIV-1 w węzłach chłonnych są początkowo wykrywane przede wszystkim w limfocytach CD4+, ponieważ zakażone komórki

przemieszczają się do tkanki węzłów. Później, także w postaci związanej z przeciwciałami i dopełniaczem, cząstki HIV-1 znajdują się głównie w komórkach dendrytycznych ośrodków rozmnażania. W węzłach chłonnych, również w okresie zakażenia utajonego, odbywa się stała replikacja wirusa.

Tkanka limfatyczna jest w zakażeniu HIV-1 największym rezerwuarem wirusa. Komórki dendrytyczne węzłów chłonnych mogą zawierać od 100 do 10 tys. razy więcej cząstek wirusa aniżeli plazma. Nawet jeśli HIV-1 nie wykrywa się w krwi, miliony jego kopii znajdują się w utkaniu limfatycznym (w rozwiniętym zakażeniu u mężczyzny o masie ciała 70 kg znajduje się około 100 mld cząstek HIV-1). Przejawem zajęcia węzłów chłonnych jest ich powiększenie (okres przetrwałej limfadenopatii). Postęp choroby jest również (obok innych mechanizmów) związany z degradacją sieci utworzonej z komórek dendrytycznych. Węzły chłonne tracą zdolność do zatrzymywania wirusa na swym obszarze. Dochodzi do wyzwolenia znacznych ilości cząstek wirusowych, które przedostają się do krwi. Destrukcja struktury węzłów powoduje stopniowe zanikanie limfadenopatii; w rozwiniętych okresach choroby powiększenie węzłów chłonnych jako objaw kliniczny zanika.

Limfocyty CD4+ w węzłach chłonnych wykazują stan aktywacji w o wiele większym odsetku aniżeli te znajdujące się w krążeniu ogólnym. Oddziałują pobudzająco na limfocyty B. Efektem tego jest uwalnianie cytokin, takich jak np. TNF- α , czynnika o własnościach wzbudzania replikacji HIV-1.

Przeciwciała anty-HIV-1

Od momentu zakażenia do chwili, kiedy jest możliwe wykrycie przeciwciał anty-HIV-1 w obecnie dostępnych, wysokiej jakości testach ELISA, upływa 10–14 dni; niekiedy okres ten wydłuża się do 3–4 tygodni; u niemal wszystkich zakażonych wykształcają się w ciągu 6 miesięcy przeciwciała. Jednakże nie sama obecność przeciwciał, lecz ich potencjał neutralizacyjny ma kluczowe znaczenie dla efektywnego blokowania wirusa. W tym zakresie prowadzone są intensywne badania, zwłaszcza w kontekście potencjalnej szczepionki anty-HIV-1. Z punktu widzenia metodologicznego problemem jest brak odpowiednich testów do badania w warunkach *in vitro* bezpośredniej inhibicji HIV-1 przez przeciwciała neutralizujące.

Autologiczne przeciwciała tego rodzaju pojawiają się już we wczesnym okresie zakażenia we wzrastających mianach. Ich rola w kształtowaniu przebiegu i hamowania aktywności wirusa w już utrwalonym zakażeniu

przewlekłym nie jest wyraźnie określona. Przeciwciała neutralizujące, współwystępujące z populacją wirusów mają na nią słaby wpływ blokujący lub w ogóle nie wykazują takich własności. Ich obecność wywiera jednak wpływ selekcyjny na produkty genu *env*-HIV-1, powodując mutacje w tym regionie. Zmiana sekwencji aminokwasów w strukturze białek otoczki (przede wszystkim w tzw. regionach nadziemiennych pętli V) pozwala wirusowi uniknąć potencjalnego oddziaływania neutralizującego przeciwciał. Tak więc prawdopodobnie pod ich wpływem dość wcześniej dochodzi do różnicowania składu białek otoczki wirusa.

Z czasem, po upływie kilku lat trwania zakażenia, niektóre pseudotypy wirusa mogą być neutralizowane przez przeciwciała. Zjawisko to opisano jako poszerzanie (*broadening*) odpowiedzi humoralnej na HIV-1. Przeciwciała anty-HIV-1 mogą również hamować powstawanie zespólni, a także oddziaływać w mechanizmie zależnej od ich obecności cytotoksyczności komórkowej (ADCC).

Znaczenie stałych interakcji pomiędzy HIV-1 a przeciwciałami doskonale oddaje tytuł jednego z niedawno opublikowanych artykułów: „Przeciwciała vs HIV-1 jako potyczka ewolucyjnych tytanów”.

Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym

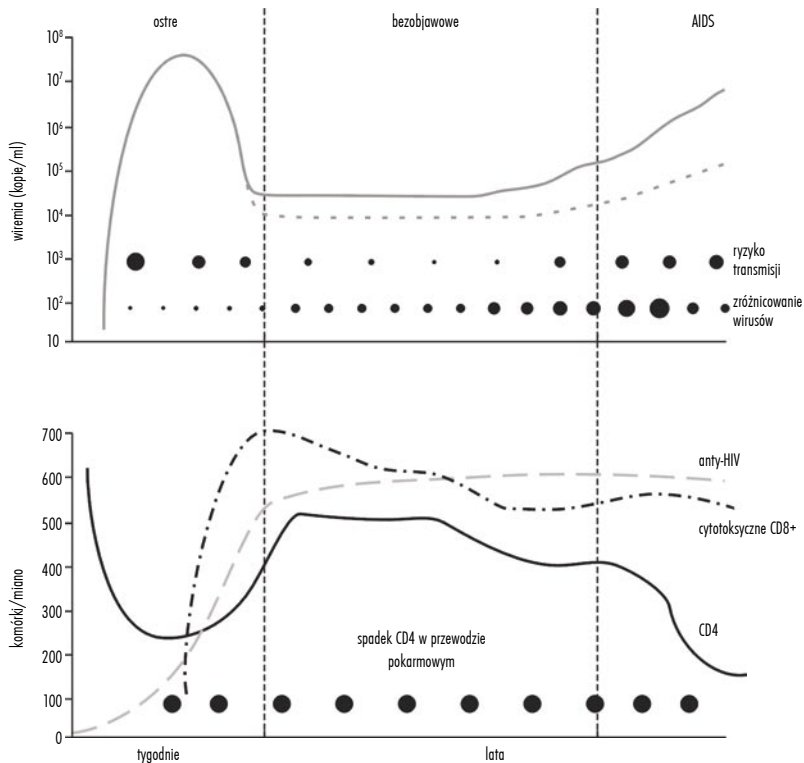
Ważnym aspektem patogenetycznym zakażenia HIV-1 i jego skutków jest zajęcie układu nerwowego. HIV-1 wnika do mózgu poprzez komórki śródbłonna spłotów naczyńniowych lub przejście zakażonych limfocytów i monocytów przez uszkodzoną barierę krew – płyn mózgowo-rdzeniowy. Z płynu mózgowo-rdzeniowego izolowano HIV-1 już w okresie wczesnego zakażenia. Świadczą o tym także cechy aktywacji immunologicznej (obecność w płynie mózgowo-rdzeniowym neopteryny i beta-2-mikroglobuliny) zarówno u osób z ośrodkowymi objawami neurologicznymi, jak i bez nich. Zaburzenia w ośrodkowym układzie nerwowym na początku zakażenia mają dużą skalę: od bólów głowy i pozagałkowych oraz fotofobii, poprzez neuropatie objawowe, zapalenia nerwów, porażenie nerwu twarzowego, po ostre zapalenie opon (rzadko) i zespół Guillaina-Barré. Depresja, drażliwość, zmiany nastroju, a także zaburzenia afektu i zdolności poznawczych mogą się utrzymywać po ustąpieniu innych objawów ostrej choroby retrowirusowej. W zaawansowanym zakażeniu może dojść do otępienia związanego z AIDS – prawdopodobnie jest to spowodowane przez cytokiny wydzielane przez zakażone monocyty i makrofagi, które mogą tworzyć zespólnie w substancji białej mózgu. Degeneracyjny wpływ ma także zakażenie komórek mikrogleju.

Zakażeni HIV-1 z długim okresem przeżycia

Naturalna odporność na zakażenie HIV-1 jest zjawiskiem rzadkim. Dotyczy to także osób zakażonych z powolnym, wieloletnim przebiegiem infekcji niedoprowadzającej do rozwoju AIDS. Oporność na zakażenie kształtuje zestawienie kilku cech osobniczych. Są to cechy wrodzone, zależne od syntezy autoprzeciwciał, chemokin i cytokin, uwarunkowane genetycznie (haplotyp HLA, polimorfizm genów) oraz nabyte (aktywność cytotoksycznych i pomocniczych komórek T oraz w ograniczonym zakresie przeciwciała neutralizujące).

Najbardziej znane jest zjawisko dużej oporności na zakażenie osób homozygotycznych w zakresie wariantu genu *CCR5* (*CCR5Δ32*). Częstość występowania tej cechy wynosi około 1% wśród Europejczyków (oraz ich potomków mieszkających w innych rejonach świata). Podobne wartości dotyczą także populacji polskiej. Homozygotyzm nie występuje wśród rdzennych Afrykanów i Azjatów. Heterozygoty pod względem omawianej tu cechy mają o wiele mniejszą oporność na zakażenie HIV-1, lecz przebieg choroby jest u nich łagodniejszy. Zwiększona oporność na zakażenie dotyczy także osób z większą liczbą podwójnych kopii genu *CCL3L1* kodującego *MIP1α*, ligandu koreceptora chemokiny *CCR5*.

Zakażeni, u których powoli rozwija się choroba, mają charakterystyczne cechy w odpowiedzi związanej zarówno z reaktywnością limfocytów CD4+, jak i CD8+. Najkrócej można je scharakteryzować jako odwrotność cech opisanych w części poświęconej dysfunkcji obu tych subpopulacji komórek T (patrz wyżej). Dotyczy to czterech wątków: wielkości odpowiedzi, zdolności proliferacyjnych, wytwarzania cytokin i cech fenotypowych. Limfocyty CD4+ u tej kategorii zakażonych charakteryzują się: dużą liczbą krążących komórek HIV-1 swoistych, posiadających właściwości silnej odpowiedzi proliferacyjnej na antygeny wirusa, zwiększoną proporcją komórek wytwarzających IL-2 i interferon- γ oraz komórek z ekspresją receptora IL-7. Limfocyty CD8+ charakteryzują u części zakażonych większą liczbą swoistych-HIV-1 komórek w skojarzeniu z niskim obciążeniem wirusem, jak również dobra (podobnie jak limfocytów CD4+) odpowiedź proliferacyjna na antygeny HIV-1 i stała obecność komórek z ekspresją receptora IL-7. Liczne są wielofunkcyjne komórki wytwarzające IFN- γ , IL-2, *MIP1 β* , TNF- α , jak również IL-10. Wyższe wśród nich są również proporcje komórek z wysoką ekspresją perforyn oraz w pełni zróżnicowanych efektorowych limfocytów cytotoksycznych.



Rycina 1. Przebieg zakażenia HIV-1 (replikacja wirusa) (według Simon V. i wsp.; zmodyfikowany)

Na rycinie 1. przedstawiono schemat rozwoju zakażenia HIV-1 w różnych fazach jego trwania z uwzględnieniem zmian wiremii.

Piśmiennictwo:

1. Grossman Z, Meier-Schellersheim M, Paul WE i wsp.: Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. *Nat Med* 2006; 12: 289–295.
2. Harare A, Celleraï C, Pantaleon G: Role of HIV-1-specific CD4+ T cells. *Curr Opin HIV AIDS* 2006; 1: 22–27.
3. Simon V, Ho DD, Karim A: HIV-1/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet* 2006; 368: 489–504.