

Aspecte imunologice în infecția HIV

Aspects of Immunity to HIV Infection

Márta Andrea Fodor ^{1*}, Minodora Dobreanu¹, Monica Sabău², Rodica Pascu³

1. U.M.F. Tg. Mureș, Disciplina Laborator-Biochimie Clinică

2. U.M.F. Tg. Mureș, Disciplina de Epidemiologie

3. U.M.F. Tg. Mureș, Disciplina de Boli Infecțioase

Rezumat

Scopul acestei lucrări a fost descrierea principalelor mecanisme care duc la scăderea numerică a limfocitelor CD4, care reprezintă principala țintă a HIV în organism, și trecerea în revistă a modificărilor numerice a limfocitelor CD8 pe parcursul evoluției bolii.

Cuvinte cheie: HIV, limfocite CD4, limfocite CD8.

Abstract

The aim of this paper was to describe the most important mechanisms which cause the depletion of CD4 cells in organism and the modification of the number of CD8 cells in the evolution of infection with HIV.

Key words: HIV, CD4 lymphocytes, CD8 lymphocytes.

Introducere

Ținta principală a virusului HIV în organism este limfocitul T helper, al cărui marker de suprafață CD4 reprezintă un receptor natural al virusului.

Astfel, unul dintre cei mai importanți markeri surogat folosiți pentru monitorizarea infecției HIV constituie numărătoarea limfocitelor CD4, alături de determinarea numărului de limfocite CD8 și a raportului CD4/CD8⁸.

Scopul acestei lucrări este trecerea în revistă a principalelor mecanisme care duc la depleția limfocitelor CD4 și care influențează evoluția numerică a limfocitelor CD8 pe parcursul bolii.

Interacțiunea virus- gazdă

Receptorul major al virusului HIV în organism este proteina CD4, antigen natural, situat pe suprafața a numeroase celule, cum este

*Adresa pentru corespondență: Fodor Márta Andrea, Str. 22. dec. 1989, nr. 33/17, Tg. Mureș
Tel. 0747641221, E-mail: fodora@rdslink.ro.

Adresa serviciu: U.M.F. Tg. Mureș, Disc. Laborator Biochimie Clinică, Str. Gh. Marinescu Nr. 38, Tg. Mureș

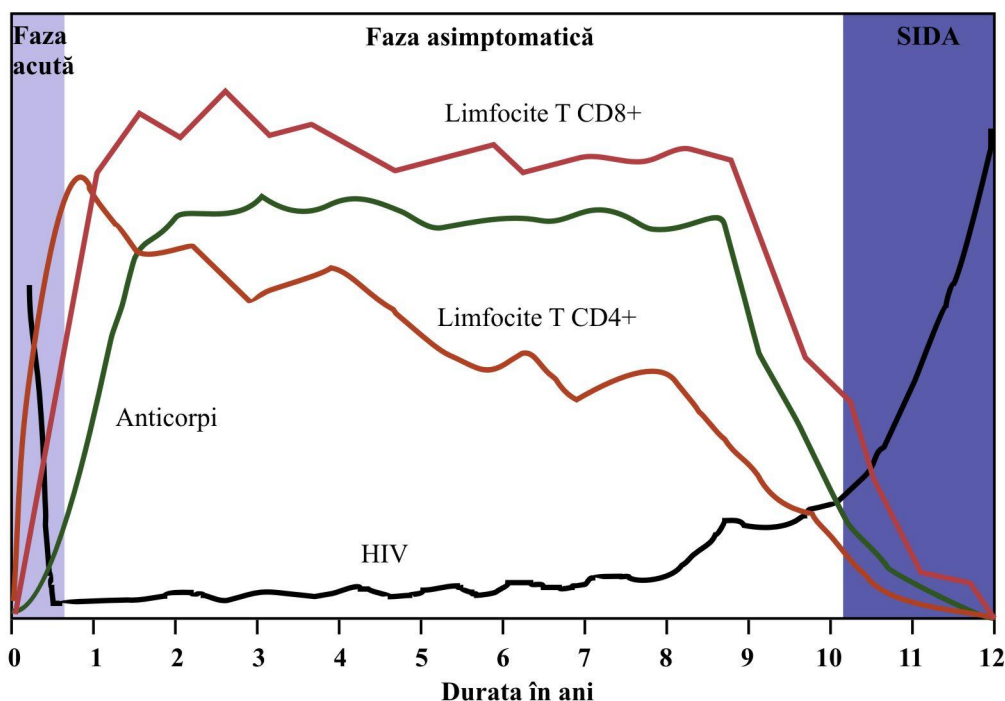


Figura 1. Modificările numărului de limfocite CD4, CD8 și a încărcăturii virale pe parcursul evoluției infecției HIV (www.soaaidsmagazine.nl).

limfocitul *T helper*, care joacă un rol cheie în apărarea imună, reprezentând un punct de reglaj și de control al sistemului imun¹⁵. Alături de limfocitele CD4, antigenul CD4 este prezent pe suprafața a numeroase celule imune, care au și ele rolul lor bine precizat în patogeniza infecției HIV:

- *Celulele Langerhans* aparțin sistemului de celule dendritice și sunt celule prezentatoare de antigen. Ele se găsesc la nivelul pielii și al mucoaselor, în mod particular în mucoasa tractului genital feminin și masculin. Recirculându-se continuu între mucoasele din periferie și limfocitele CD4 din nodulii limfatici și alte țesuturi limfoide, au un rol particular în infecția HIV, vehiculând probabil virusul de la nivelul mucoasei la nivelul limfocitelor din nodulii limfatici, ceea ce ar putea explica modul de transmitere a virusului HIV prin mucoasa genitală intactă (teorii mai vechi considerau obligativitatea existenței unei soluții de continuitate la nivelul mucoasei genitale)¹⁵.

- Celulele aparținând sistemului monocito-macrofag prezintă și ele un număr mai restrâns de antigene CD4 pe suprafața lor. Monocitele transportă în maniera calului troian virusul în sistemul nervos central. S-a demonstrat capacitatea virusului HIV de a pătrunde în macrofage, dar și în alte tipuri de celule APC (Antigen Presenting Cell), în special în celulele Langerhans, care dispun de co-receptorii CXCR4 și CCR5 și care se găsesc la nivelul epiteliilor mucoase, inclusiv în cea vaginală, cervicală și rectală, aceste celule devenind depozite ale virusului HIV^{16,4,7}.

- Relativ recent s-a descris prezența receptorului CD4 pe suprafața *eozinofilelor*, *bazofilelor*, dar și a *neutrofilelor*, care pot lega virusul HIV și pot influența biodistribuția virusului, transportându-l spre diferitele focare de inflamație sau spre rezervoarele tisulare adiționale³.

Receptorii secundari (co-receptorii) virusului HIV

În anul 1996 s-au descoperit receptori adiționali, necesari pătrunderii virusului în celule. Aceștia sunt proteine de suprafață, care sunt receptori pentru chemokine. S-au identificat două clase de co-receptori:

- receptorii CCR5 și CCR3, utilizați de varianta M-tropic (macrofag-tropic) de HIV.
- receptorul CXCR-4, utilizată de varianta de virus T-tropic (limfocit T-tropic)^{3,5,10}.

Depleția limfocitelor CD4

Distrucția extensivă a limfocitelor T determină depleția treptată a limfocitelor T helper/inducer (CD4), dar este afectată și populația de limfocite T supresoare/ citotoxice (CD8).

S-a descris distrucția preferențială a celulelor naive, în ciuda rezistenței lor relative la infecție⁷. Aceste modificări ar explica manifestările disfuncției imune în infecția HIV. În infecția HIV expunerea continuă la virus și stimularea cronică a celulelor neinfectate duce la scăderea *set-point*-ului homeostatic și reduce operativitatea răspunsului imun⁷. Astfel, activarea cronică imună și inflamația asociată la persoanele cu infecție HIV afectează dinamica limfocitelor CD4, cauzând scăderea reactivității lor și depleția progresivă a celulelor cu memorie⁷.

Infecția HIV cauzează o depleție progresivă a limfocitelor circulante CD4, dar și o reducere a numărului total de limfocite CD4 din organism. Cifric se consideră că un individ normal, sănătos (adult sub 30 de ani) dispune de aproximativ 2×10^{11} limfocite CD4 mature¹², ceea ce reprezintă în medie 600- 1200 celule/μl de sânge.

La persoanele cu infecție HIV, numărul total de limfocite CD4 scade la valori de aproximativ 200 celule/μl. În fazele avansate ale bolii, distrucția țesutului limfoid devine atât de ex-

tensivă, încât numărătoarea limfocitelor T totale devine chiar imposibilă.

Studiul dinamicii replicării virale și al regenerării compensatorii a limfocitelor CD4 a demonstrat distrucția a aproximativ 5% din cele aproximativ 200000 milioane de celule de către bilioanele de particule virale¹⁸.

Concomitent, descrește proporția limfocitelor T naive, cu o creștere a proporției celulelor cu memorie activate/efectoare, iar repertoriul receptorului limfocitar T (TCR –T Cell Receptor) devine alterat și restrâns, ceea ce echivalează cu reducerea funcționalității acestor celule^{7,19}.

Se consideră că infecția HIV cauzează o deplasare diferențiată a limfocitelor T dinspre compartimentul circulator spre organele limfoide, cauzând o scădere aparentă a numărului de limfocite CD4 circulante, fără a modifica numărul total al acestora¹².

Stimularea antigenică cronică cauzată de virusul HIV declanșează mecanisme antigen-dependente, mediate de citokine prin intermediul unor celule cum ar fi cele prezentatoare de antigen (APC) și limfocitele T activate, declanșând apoptoză indusă prin activare (AICD-Activation-Induced Cell Death)¹⁰. Aceeași activare cronică va cauza creșterea fracțiunii celulelor CD4 care se divid, cu scăderea progresivă a repertoriului receptorului limfocitelor T CD4 (TCR) și anergie celulară¹².

Măduva osoasă va fi și ea afectată. S-a descris distrucția/afectarea funcțională a celulelor stem respectiv a celulelor hematopoietice progenitoare, cauzând o scădere a producției limfocitelor T¹².

La nivelul timusului s-a descris depleția timocitelor, pierderea demarcării cortico-medulare în timus și s-a evidențiat replicare virală la nivelul acestei glande. Distrucția timică era mai rapidă în cazul tulpinilor virale CXCR4 (R4), care prezintă tropism timic și cauzează citoliza celulelor T progenitoare intratimice¹².

Organele limfoide periferice suferă alterări marcate, de tipul acumulării virale în

celulele dendritice foliculare urmate uneori de distrucția acestora și depleția subpopulației limfocitelor CD4+ și CD8+¹².

Astfel virusul HIV rupe legătura dintre măduva osoasă, timus și organele limfoide periferice, declanșând defecte importante calitative și cantitative ale celulelor T progenitoare¹².

Cauzele depleției limfocitelor CD4+ se pot sistematiza astfel:

Cauzele distrucției limfocitelor mature CD4:

1. *Distrucția directă a celulelor infectate:*

- apoptoză (moarte celulară programată) și oprirea ciclului celular în faza G2^{9,20};
- ruperea membranei celulare sau formare de sinciții;
- acumulare de ADN viral neintegrat.

2. *Moarte celulară indusă indirect în celulele neinfectate:*

- citoliză prin intermediul limfocitelor T citotoxice HIV-specifice sau prin limfocite NK;
- reacții autoimune mediate umoral sau celular: limfocitele citotoxice (CTL) recunosc și distrug celulele infectate cu virusul HIV^{15,17};
- încorporarea celulelor nascente în sinciții, care se formează prin fuziunea celulelor infectate și a celor neinfectate dând naștere unor celule gigante, care devin nefuncționale¹⁷. Această fuzionare are loc sub acțiunea catalitică a glicoproteinei de înveliș gp41, cu ocazia atașării virusului HIV pe receptorul celular CD4. Fuziunea membranelor are drept consecință formarea de sinciții Th1 nefuncționale¹⁸.

- declanșarea apoptozei prin activare celulară sau prin atașarea gp120 legate de limfocitele CD4, datorită înruderii antigenice dintre receptorul limfocitar CD4, glicoproteina virală gp120 și unii determinanți HLA-DR prezenți pe suprafața limfocitului Th1 activat. În primele faze ale infecției HIV, limfocitele CD8 citotoxice cu specificitate anti-gp120 pot ataca și liza celulele CD4 prin citotoxicitate imună directă. Limfocitele CD4 exprimă fenotipic gp120 datorită prezenței genomului viral integrat în genomul celular, ori au adsorbit pasiv acest antigen

HIV de receptorul HIV¹⁸.

- transmisia HIV sau apoptoză prin intermediul celulelor APC infectate din apropiere¹²;
- mecanismul superantigen¹⁸.

3. *Scăderea producției limfocitelor T:*

a) Efecte directe ale virusului:

- distrucția celulelor progenitoare, cauzată de infecție;
- distrucția rețelei stromale susținătoare, necesare hematopoezei eficiente;
- prin mecanismul superantigen: superantigenele sunt antigene capabile de a scurtcircuita mecanismul obișnuit de prezentare a antigenelor. Ele pot cupla direct celula prezentatoare de antigen de limfocitul CD4, declanșând astfel un răspuns imunologic aberant care va distruge celula¹⁷.
- proteazele digeră proteinele eliberate în cantitate crescută alterând funcționalitatea limfocitelor și a altor celule și reduc durata de viață a celulei¹⁷.

b) Efectele indirecte ale virusului:

- celulele infectate cu HIV pot emite semnale proteice care alterează sau distrug celulele sistemului imun¹⁷;
- disfuncție citokinică;
- infecții oportuniste ale măduvei osoase (de exemplu cu citomegalovirus);
- apoptoză indusă de HIV;
- neoplasme infiltrante;
- efectul mielotoxic al unor droguri;
- deficiențe vitaminice sau al altor factori esențiali¹².

Răspunsul CTL la infecția HIV

Limfocitele CD8 citotoxice (CTL) reprezintă componenta majoră a apărării celulare, infecția cu virusul HIV inducând un răspuns imun celular antiviral viguros⁵.

Persoanele infectate dispun de CTL cu specificitate față de mulți epitopi HIV, prezentați prin intermediul moleculelor HLA. Răspunsul anti-HIV se poate concretiza pentru mai mult de 6 peptide diferite, dar nu toate tipu-

rile de răspuns sunt regăsite la același persoană⁵, existând cazuri în care răspunsul CTL anti-HIV este îndreptat împotriva unui singur epitop *gag*⁵.

Răspunsul CTL anti-HIV este îndreptat în principal împotriva produșilor genetici majori *gag*, *pol*, *env* și proteinele reglatoare produse de genele *tat* și *nef*, dar au fost identificate un număr impresionant de peptide⁵.

Cea mai comună caracteristică a CTL anti-HIV este numărul lor crescut în sângele periferic, corelând cu replicarea cronică HIV și stimularea consecutivă a limfocitelor CD8⁵.

Rolul protectiv al CTL anti-HIV

Infecția HIV netratată progresează spre boala SIDA în ciuda unui răspuns viguros CTL, unele studii considerând chiar că activitatea anti-HIV a CTL nu are efect de reducere a riscului decesului în persoanele cu infecție HIV¹⁵. Există studii care aduc argumente directe privind rolul imunității mediate celular în limitarea replicării HIV. Actualmente rolul protector parțial al CTL anti-HIV în controlarea replicării virale și în reducerea progresiei bolii se consideră fapt dovedit⁵.

Modificări temporare ale activității CTL anti-HIV:

- în cursul infecției primare, încărcătura virală crește, atinge rapid nivele crescute, scade numărul limfocitelor CD4⁺ și crește numărul limfocitelor CD8⁺. După apariția anticorpilor neutralizanți apar CTL anti-HIV și încărcătura virală scade de câteva ori¹⁴. S-au descris cazuri de infecție primară fără răspuns detectabil CTL, aceste cazuri evoluând cu încărcătură virală ridicată și progresie rapidă spre stadiul SIDA.

- răspunsul CTL împotriva proteinelor *rev* și *tat* în cursul replicării virale inițiale poate conferi protecție particulară față de progresia rapidă a bolii.

În perioada asimptomatică a infecției HIV răspunsul anti-HIV al CTL pare a fi stabil, limfocitele CTL anti-HIV reprezentând aprox. 1% din numărul total al limfocitelor circulante.

Paralel cu progresia bolii, încărcătura virală crește, răspunsul specific CTL anti-HIV scade. În stadiile avansate ale bolii numărul limfocitelor CD4 scade dramatic și CTL efectoare dispar. Această cinetică a răspunsului CTL anti-HIV subliniază rolul CTL în supresia replicării virale și în reducerea progresiei bolii⁵.

Se descriu corelații negative între activitatea CTL și încărcătura virală, respectiv corelații pozitive între activitatea CTL HIV-specifică și numărul limfocitelor CD4 sau răspunsul lor proliferativ¹.

Rolul imunoprotector: limfocitele CD8 au rol major în apărarea intrinsecă imună a organismului față de virusul HIV în fazele incipiente ale bolii. Limfocitele CD8 citolitice produc prin imunocitoliză directă distrugerea unei bune părți a limfocitelor CD4, purtătoare de virus HIV, prin recunoașterea antigenului glicoproteic gp120 de pe membrana limfocitului CD4 (fie exprimat fenotipic datorită prezenței genomului HIV integrat în genomul celular, fie consecutiv adsorbției acestui antigen pe receptorul CD4)¹⁸.

Limfocitele CD8 necitolitice sintetizează β -chemokine și interleukină-16, care ocupă prin competiție co-receptorii de pe limfocitele CD4. Imunomodularea limfocitelor CD8 necitolitice reprezintă o modalitate terapeutică¹⁸.

La un număr redus de persoane cu infecție HIV s-a observat o evoluție deosebit de benignă a bolii, aceste persoane fiind denumite „long-term non-progresori” (LTNP), în acest grup fiind incluși și persoanele „very slow” progresori și adevărații non-progresori. Numeroase studii au descris un răspuns CTL anti-HIV susținut în LTNP și consideră rolul acestor CTL anti-HIV în supresia îndelungată a replicării virale și menținerea fazei asimptomatice a bolii⁵.

La această categorie de bolnavi activitatea anticorpilor neutralizanți este redusă, ceea ce subliniază rolul important al răspunsului CTL în reducerea ratei progresiunii bolii^{5,6}.

Un număr mic de persoane expuse infecției (prin contact sexual, expunere intrauteri-

nă sau ocupațională) rezistă infecției, ceea ce implică factori genetici și dobândiți.

S-a demonstrat un grad de rezistență moștenită la HIV printr-o formă defectivă a co-receptorului CCR5. Homozigoții la deleția a 32 perechi de baze pe locusul co-receptorului CCR5 prezintă susceptibilitate virtual abolită la infecție¹⁴. De asemenea, persoanele caracterizate prin reacție imună anti proteine gag-p24 se încadrează în grupul persoanelor la care transmisibilitatea virusului HIV este redusă^{11,9}.

S-au descris numeroși alți factori implicați în reducerea ratei de progresie a bolii, dar cu efect scăzut/absent la prevenirea transmiterii infecției.

Rolul imunosupresiv al limfocitelor T citotoxice se manifestă prin contribuția lor la accentuarea imunodepresiei, prin mecanismele deja amintite¹⁸.

Printre mecanismele care contribuie la decăderea activității protective a CTL anti-HIV se numără:

- expansiunea clonală și activarea prelungită a limfocitelor CD8 duce la limitarea capacității lor replicative⁵.
- lipsa activității limfocitelor CD4⁵.
- efectele variației antigenice⁵.

Bibliografie

1. Aasa-Chapman MM, Hayman A, Newton P et al. Development of the antibody response in acute HIV-1 infection. in AIDS 2004;18: 371-381
2. Antonsson L, Boketoft A, Garzino-Demo A et al. Molecular mapping of epitopes for interaction of HIV-1 as well as natural ligands with the chemokine receptors, CCR5 and CXCR4. in AIDS.2003;17: 2571-2579.
3. Biswas P, Mantelli B, Sica A et al. Expression of CD4 on human peripheral blood neutrophils. in Antiviral Therapy Abstracts presented at The 2nd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment, Paris, France, 13-16 July. 2003; 8:suppl. S257.
4. David A, Perez-Bercoff D, Wlodarczyk M et al. Activation through FCγR inhibits HIV-1 integration in macrophages. In Antiviral Therapy Abstracts presented at The 2nd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment, 2003; 8: suppl. S283.
5. Gamberg J, Grant M. Cytotoxic T lymphocytes in human immunodeficiency virus type-1 infection. Important or impotent?. in Clinical and Applied Immunology Reviews 2000;17:17-36
6. Gloster E; Newton P; Cornforth Det al. Association of strong virus-specific CD4 T cell responses with efficient natural control of primary HIV-1 infection. in AIDS 2004 18: 749-755
7. Grossman Z, Minand B, Paul WE. Homeostatic regulation of naive and memory T cells: implications for viral and cellular dynamics in HIV infection. in Antiviral Therapy Abstracts presented at The 2nd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment, 2003; 8: suppl.S293
8. Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS. HIV-Medicine 2005, Flying Publishers, www.HIV-Medicine.com, 2005.
9. Josiah E, King D, Boaz T et al. Evidence for gag p24-specific CD4 T cells with reduced susceptibility to R5 HIV-1 infection in a UK cohort of HIV-exposed-seronegative subjects. in AIDS, 17:2299-2311.
10. Karlsson I, Antonsson L, Shi Y et al. HIV biological variability unveiled: frequent isolations and chimeric receptors reveal unprecedented variation of coreceptor use. in AIDS 2003;17: 2561-2569
11. Marchetti G, Meroni L, Molteni C et al. Interleukin-2 immunotherapy exerts a differential effect on CD4 and CD8 cell dynamics. in AIDS 2004;18:211-216.
12. McCune JM. The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. in Nature Insight ;2001; 410: 974-979.
13. McMichael AJ, Rowland SL, Jones P. Cellular immune responses to HIV. in Nature Insight; 2001;410: 980-987.
14. Nixon DF, Aandahl EM, Sandberg JK. New observations on CD8 cell responses. in AIDS 2003;17:suppl. S61-S65
15. Schoub BD. AIDS & HIV in perspective. A guide to understand the virus and its consequences, Cambridge University Press,1999.
16. Shacklett BL, Yang O, Hausner Maet al. Optimization of methods to assess human mucosal

- T- cell responses to HIV infection and vaccination. in Antiviral Therapy Abstracts presented at The 2nd IAS Conference on HIV
17. Turgeon ML. ed. Immunology & serology in laboratory medicine. Mosby-Year Book Ink.,1996.
 18. Voiculescu C. Actualități în infecția HIV/ SIDA, București, Ed. Medicală, 2000.
 19. Zamarchi T *et al.* B cell activation in peripheral blood and lymph nodes during HIV infection. in AIDS 2004;17:suppl. S99-S101
 20. Weiss L, Donkova-Petrini V, Caccavelli L et al. Expansion of CD4+ CD25+ Regulatory T-cells wich supress HIV-specific CD4 T-cell responses in HIV- infected patients. in Antiviral Therapy Abstracts presented at The 2nd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment, Paris, France, 13-16 July. 2003; 8:suppl. S227.