

Aus dem
Institut für Neuropathologie
der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. H. Kretzschmar
Ehemaliger Vorstand: Prof. Dr. med. P. Mehrain

**Interleukin-1 β bei der HIV-1 Infektion
des Zentralen Nervensystems**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Kianusch Tafazzoli
aus Isfahan/Iran

2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. P. Mehrain

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. D. Goebel

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. S. Weis

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 09.10.2003

gewidmet

Meinen Eltern
und meinem Großvater

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1
1.1. HIV (Human immunodeficiency virus) und AIDS	3
1.1.1. Historie	3
1.1.2. Klassifikation	3
1.1.3. HIV Infektion und AIDS	5
1.2. HIV Enzephalopathie	8
1.2.1. Klinik	8
1.2.2. Neuropathologische Veränderungen	9
1.2.2.1. HIV-1 Enzephalitis (HIVE)	9
1.2.2.2. HIV-1 Leukoenzephalopathie (HIVL)	10
1.2.2.3. Lymphozytäre Meningitis (LM) und lymphozytäre, perivaskuläre Infiltration (PLI)	10
1.2.2.4. Vacuoläre Myelopathie (VM) und vacuoläre Leukoenzephalopathie (VL)	10
1.2.2.5. Opportunistische Infektionen und Neoplasien	11
1.3. Chemokine	14
1.3.1. Struktur und Funktion der Chemokine	14
1.3.2. Chemokine Rezeptoren	16
1.3.3. Chemokine Synthese	17
1.3.4. Interleukin-1 β	17
2. Material und Methoden	18
2.1. Material	18
2.1.1. Patienten	18

2.1.2.	Gewebeproben	18
2.1.3.	Antikörper	19
2.1.4.	Immunhistochemische Färbung (Avidin-Biotin Methode)	19
2.1.5.	Auswertung	20
2.1.6.	Statistische Auswertung	21
3.	Ergebnisse	22
3.1.	Frontallappen	23
3.3.	Parietallappen	24
3.2.	Fronto-Orbitalregion	25
3.4.	Temporallappen	26
3.5.	Occipitallappen	27
3.6.	Basalganglien und Capsula interna	28
3.6.	Thalamus und Mittelhirn	29
3.7.	Pons und Medulla oblongata inkl. Nc.olivarius	30
3.8.	Kleinhirn und Nucleus dentatus	31
4.	Diskussion	32
5.	Zusammenfassung	40
6.	Literaturverzeichnis	42
7.	Anhang	51
8.	Danksagung	54
9.	Lebenslauf	55

1. Einleitung

Etwa 50 % der Erwachsenen, die HIV-1 infiziert sind und unter AIDS (acquired immuno deficiency syndrome) leiden, entwickeln neurologische Symptome (Kim et al., 2003). Dieser Symptomkomplex wird auch als HIV-1 assoziierte Demenz oder AIDS Demenz Komplex bezeichnet. Der rezenteste Terminus beinhaltet die Symptomatik und lautet HIV-1 assoziierter kognitiver und motorischer Komplex (AIDS medical glossary; 1997).

Die histologische Untersuchung des Zentralen Nervensystems von HIV-1 infizierten Patienten zeigen einige Veränderungen, unter anderem das Vorhandensein von mehrkernigen Riesenzellen (multinucleated giant cells, MGC), einer Vermehrung der Astroglia und der Mikroglia. Desweiteren ist eine Verminderung der Anzahl von Nervenzellen bzw. eine Schädigung des Neokortex, des limbischen Systems und der Basalganglien zu erkennen. Zudem liegen spezifische Veränderungen des ZNS bei Vorhandensein von opportunistischen Infektionen (z.b. CMV, Cryptokokken, Toxoplasmose) oder Neoplasien vor.

Wie bereits länger bekannt, können Makrophagen, Mikroglia Zellen und MGC's mit HIV-1 infiziert werden, jedoch sind Nervenzellen gegenüber einer HIV-1 Infektion resistent (Mucke et al., 1995). Somit besteht zum einen die Frage, wie die HIV-1 Infektion eine Schädigung des Gehirnes verursachen kann ohne eine direkte Virusvermehrung in den Nervenzellen und zum anderen wie die Infektion des ZNS mit dem HI-Virus erfolgt.

Um das Hirngewebe zu erreichen, muss das HIV-1 die Blut-Hirn-Schranke (blood-brain-barrier, BBB) überwinden. Bisher existieren hierzu drei Theorien: Erstens, HIV-1 infiziert die Endothelzellen der BBB und dringt in das ZNS als zell-freies Virus ein. Die zweite Theorie beinhaltet die Zerstörung der BBB durch Cytokine oder andere Faktoren, welches somit einen zell-assoziierten oder zellungebundenen Eintritt des Virus in das ZNS erlaubt. Die dritte Theorie besagt, dass HIV-1 in das ZNS mittels infizierten Monozyten oder Lymphozyten eindringt.

Im Hirngewebe von HIV-1 infizierten Patienten ist HIV-1 mRNA fast ausschliesslich in Mikroglia oder Gehirn-Makrophagen und Zellen der Monozyten/Makrophagen Zellreihe nachzuweisen (Kure et al., 1990).

Bei Patienten mit einer HIV-Enzephalitis konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Neurodegeneration und der nachweisbaren Menge von HIV-1 gp 41 (Glykoprotein der Virushülle) im ZNS besteht (Achim et al., 1994). In Abwesenheit einer HIV-1 Infektion der Nervenzellen ist es wahrscheinlich, dass die Neurodegeneration bei der HIV-1 Enzephalitis verursacht wird durch einen indirekten Mechanismus. Dies erfolgt ausgehend von Faktoren, die von virusinfizierten Monozyten/Makrophagen freigesetzt werden (Bell et al., 1993). Eine HIV-1 assoziierte Neurodegeneration kann entweder durch neurotoxische Effekte (verursacht durch virale Produkte) oder die Expression von endogenen Faktoren (wie z.B. Cytokine, excitotoxische Aminosäuren oder bioaktive Lipidmediatoren) bedingt sein.

Der Anstieg des Spiegels von verschiedenen inflammatorischen Cytokinen, hierunter Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6), Tumornekrosefaktor α (TNF α) konnte bei HIV-1-infizierten Patienten nachgewiesen werden. Zellkulturen von HIV-1 infizierten Leukozyten produzieren *in vitro* hohe Mengen an IL-1, IL-6 und TNF- α (Merill et al, 1993). In Zellkulturen von menschlichen Gliazellen konnte nachgewiesen werden, dass eine Stimulation mit Proteinen der HI-Virushülle (env-Proteine) zu einer signifikanten Produktionssteigerung von IL-1, TNF- α und Stickoxiden (NO) führt (Koka et al., 1995). Im Hirngewebe von dementen HIV-1 infizierten Patienten wurden signifikant höhere Werte von IL-1 und TNF- α als im Hirngewebe von neurologisch unauffälligen HIV-1 infizierten Patienten nachgewiesen (Tyor et al., 1992).

Wie einige Arbeitsgruppen zeigten, produzieren humane Makrophagen, Astrozyten und Mikroglia NO via iNOS (inducible nitric oxide synthase) in Abhängigkeit von einer Stimulation durch HIV-1 Proteine (gp 120) und Cytokinen (Murphy et al., 1993, Lee et al., 1993). IL-1 β , als Cytokin der Chemokinfamilie kann die Expression und Aktivität von Enzymen verändern, so auch die iNOS, deren Produkte (NO) hochgradig zytotoxisch sein können (Corasaniti et al., 1998).

Zur weiteren Abklärung der Hypothese, in der Cytokine, wie Interleukin-1 β eine entscheidende Rolle bei der Pathophysiologie der HIV-1 assoziierten Neurodegeneration spielen, erfolgte diese Studie.

An Gehirnen von HIV-1 infizierten Patienten und einer Kontrollgruppe erfolgte eine immunhistochemische Untersuchung. Mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen Interleukin-1 β wurden verschiedene Regionen des zentralen Nervensystems untersucht. Das Ziel dieser Studie ist es, Unterschiede bezüglich des Nachweises von Interleukin-1 β bei HIV-1 infizierten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe darzustellen. Der Nachweis von Interleukin-1 β erfolgte unterteilt nach der Anzahl der immunpositiven Zellen und der jeweiligen Region, intracerebral.

1.1 HIV (Human immunodeficiency virus) und AIDS

1.1.1 Historie

Bisher haben sich weltweit mehr als 60 Millionen Menschen mit dem humanen Immunschwächevirus (Human Immunodeficiency Virus, HIV) infiziert, allein im Jahre 2002 sind rund 42 Millionen Menschen HIV infiziert (UNAIDS/WHO 2002). Die ersten Berichte über das Auftreten des erworbenen Immunschwächesyndroms (AIDS, acquired immune deficiency syndrome) stammen aus dem Jahre 1981 (Gottlieb et al., 1981). Im Mai 1983 erfolgten die ersten Berichte über die Identifizierung des Human immunodeficiency virus Type I (HIV I) von Barré-Sinoussi und seinen Kollegen aus dem Institut Pasteur (Barré-Sinoussi et al., 1983). Später erbrachte die weitere Forschung in Gallo's Laboratorien in Bethesda den Beweis, dass dieser Virus die Ursache für AIDS ist (Gallo et al., 1984).

Mittlerweile kennt man mindestens zwei HIV-Typen, deren Genome zu etwa 40 % übereinstimmen: HIV-1 und HIV-2. HIV-2 ist in West-Afrika endemisch und inzwischen auch in Indien verbreitet. HIV-2 wurde erstmals serologisch in Dakar 1985 nachgewiesen (Kanki et al., 1985) und durch Clavel 1986 isoliert (Clavel et al., 1986). Weltweit werden jedoch die meisten AIDS-Fälle von HIV-1 verursacht.

1.1.2. Klassifikation

Retroviren werden anhand ihrer elektronenmikroskopischen Morphologie und ihrer klinischen Manifestation in folgende drei Gruppen eingeteilt:

Spumaviren können aus Gewebeproben von Menschen und Primaten isoliert werden und verursachen eine charakteristisch schaumige Vakuolisierung von Zellen in Zellkulturen. Sie konnten bis jetzt nicht mit einer spezifischen Erkrankung assoziiert werden.

Die *Oncoviren* sind assoziiert mit einer Tumorentwicklung bei einer Vielzahl von Tieren. Eine Art, das humane T-lymphotrope Virus (HTLV-1), wird mit einigen T-Lymphomen assoziiert ist.

Die dritte Gruppe, die *Lentiviren*, zeichnen sich durch eine prolongierte Latenz zwischen Infektion und klinischen Manifestationen aus. Zu dieser Gruppe gehört auch HIV. Alle diese Viren sind vergesellschaftet mit einer lebenslang persistierenden Infektion.

Jedes Viruspartikel enthält zwei Kopien eines RNA-Genoms. HIV dringt mit Hilfe eines Komplexes aus zwei nicht kovalent verbundenen Glykoproteinen (gp 120 und gp 41) der Virushülle in die Zelle ein. gp 120 bindet an der Zelloberfläche hochaffin an CD4. Durch dieses Protein steuert das Virus CD4-T-Zellen und Makrophagen an, die ebenfalls im geringen Umfang CD4 exprimieren. Die gp-41 Komponente induziert daraufhin eine Fusion der Virushülle mit der Plasmamembran der Zelle und ermöglicht dem viralem Genom und den assoziierten Virusproteinen, ins Cytoplasma zu gelangen. Die Fusion, sowie das Eindringen des Virus ist davon abhängig dass die Membran der Wirtszelle einen Corezeptor enthält. An dieser CC-Chemokin Rezeptor, CC-CKR-5, binden die CC Chemokine RANTES, MIP-1 α und MIP-1 β .

Eines der Proteine, das mit dem viralen Genom in die Zelle gelangt, ist die Reverse Transkriptase. Sie übersetzt die virale RNA in eine komplementäre DNA (cDNA). Diese wird dann durch eine Integrase in das Genom der Wirtszelle eingebaut. Die integrierte cDNA bezeichnet man als Provirus.

Das gesamte HIV Genom besteht aus neun Genen, die von langen terminalen Wiederholungen (long terminal repeats, LTRs) eingerahmt werden. Die LTRs werden für die Integration des Provirus in die DNA der Wirtszelle benötigt.

HIV besitzt wie alle anderen Retroviren auch die drei Hauptgene *gag*, *pol*, *env*. Das *gag*-Gen codiert die Strukturproteine für das Kernstück des Virus. Das *pol*-Gen trägt die Information für die Enzyme der Virusduplikation und –integration. Das *env*-Gen codiert die Information für die Glykoproteine der Virushülle. Die übrigen sechs Gene (*tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* *nef*) codieren Proteine, die die Replikation und Infektiosität des Virus beeinflussen.

Ein zellulärer Transkriptionsfaktor, der in allen aktivierten T-Zellen vorhanden ist, stimuliert die Bildung von Viruspartikeln aus dem integrierten HIV Provirus. Die viralen Gene *tat* und *rev* kodieren für die Proteine Tat und Rev. Tat amplifiziert die Transkription der viralen RNA. Rev erhöht den Transport viraler RNA ins Cytoplasma. Nach der Zusammensetzung der HI-Viren erfolgt die Freisetzung der Viren aus dem Cytoplasma.

Die Zerstörung der CD4-T-Zellen erfolgt wahrscheinlich über folgende drei Arten: erstens zerstört das Virus die infizierten Zellen direkt, zweitens wird bei infizierten Zellen der programmierte Zelltod (Apoptose) leichter ausgelöst und drittens zerstören cytotoxische CD8-T-Lymphocyten, welche virale Peptide erkennen, infizierte CD4-T-Zellen.

1.1.3. HIV Infektion und AIDS

Die HIV-Erkrankung wird nach der gängigen CDC-Klassifikation in die drei klinischen Kategorien A, B und C und in die drei CD4-Zellzahlbereiche 1, 2 und 3 eingeteilt. In der so entstehenden 3x3-Matrix werden die Patienten in die Untergruppen A1 bis C3 eingeordnet.

Die drei klinischen Kategorien entsprechen Symptomkomplexen oder Erkrankungen, die im Laufe der HIV-Infektion auftreten können (Tabelle 2):

Kategorie A entspricht im Wesentlichen dem asymptomatischen Stadium der Infektion,
Kategorie B umfaßt symptomatische Patienten ohne AIDS,
Kategorie C umfaßt Patienten mit AIDS.

Neuklassifizierungen sind nur von A in Richtung C und von 1 in Richtung 3 möglich. Rückstufungen, etwa von B nach A bei Rückbildung eines Mundsoors oder von 3 nach 2 bei Anstieg der CD4-Zellen von 180 auf 220 pro Mikroliter– werden nicht vorgenommen.

Laborkategorie CD4-Zellen/ μ l	Klinische Kategorie		
	A (asymptomatisch)	B (symptomatisch) (kein Aids)	C (symptomatisch) (AIDS)
1 > 500	A1	B1	C1
2 200-499	A2	B2	C2
3 <200	A3	B3	C3

Tabelle 1: Darstellung der Einteilung der HIV Infektion nach der CDC Klassifikation (Castro et al., 1992)

Die klinischen Kategorien A bis C der CDC-Klassifikation

Kategorie A

- Asymptomatische HIV-Infektion
- Persistierende generalisierte Lymphadenopathie (LAS)
- Akute, symptomatische (primäre) HIV-Infektion (auch in der Anamnese)

Kategorie B

Krankheitssymptome oder Erkrankungen, die nicht in die AIDS-definierende Kategorie C fallen, dennoch aber der HIV-Infektion ursächlich zuzuordnen sind oder auf eine Störung der zellulären Immunabwehr hinweisen. Hierzu zählen:

- Bazilläre Angiomatose
- Oropharyngeale Candida-Infektionen
- Vulvovaginale Candida-Infektionen, die entweder chronisch (länger als einen Monat) oder nur schlecht therapierbar sind
- Zervikale Dysplasien oder Carcinoma in situ
- Konstitutionelle Symptome wie Fieber über 38.5 oder eine länger als 4 Wochen bestehende Diarrhoe
- Orale Haarleukoplakie
- Herpes zoster bei Befall mehrerer Dermatome oder nach Rezidiven in einem Dermatom
- Idiopathische thrombozytopenische Purpura
- Listeriose
- Entzündungen des kleinen Beckens, besonders bei Komplikationen eines Tuben- oder Ovarialabszesses.
- Periphere Neuropathie

Kategorie C

AIDS-definierende Erkrankungen

- Pneumocystis carinii-Pneumonie
- Toxoplasma-Enzephalitis
- Ösophageale Candida-Infektion oder Befall von Bronchien, Trachea oder Lungen
- Chronische Herpes simplex-Ulzera oder Herpes-Bronchitis, -Pneumonie oder -Ösophagitis
- CMV-Retinitis
- generalisierte CMV-Infektion (nicht von Leber oder Milz)
- Rezidivierende Salmonellen Septikämien
- Rezidivierende Pneumonien innerhalb eines Jahres
- Extrapulmonale Kryptokokkeninfektionen
- Chronische intestinale Kryptosporidieninfektion
- Chronische intestinale Infektion mit Isospora belli
- Disseminierte oder extrapulmonale Histoplasmose
- Tuberkulose
- Infektionen mit Mykobakterium avium complex oder M.kansasii, disseminiert oder extrapulmonal
- Kaposi-Sarkom
- Maligne Lymphome (Burkitt's, immunoblastisches oder primäres zerebrales Lymphom)
- Invasives Zervix-Karzinom
- HIV-Enzephalopathie
- Progressive multifokale Leukenzephalopathie
- Wasting Syndrom

Tabelle 2: Darstellung der Einteilung in die CDC Klassifikation anhand der klinischen Symptome und der Krankheitsbilder. (Castro et al., 1992)

1.2. HIV Enzephalopathie

1.2.1. Klinik

Neurologische Zeichen und Symptome sind bei über 50% HIV-1 infizierter Patienten zu erkennen. In ca. 10% sind neurologische Symptome die Erstmanifestation der HIV Infektion. Der Beginn ist schleichend und der Krankheitsverlauf erstreckt sich über mehrere Monate mit einem allmählichen Verlust der kognitiven Fähigkeiten. Zunächst fallen Konzentrations-Schwierigkeiten auf. Die Leistung des Kurzzeitgedächtnisses lässt nach. Die Patienten sind lustlos, ziehen sich aus früheren sozialen Bindungen zurück. Es können Verhaltensveränderungen auftreten, z.B. Apathie, Verminderung der Libido. Als motorische Zeichen können Gangunsicherheit, eine beinbetonte Schwäche bis hinzu Paresen sowie ein Tremor entstehen (Jansen et al., 1991). Die Entwicklung einer Demenz mit Stuhl- und Urininkontinenz ist mit fortschreitender Erkrankung möglich, jedoch selten. Bei Kindern können im Rahmen einer HIV-1-Enzephalitis ein verlangsamtes Gehirnwachstum, eine globale Entwicklungsretardierung mit verspätetem Erreichen der Meilensteine der Entwicklung auftreten. In Hinblick auf motorische Defizite können Paresen, ein abnormaler Muskeltonus, pathologische Reflexe, eine Ataxie sowie Gangstörungen bestehen (Epstein et al., 1985).

Psychosen (Halluzinationen, Manien, paranoide Symptome) kommen vor, vor allem auch im Zusammenhang mit interkurrenten opportunistischen Infektionen (z.B. Pneumocystis-carinii-Pneumonien) und bessern sich zum Teil nach deren erfolgreicher Behandlung. Fokale Störungen wie eine Hirnstammeteiligung mit Doppelbildern, Dysarthrie und ataktischen Phänomenen sind selten. Das Auftreten zerebraler Krampfanfälle kann durch eine HIV-1 Enzephalopathie begünstigt werden.

1.2.2. Neuropathologische Veränderungen

Bei der histologischen Untersuchung von Gehirnen von HIV-1 infizierten Patienten sind einige neuropathologischen Veränderungen zu erkennen, darunter Veränderungen, die primär oder sekundär durch eine HIV-1 Infektion verursacht sind.

Primäre neuropathologische Veränderungen sind die HIV-1 Enzephalitis (HIVE) und die HIV-1 Leukoenzephalopathie (HIVL). Eine lymphozytäre Meningitis (LM) sowie eine lymphozytäre perivaskuläre Infiltration (PLI) sind als Zeichen der Frühstadien der Infektion zu deuten (Weis et al., 1993).

1.2.2.1. HIV-1 Enzephalitis (HIVE)

HIV-1 Enzephalitis ist charakterisiert durch eine multiple verstreute Anhäufung von Microglia, Macrophagen und mehkernigen Riesenzellen (multinucleated giant cells, MGC) in sogenannten gliomesenchymalen Knoetchen. Diese Knoetchen sind überwiegend im Kortex und in der weißen Substanz vorzufinden. MGC wurden erstmals von Scharer et al. (1988) beschrieben und stellen das Kennzeichen der HIV-1 Enzephalopathie dar. Sie setzen sich aus bis zu 20 runden oder elongierten basophilen Nuclei zusammen, welche sich am Rand der Zelle befinden. Das Zytoplasma ist eosinophil, erscheint stark angefärbt im Zentrum und vacuolär im Randbereich. Die Zellen stammen aus der Monozyten/Histiocyten Zellreihe und sind Microglia/Macrophagen (Budka et al., 1987).

Die Nukleinsäuren von HIV Proteinen konnten im Zytoplasma der MGC nachgewiesen werden. Ebenso konnte elektronenmikroskopisch gezeigt werden, dass retrovirale Partikel entweder frei im Cytoplasma oder in cytoplasmatischen Cysternen vorzufinden sind (Budka et al., 1987). Microglia, Macrophagen und vielkernige Riesenzellen sind zur Synthese von HIV-1 Partikel befähigt, und sind somit zum einen als Hauptreservoir und zum anderen als Transportvehikel anzusehen.

1.2.2.2. HIV-1 Leukoenzephalopathie (HIVL)

Die HIV-1 Leukoenzephalopathie ist charakterisiert durch eine diffuse Schädigung der weißen Substanz verbunden mit dem Verlust von Myelin, einer reaktiven Astroglieose und dem Vorhandensein von Macrophagen und vielkernigen Riesenzellen. Eine inflammatorische Infiltration ist nicht oder nur zu einem geringen Grade zu erkennen.

1.2.2.3. Lymphozytäre Meningitis (LM) und lymphozytäre, perivaskuläre Infiltration (PLI)

Lymphozytäre Meningitis (LM) ist charakterisiert durch eine signifikante lymphozytäre Infiltration der Leptomeningen, die lymphozytäre perivaskuläre Infiltration durch eine signifikante lymphozytäre Infiltration des perivaskulären Raumes des Hirngewebes (Budka et al., 1991).

1.2.2.4. Vacuoläre Myelopathie (VM) und vacuoläre Leukoenzephalopathie (VL)

Die vacuoläre Myelopathie (VM) und vacuoläre Leukoenzephalopathie (VL) sind Veränderungen, wahrscheinlich verursacht durch HIV-1, wobei es noch nicht ganz geklärt ist, ob diese Veränderungen ein direkter Effekt oder eine sekundäre Veränderung durch die HIV-1 Infektion sind.

Die vacuoläre Myelopathie ist gekennzeichnet durch eine deutliche vacuoläre Anschwellung von Myelin und das Vorhandensein von Macrophagen in mehreren Bereichen des Rückenmarkes (Artigas et al., 1990). VM tritt vorwiegend im Hinterstrang (Funiculus posterior) auf.

Die vacuoläre Leukoenzephalopathie (VL) ist charakterisiert durch eine deutliche vacuoläre Anschwellung von Myelin im Bereich der zentralen weißen Substanz. VL ist eine seltene Veränderung.

1.2.2.5. Opportunistische Infektionen und Neoplasien

Opportunistische Infektionen des zentralen und peripheren Nervensystems bei HIV-1 infizierten Patienten umfassen virale Infektionen, parasitäre Infektionen und Pilzinfektionen.

Cytomegalie Virus Infektion

Das Cytomegalie Virus (CMV) befällt Neuronen und Gliazellen und Mikrogliazellen. Eine Knoetchenbildung ist im gesamten Nervensystem disseminiert vorhanden. Innerhalb dieser Knoetchen zeichnen sich CMV infizierte Zellen durch intrazellulär liegende Einschlusskörper aus. CMV infizierte Knötchen in der grauen und weißen Substanz sind üblicherweise von keinem nekrotischem Areal umgeben; hingegen sind nekrotische Areale periventrikulär mit CMV infizierten Zellen (mit klassischen Cowdry A Einschlusskörpern) zu finden.

Progressive multifokale Leukoenzephalopathie (PML)

Der Erreger der progressiven multifokalen Leukoenzephalopathie ist der Papovavirus. Charakteristisch für die PML sind mottenfrassaehnliche Veränderungen der weißen Substanz. Diese erscheint in mehreren Arealen erweicht und fleckig. Histologisch finden sich bei der PML multiple demyelinisierte Herde in der weißen Substanz, mit fehlenden Myelinscheiden, und bizarr vergrößerten Astrozyten sowie großen angeschwollenen Oligodendrocyten mit intranuclearen Einschlüssen.

Parasitäre Infektionen

Toxoplasma gondii

Bei einer Infektion des ZNS mit Toxoplasma gondii erscheinen Läsionen makroskopisch durch nekrotische Zonen umgeben mit einem hyperämischen Areal und kleinen Einblutungen. Diesen Zonen sind von einem umschriebenen Ödem umgeben.

Mikroskopisch sind in den nekrotischen Arealen Lymphozyten, Plasmazellen und Histozyten zu erkennen, gelegentlich in hoher Anzahl, so dass die Zonen einem Lymphom sehr ähnlich

erscheinen. Diese Läsionen sind umgeben von reaktiven Astrozyten und aktivierten Microglia. Toxoplasmen können in zwei Formen erscheinen: in Zysten eingeschlossene Organismen und als Tachyzoiten in kleiner oder großer Anzahl diffus verteilt im Zwischenbereich der Nekrosen und dem intakten Hirngewebe.

Pilzinfektionen

Aspergillus fumigatus

Makroskopisch kann man nekrotische Areale in verschiedenen Regionen von Gehirnen der mit *Aspergillus* infizierten Patienten erkennen. *Aspergillus* befällt überwiegend große Blutgefäße, so dass Läsionen häufig mit einer Hämorrhagie und hämorrhagischer Infarzierung in großen Arealen des Gehirnes verknüpft sind. Mikroskopisch ist die Gefäßwand durchzogen von verzweigten Pilzhyphen. Die Thrombosierung der Gefäße und die Invasion des Pilzes in das Hirngewebe verursachen die Nekrose des Hirngewebes.

Candida albicans

Häufig sind nur unspezifische Veränderungen bei der Infektion mit *Candida albicans* zu erkennen. Gelegentlich ist ein geringfügiges Ödem sowie eine gelbliche Erweichung des Hirngewebes zu erkennen. Histologisch können multifokale Mikroabszesse gefunden werden, bestehend aus polymorphkernigen, monozytären und microglialen Zellen, teilweise umgeben von Nekrosen.

Cryptococcus neoformans

Makroskopisch ist das Erscheinungsbild von Hirnläsionen, bedingt durch *Cryptococcus* sehr variabel. Manchmal sind keine Veränderungen erkennbar, oder es sind kleine oder größere gelatinöse Areale nachweisbar. Die gelatinösen Areale bestehen histologisch gesehen aus dicken mucinpositiven Kapseln, welche die *Cryptococcus*sporen enthalten. Begleitend können minimale Entzündungsreaktionen in der Umgebung der Kapseln auftreten.

Neoplasien

Lymphome können als primäre oder sekundäre Läsionen auftreten. Primäre Lymphome treten häufig im AIDS infizierten Hirngewebe auf. Multifokale Läsionen können makroskopisch in allen Hirnregionen auftreten, diese sind teilweise nekrotisch oder hämorrhagisch verändert. Die Lymphome bestehen aus einer hohen Anzahl von großen, pleomorphen malignen Zellen und einem variablen Anteil von Zytoplasma. Die meisten Lymphome sind B-Zell Tumore. Die Infiltration des Tumors besteht entweder nur aus einem Einzelzellverband oder aus Zellen welche diffus in das angrenzende Gewebe infiltrieren. Ebenso ist die diffuse Infiltration in Blutgefäße zu beobachten.

1.3. Chemokine

1.3.1. Struktur und Funktion der Chemokine

Chemokine sind chemotaktische Cytokine, welche eine Hauptrolle in der Pathophysiologie des Immunsystems bei Infektionen und anderen Krankheiten spielen. Chemokine sind an der Migration von Leukozyten, an der Angiogenese, Hämatopoese sowie an der Organogenese beteiligt (Locati und Murphy, 1999). Weitere biologische Effekte von Chemokinen im Bereich von Entzündungen sind zum einen die Stimulierung der Produktion von Eicosanoiden, Histamin, Stickoxiden, Kinin, Thrombozytenaktivierungsfaktor und zum anderen die Induktion der Produktion von Akut-Phasenproteinen. Chemokine haben auch eine gefässerweiternde Funktion. Im Bereich der Wundheilung sind Chemokine wichtig für die Angiogenese, die Blutgerinnung und die Steigerung der Proliferationsrate von Fibroblasten, Synovialzellen und Endothelzellen. Bei der Elimination von Antigenen dienen Chemokine zur Differenzierung von B-Zellen zu antikörper-produzierenden Lymphozyten, zur Stimulierung der B- und T-Zell Vermehrung und der Chemotaxis (Schöbitz et al., 1994).

Über 40 Chemokine sind bis heute identifiziert worden, deren Rolle zu Beginn noch unklar waren. 1987 wurde entdeckt, dass Interleukin-8 ein neutrophil-spezifischer chemotaktischer Faktor ist, der von Monozyten abstammt (Yoshimura et al., 1987). Seitdem wird den Chemokinen unter Normal- sowie Notfallbedingungen eine Schlüsselrolle in der Anziehung von Leukozyten bei Entzündungen und der Immunität zugesprochen.

Chemokine bestehen aus einer Einfach-Polypeptid Kette mit einer Länge von 70- 100 Aminosäuren (aa) und mit einem Molekulargewicht von 8-10 kD. Sie besitzen eine von 20 bis 70 prozentige Homologie in der Aminosäuren-Sequenz. Die Unterteilung erfolgt auf Grund der relativen Positionen der in den Chemokinen enthaltenen Aminosäure (AS) Cystein (Luster, 1998). Es gibt mindestens vier Familien von Cytokinen, die zwei wichtigsten und größten Familien sind die α - und β -Chemokine, welche vier Cystein AS enthalten. Bei den α -Chemokinen trennt eine Aminosäure die beiden ersten Cysteine (Cystein-X Aminosäure-Cystein, CXC), hingegen sind bei den β -Chemokinen die ersten beiden Cysteine nicht getrennt (Cystein-Cystein-X Aminosäure, CC).

Zwei Chemokine passen nicht in diese Klassifikation: Lymphotactin mit nur zwei Cystein AS (C), und Fractalkine, ein membrangebundenes Glycoprotein, bei welchen die ersten beiden Cysteine durch drei Aminosäuren (CXXXC) getrennt sind.

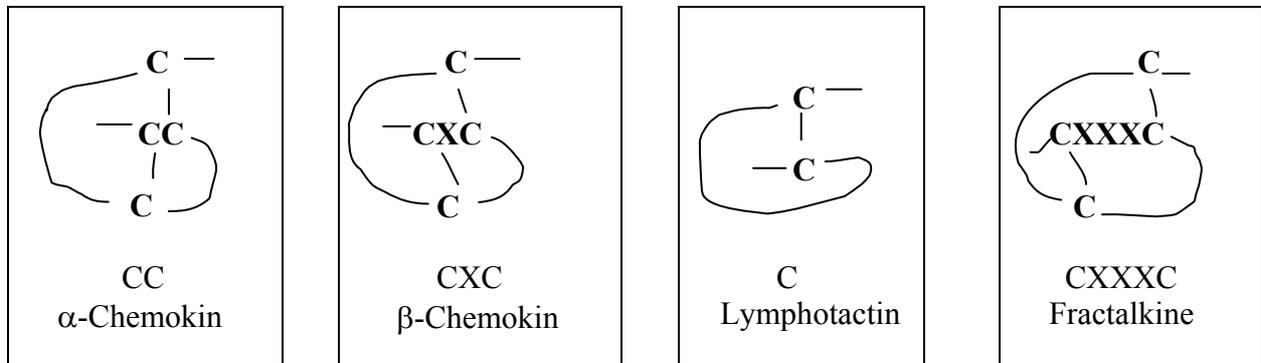


Abbildung 1: Strukturformeln α- und β-Chemokinen, Lymphotactin und Fractalkine

Die α-Chemokine können wie folgt weiter unterteilt werden: jene, die die Aminosäuresequenz Glutaminsäure-Leucin-Arginin in der Nähe des N-terminalen Endes besitzen. Diese sind chemotaktisch für Neutrophile. Und in solche Chemokine ohne diese Sequenz, die chemotaktisch für Lymphozyten sind (Luster, 1998).

Die β-Chemokine wirken chemotaktisch auf Monozyten, Eosinophile, Basophile und Lymphozyten. Die weitere Unterteilung erfolgt in zwei Untergruppen: die Monozyten-chemotaktisch-Protein-Eotaxin Gruppe und alle anderen β-Chemokine (Luster & Rothenberg, 1997). Die N-terminalen Aminosäuren sind hier ebenfalls die entscheidenden Komponenten für die biologische Aktivität und Selektivität der Chemokine. Bereits das Vorhandensein einer zusätzlichen Aminosäure am N-terminalen Ende des Proteins reduziert die Aktivität vom Monozyten-chemotaktischen Protein 1 um das 100 bis 1000 fache (Gong & Clark-Lewis, 1995).

1.3.2. Chemokin-Rezeptoren

Chemokine binden an Zelloberflächen-gebundene G-Protein Rezeptoren. Es sind 15 Chemokin-Rezeptor Subtypen bekannt, welche mehrere Chemokine der Subklassen binden können. Die Einteilung erfolgt nach der Spezifität der Bindung von den Chemokin Untergruppen. Bislang sind fünf CXC Rezeptoren (CXCR1 -5), acht CC Rezeptoren (CCR1-8), ein CXXXC Rezeptor (CXCR1) sowie ein C Rezeptor (XCR1) identifiziert worden (Locati, Murphy 1999). Die Chemokin-Rezeptoren sind überwiegend G-Rezeptoren des G_i-Types, deren Signalwirkung mittels Bordetella pertussis Toxin gehemmt werden kann. Die Bindung an die Rezeptoren führt über die Entstehung von Inositol triphosphat und der Freisetzung von intrazellulärem Calcium zur Aktivierung von Protein C (Lodi et al., 1994).

Die Rezeptoren bestehen aus einer Einfach-Polypeptid Kette und haben eine 25-80% Aminosäurehomologie. Diese und andere Aspekte der Strukturen weisen darauf hin, dass die Chemokine und deren Rezeptoren von gemeinsamen Vorgängern abstammen, die durch wiederholte Gen Duplikationen und Veränderungen entstanden sind (Locati et al., 1999).

Chemokine interagieren auch mit nicht signalgebenden Molekülen. Einer ist der Erythrozyten Chemokin-Rezeptor, DARC (Duffy antigen receptor for chemokines). Dieser wird auf Erythrozyten und Endothelzellen exprimiert und dient zur unter anderem zur Bestimmung der Duffy Blutgruppe. CC und CXC Chemokine können an diesen Rezeptor anbinden, jedoch verursacht diese Bindung keinen intrazellulären Calciumanstieg. Dieser Rezeptor könnte zum Abfangen und Eliminieren von Chemokinen dienen, die sich in der Blutzirkulation befinden (Luster, 1998). Chemokine interagieren auch mit Heparansulfat Proteoglykanen. Chemokine sind basische Proteine und werden an negative geladene Heparin- und Heparansulfate gebunden (Rot, 1992).

1.3.3. Chemokin-Synthese

Makrophagen und von Makrophagen abstammende Zellen werden als diejenigen Zellen betrachtet, die als Hauptsynthesequelle von Chemokinen anzusehen sind. Jedoch können andere Immun- und nichtimmunkompetente Zellen, wie Endothelzellen, Lymphozyten, Neutrophile, Keratinozyten und Fibroblasten Chemokine produzieren (Dinarello, 1991).

Im Zentralen Nervensystem (ZNS) stammen die Chemokine von Microglia, Astrocyten sowie von Neuronen ab.

Zur Stimulation der Chemokinproduktion sind viele Substanzen fähig, hierunter Lipopolysaccharide, polypeptische Exotoxine, Serum, Komplementfaktoren, Bakterien, Viren und andere Mikroorganismen, die Exposition zu UV-Licht, Traumata und Brandverletzungen, Uratkristalle, Cytokine, cAMP, Hyaluronsäure sowie einige andere Substanzen (Arai et al., 1990; Schöbitz et al., 1994).

1.3.4. Interleukin-1 β

Die Aminopolypeptidkette vom Precursor-Interleukin-1 β besteht aus 269 Aminosäuren; nach proteolytischer Spaltung der Propeptide besteht Interleukin-1 β aus 153 Aminosäuren. Zur Spaltung des pre-Interleukin-1 β wird das IL-1 converting Enzym, die Capase 1, benötigt (Dinarello, 1994).

Der Genloci von Interleukin-1 β ist auf Chromosom 2 (2q13-21) lokalisiert, von Interleukin 1 α auf Chromosom 2q12-21. Diese beiden besitzen nur eine 20% ige Homologie.

Zur Sekretion und Produktion von Interleukin-1 β sind eine Vielzahl von Zellen fähig: Monozyten, Gewebsmacrophagen, Langerhans Zellen, dendritische Zellen, T-Lymphocyten, Killerzellen, Gefäßendothelzellen, glatte Muskulatur, Fibroblasten, Thymusepithel, Astrocyten, Microglia, Gliazellen, Keratinocyten und Chondrocyten.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Patienten

Es wurden 27 Gehirne von HIV-1 infizierten Patienten, mit klinischer Aids-Symptomatik sowie 11 nicht HIV-1 infizierten Kontrollpersonen untersucht. 8 HIV-1 Patienten wiesen neurologische oder neuro-psychologische Veränderungen (Paresen, dementielle Syndrome, Encephalopathien, extrapyramidale Störungen) auf. Das Altersprofil der HIV-1 positiven Patienten lag zwischen 25 und 53 Jahren (Mittelwert: 38 Jahre, Medianwert: 36 Jahre), und das der Kontrollgruppe zwischen 35 und 60 Jahren (Mittelwert: 48 Jahre, Medianwert: 51 Jahre). Details zu klinischen Angaben finden sich im Anhang.

2.1.2. Gewebeproben

Nach Entnahme wurden die Gehirne für die Dauer von einer Woche in einer 4% Formalinlösung freischwimmend fixiert. Zur Untersuchung wurden 13 Regionen des Gehirnes bei der Sektion entnommen. Die Unterteilung der Regionen bestand in Frontal, Orbital, Parietal, Temporal und Occipital Lappen aus dem Grosshirn. Weitere Regionen waren die Basalganglien mit Nc. caudatus, Globus pallidum und Putamen, der Thalamus, das Mesencephalon, die Pons, die Medulla oblongata mit dem Nc. olivaris inferior und dem Cerebellum mit Nc. dentatus.

Nach der Paraffin Einbettung wurden von den Präparaten ca. 4 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Objektträger zur weiteren immunhistochemischen Bearbeitung aufgezogen.

2.1.3. Antikörper

Für die immunhistochemische Färbung wurde ein monoklonaler Anti-human Interleukin 1 beta Antikörper (IL1b AK) (R&D Systems, NR. MAB 201) verwendet. Dieser Maus Ig-G Typ 1 Antikörper ist spezifisch für rh IL 1-β, und neutralisiert nicht rh IL 1-alpha. Die Konzentration der Stammlösung beträgt in sterilem Phoshat-buffered-saline (PBS) 500 µg/ml.

2.1.4. Immunhistochemische Färbung (Avidin-Biotin Methode)

Auf Objektträger aufgezogene Schnitte wurden entparaffiniert und nach absteigender Alkoholreihe in aqua dest. (a.d.) gebracht. Dann mit Triton X-100 Lösung (500ul Triton X-100 auf 1000ml H₂O) 5 min anbehandelt, und mit a.d. gespült. Für die Blockierung der endogenen Peroxidaseaktivität wurden die Schnitte für 5 min in 7,5%iger H₂O₂ Lösung eingestellt und dann 5 min fließend gewässert. Anschließend wurden die Objektträger 2x 5 min in PBS mit Brij (5ml 1:10 verdünntes Brij (Sigma 430 AG-6) auf 1000 ml PBS) eingestellt. Die Schnitte wurden mit Normalserum (DAKO X0902) 1: 50 verd. betropft und 30 min in feuchter Kammer inkubiert. Dann wurden die Objektträger abgetropft und mit IL 1-β Antikörper 1: 40 verd. über Nacht in feuchter Kammer inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Schnitte gespült und 20 min lang mit Biotin Mouse (DAKO E 354) inkubiert und erneut mit PBS+Brij gespült und 30 min mit Streptavidin (DAKO P 397) inkubiert. Die Schnitte wurden für 10 min mit PBS+Brij gespült und anschließend mit Diaminobenzidin (DAB, DAKO S 3000) (0,5mg/ml) in PBS und 0,01 H₂O₂ eingestellt und 20 min entwickelt. Anschließend wurden die Schnitte gespült und mit Hämalaun gegengefärbt.

2.1.5. Auswertung

Die Auswertung erfolgte durch mikroskopische Beurteilung. Zellen wurden als positiv gewertet, wenn im Zytoplasma einer Zelle, deren Zellkern mit Hämalaun gegengefärbt wurde, eine Braunfärbung vorhanden war, welche durch die Immunperoxidase-reaktion hervorgerufen war.

Drei Zellarten wurden bei der Auswertung bewertet: Nervenzellen, Astrocyten und Mikrogliazellen. In den Kortexregionen (Fro, Orb, Par, Tem, Occip) wurde zwischen positiven Zellen in der grauen und in der weißen Substanz unterschieden. Ferner wurde bei den Astrocyten in der grauen Substanz zwischen Astrocyten in der Schicht I und denen in den Schichten II bis VI differenziert.

Nekrotische Areale, z.B. durch CMV, Toxoplasmose und Cryptokokken Infektionen, wurden getrennt bewertet.

Der Isokortex wird nach zytoarchitektonischen und myeloarchitektonischen Gesichtspunkten in 6 Schichten unterteilt:

- Stratum molekulare (Molekularschicht, Lamina I). Sie liegt oberflächlich und enthält relativ wenige Nervenzellen. Ihre markhaltigen Neuriten verlaufen im Wesentlichen oberflächenparallel und bilden ein tangenciales Flechtwerk. Die Nervenzellen sind Schalt- und Assoziationszellen. Das Neuropil enthält Dendriten und Neuriten aus tiefen Schichten und ausserdem viele Astrocyten, deren Fortsätze eine Gliafasergrenzschicht bilden.
- Stratum granulare externum (äussere Körnerschicht, Lamina II). Sie besteht aus dicht gelagerten kleinen pyramidenförmigen bis multipolaren Nervenzellen, die im wesentlichen Schaltneurone sind. Ausserdem kommen wenige horizontale Nervenfasern vor.
- Stratum pyramidale externum (äussere Pyramidenschicht, Lamina III). Die Perikarya haben einen Längsdurchmesser von 10-40 μm . Der Dendrit, der die Spitze des Perikaryons verlässt und der Rindenoberfläche zugewandt ist, zieht senkrecht nach oben und kann das Stratum molekulare erreichen. Im oberen Drittel der Schicht liegen gröbere myelinisierte Faserbündel.

- Stratum granulare internum (innere Körnerschicht Lamina IV). Diese Schicht ist regional sehr unterschiedlich ausgebildet; sie kann nahezu fehlen (Gyrus praecentralis) oder gut entwickelt sein (Gyrus postcentralis). Es überwiegen kleine, in manchen Regionen dicht gepackte Schaltneurone. Die markhaltigen Fasern, die parallel zur Oberfläche verlaufen, können so stark ausgebildet sein, dass sie mit bloßem Auge sichtbar sein können und ein ganzes Gebiet, z.B. die Sehrinde, kennzeichnen.
- Stratum pyramidale internum (innere Pyramidenschicht, Lamina V). In bestimmten Gebieten der Grosshirnrinde (z.B. Gyrus praecentralis) kommen hier sehr grosse pyramidenförmigen Nervenzellen vor. Ihre Neuriten bilden einen Teil der Pyramidenbahn. Andere Neuriten verlaufen innerhalb der Schicht und bilden die Stria laminae pyramidalis interna.
- Stratum multiforme (multiforme Schicht, Lamina VI). Diese Schicht enthält vielgestaltige, häufig spindelförmige Nervenzellen, deren Neuriten in die weisse Substanz oder rückläufig in die Rinde ziehen.

Die Auswertung wurde mittels Lichtmikroskopie durchgeführt. Da die Anzahl IL-1 β -positiver Zellen im Allgemeinen gering war, erfolgte eine semiquantitative Auswertung mittels einer Rating Skala von 0, 1, 2 und 3. Hierbei bedeutete 0 keinen Anfärbung, 1 geringe Anzahl IL-1 β -positiver Zellen, 2 mässige Anzahl IL-1 β -positiver Zellen, und 3 hohe Anzahl IL-1 β -positiver Zellen.

2.1.6. Statistische Auswertung

Statistische Unterschiede zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe wurden unter Verwendung des SPSS®-Paketes (Statistical Package for the Social Sciences) mittels Chi-Quadrat Test untersucht. Die Mittelwerte der Rating-Skalen dienten zur graphischen Darstellung der Ergebnisse, die mittels Microsoft Graph realisiert wurden.

3. Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung der Gehirnpräparate, erfolgt nach der Unterteilung in die jeweilig untersuchten Hirnregionen. In den graphischen Darstellungen werden die Mittelwerte der Ratingskalen verwendet.

Immunhistochemisch waren Nervenzellen, Astrocyten und Microgliazellen IL-1 β –positiv (Abbildung 2). Die Abbildung 2 zeigt außerdem den immunhistochemischen Nachweis von IL-1 β auch in perivascularer gelegenen mehrkernigen Riesenzellen

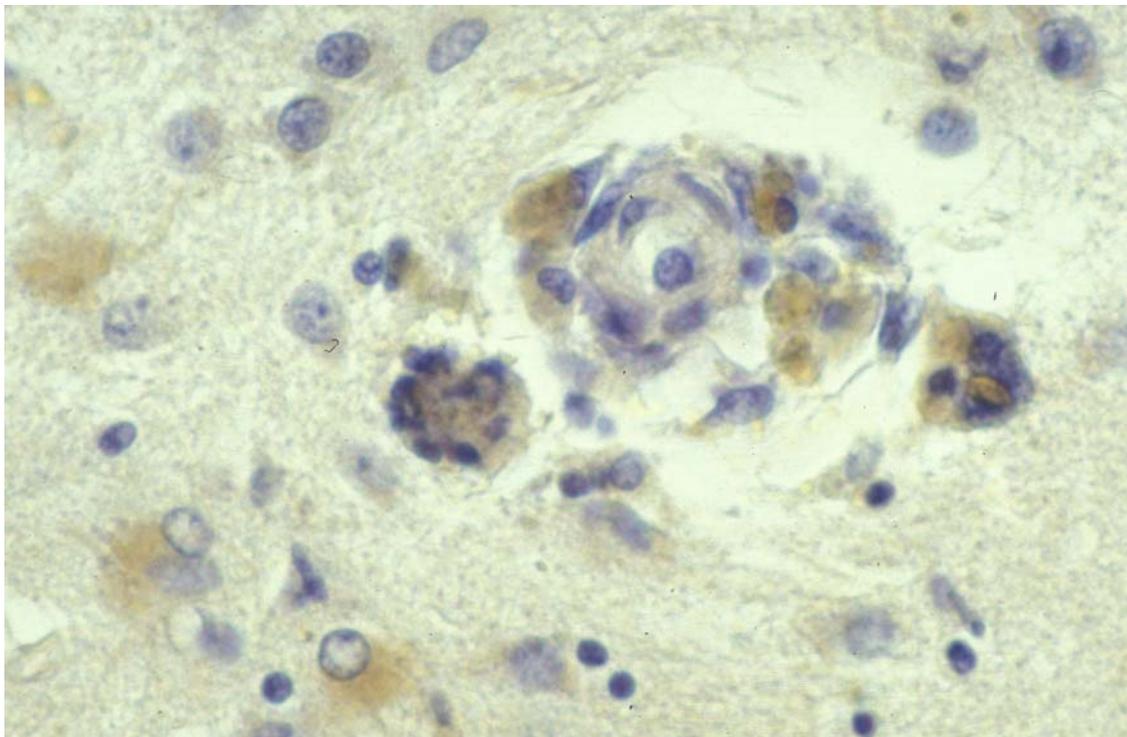


Abbildung 2: Immunhistochemische Färbung (Anti- IL-1 β) :Perivascularäre Microgliazellen, zwei mehrkernige Riesenzellen und mehrere Astrocyten. Vergrößerung 400 fach.

3.1. Frontallappen

Im Frontallappen war die Anzahl IL-1 β -positiver Nervenzellen (NZ) in HIV-1 Gehirnen signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Abb. 3). Eine signifikant höhere Anzahl immunpositiver Astroglia (AG) fand sich in der weißen Substanz (WS) und der Lamina I der grauen Substanz (GS I) in den HIV-1 infizierten Gehirnen (Abb. 3). Kein signifikanter Unterschied fand sich zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe für die IL-1 β -positiven Astrocyten der Schichten II-VI (Abb. 3).

Bei zwei Fällen mit Toxoplasmose war die IL-1 β Expression einmal ausgeprägt und einmal schwach zu erkennen.

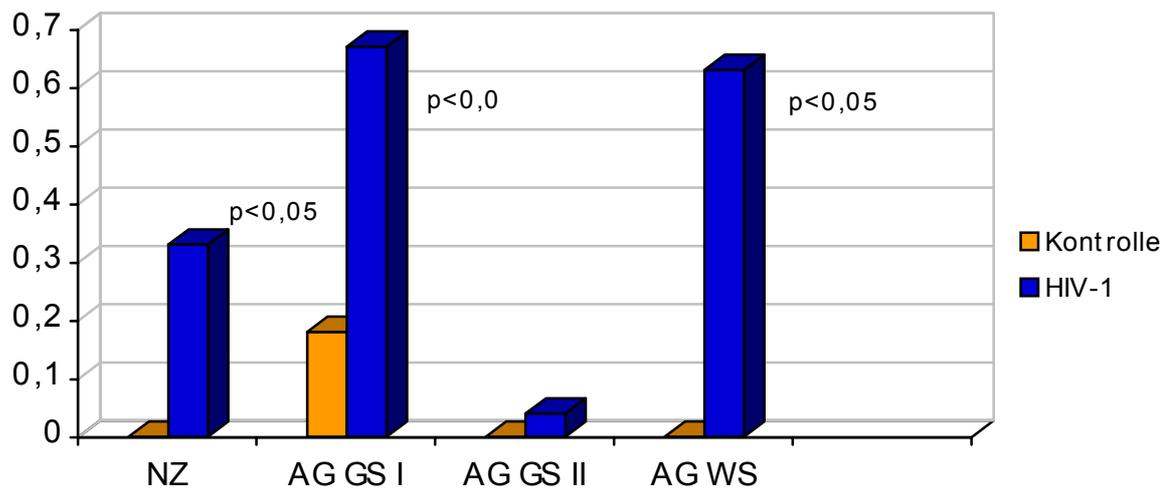


Abbildung 3: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 beta Nachweises im Frontallappen. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, GS I: graue Substanz Lamina I, GS II: graue Substanz Laminae II-VI, WS: weisse Substanz.

3.2. Fronto-Orbitalregion

In der Region der Fronto-Orbitalen Cortex zeigte sich beim Nachweis von Il-1 β positiven Nervenzellen (NZ) und Il-1 β positiver Astroglia (AG) der weißen Substanz (WS) und den Schichten II-VI der grauen Substanz (GS II) bei HIV-1 infizierten Gehirnen kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abb. 4).

Im Bereich der Lamina I der grauen Substanz (GS I) fand sich ein hoch signifikanter Unterschied bei der Anzahl der immunpositiver Astroglia (AG) in den HIV-1 infizierten Gehirnen gegenüber der Kontrollgruppe (Abb.4).

Nekrotische Areale oder Läsionen waren nicht vorhanden.

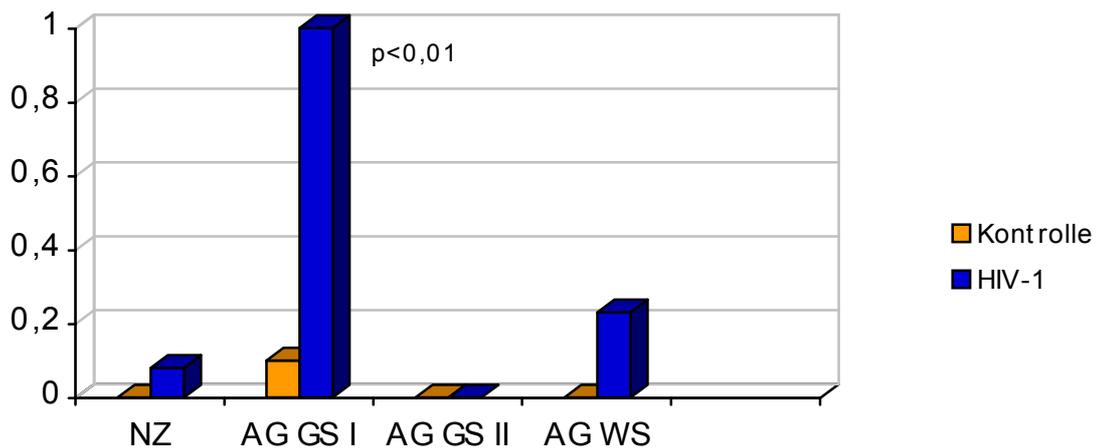


Abbildung 4: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des Il-1 β Nachweises im Fronto-Orbitalen Cortex. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, GS I: graue Substanz Lamina I, GS II: graue Substanz Laminae II-VI, WS: weisse Substanz.

3.3. Parietallappen

Im Parietallappen war die Anzahl IL-1 β -positiver Astrocyten (AG) in den Schichten II- IV der grauen Substanz (GS I + GS II) in HIV-1 Gehirnen signifikant höher als in der Kontrollgruppe; in der weissen Substanz (WS) zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied für die Anzahl IL-1 β -positiver Astrocyten (AG) (Abb. 5).

Kein signifikanter Unterschied fand sich zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe für IL-1 β -positive Nervenzellen (NZ) (Abb. 5).

Es waren zwei Läsionen erkennbar: ein großes Nekroseareal bei Toxoplasmose mit deutlichem Nachweis einer IL-1 β Expression, sowie eine weitere Nekrose bei Toxoplasmose mit Nachweis einer IL-1 β Expression in Makrophagen und der Astroglia.

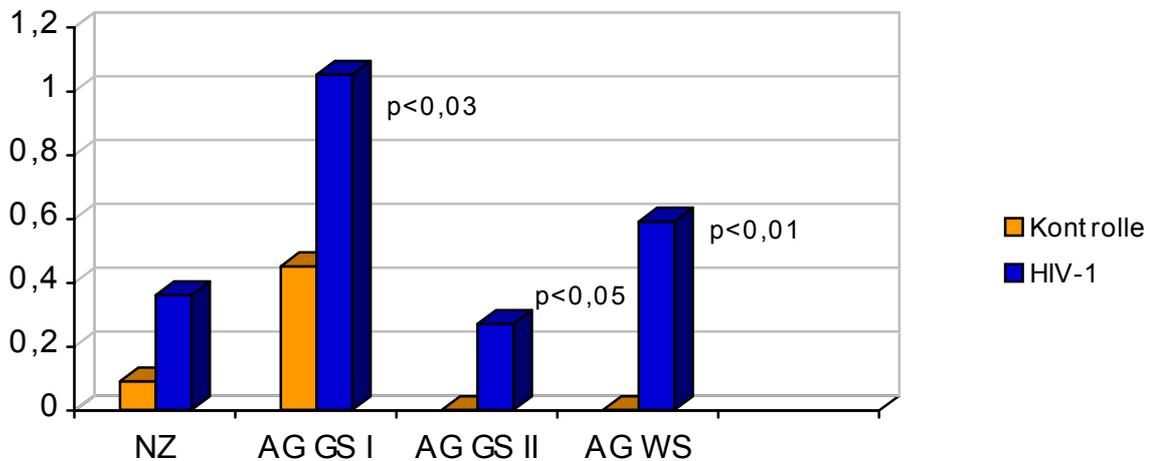


Abbildung 5: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises im Parietallappen. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, GS I: graue Substanz Lamina I, GS II: graue Substanz Laminae II-VI, WS: weisse Substanz.

3.4. Temporallappen

In den Neuronen des Temporallappens war die Expression von IL-1 β bei HIV-1 Gehirnen nur in einem diskreten Ausmaß nachweisbar, es bestand kein signifikanter Unterschied bezüglich der Anzahl der immunpositiven Nervenzellen (NZ), in den Schichten II-VI der grauen Substanz (GS II) fand sich ebenso kein signifikanter Unterschied für die Anzahl der immunpositiven Astrocyten (AG) (Abb. 6).

Ein hoch signifikanter Unterschied fand sich zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe für die IL-1 β -positiven Astrocyten der grauen Substanz der Lamina I (GS I), und ein signifikant hoher Unterschied für die IL-1 β -positive Astroglia (AG) der weissen Substanz (WS)(Abb. 6).

Es bestand eine Läsion bedingt durch eine CMV Infektion, hier fand sich ein diskreter Nachweis von IL-1 β in der Astroglia.

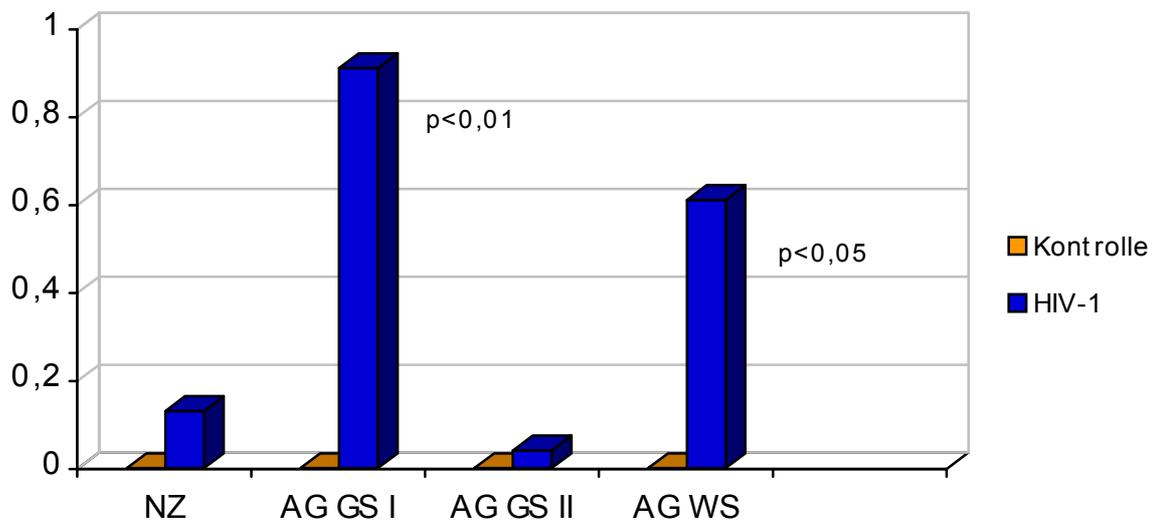


Abbildung 6: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises im Temporallappen. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, GSI: graue Substanz Lamina I, GSII: graue Substanz Laminae II-VI, WS: weisse Substanz.

3.5. Occipitallappen

Im Occipitallappen von HIV-1 Gehirnen war die Anzahl IL-1 β -positiver Astroglia (AG) der weissen Substanz (WS) signifikant höher, und hoch signifikant höher in der Astroglia (AG) der Lamina I in der grauen Substanz als in der Kontrollgruppe (GS I)(Abb. 7).

Kein signifikanter Unterschied fand sich zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe für die IL-1 β -positiven Nervenzellen (NZ) und für IL-1 β -positive Astrocyten der Schichten II-VI (AG II) (Abb. 7).

Es zeigten sich drei Läsionen bei Toxoplasmose mit deutlichem Nachweis von IL-1 β .

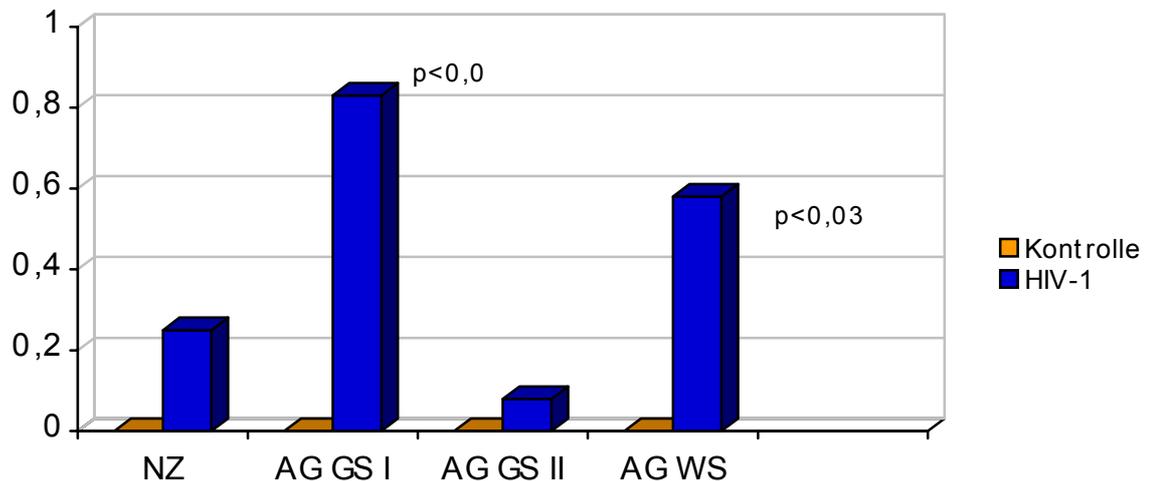


Abbildung 7: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 beta Nachweises im Occipitallappen. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, GS I: graue Substanz Lamina I, GS II: graue Substanz Laminae II-VI, WS: weisse Substanz.

3.6. Basalganglien und Capsula interna

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Basalganglien wurden folgende Areale befundet: der Nucleus caudatus (NC), das Putamen (PU), und das Globus pallidum (PA) sowie die Capsula interna (CI).

In diesen Regionen konnte immunhistochemisch IL-1 β weder in den Neuronen der HIV-1 Gehirne noch in den Gehirnen der Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

In der Astroglia der Capsula interna (CI) zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied bei der Anzahl IL-1 β -positiver Astrocyten (AG) in HIV-1 Gehirnen als in der Kontrollgruppe (Abbildung 8).

Kein signifikanter Unterschied fand sich zwischen der Kontroll- und der HIV-1 Gruppe für die Anzahl immunpositiver Astroglia (AG) im Putamen (PU), dem Globus pallidum (PA) und dem Nucleus caudatus (NC) (Abbildung 8).

Im Globus pallidum bestand eine Nekrose bei Toxoplasmose mit Nachweis einer IL-1 β Expression.

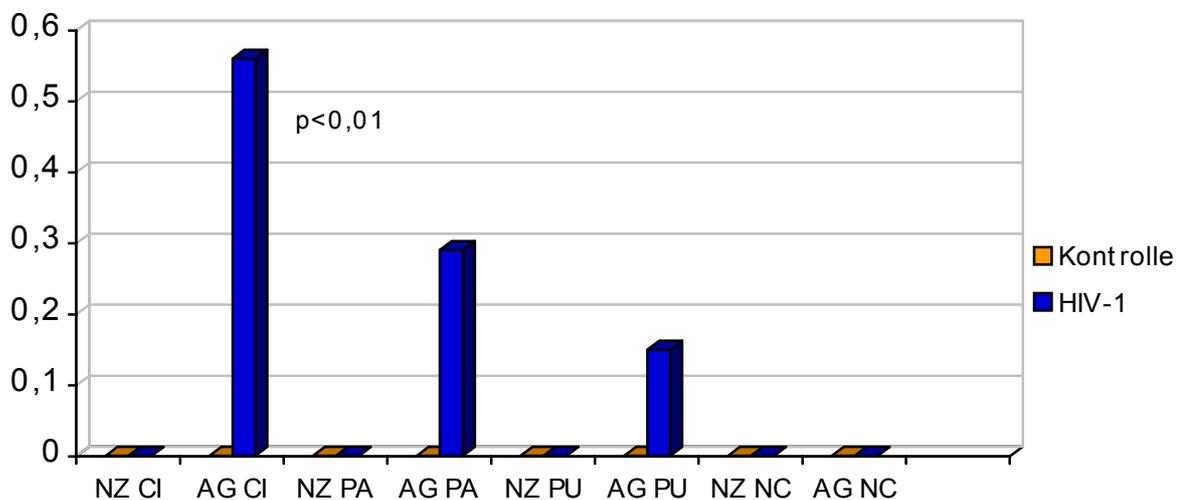


Abbildung 8: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises in den Basalganglien und in der Capsula interna. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, CI: Capsula interna, PA: Globus pallidum, PU: Putamen, NC: Nucleus caudatus.

3.6. Thalamus und Mittelhirn

In den Nervenzellen (NZ) und der Astroglia (AG) des Thalamus (TH) bei HIV-1 Gehirnen konnte IL-1 β immunhistochemisch nachgewiesen werden, jedoch ohne signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe (Abb. 9).

Im Mittelhirn (MH) zeigte sich in der Astroglia (AG) ein hoch signifikanter Unterschied bei der Anzahl von IL-1 β -positiven Astrocyten in der Gruppe der HIV-1 Gehirne im Vergleich zu der Kontrollgruppe. In den Nervenzellen beider Gruppen war IL-1 β nicht nachweisbar (Abb. 9).

Bei drei Präparaten des Mittelhirnes waren Nekrosen mit positiven IL-1 β Nachweis zu finden.

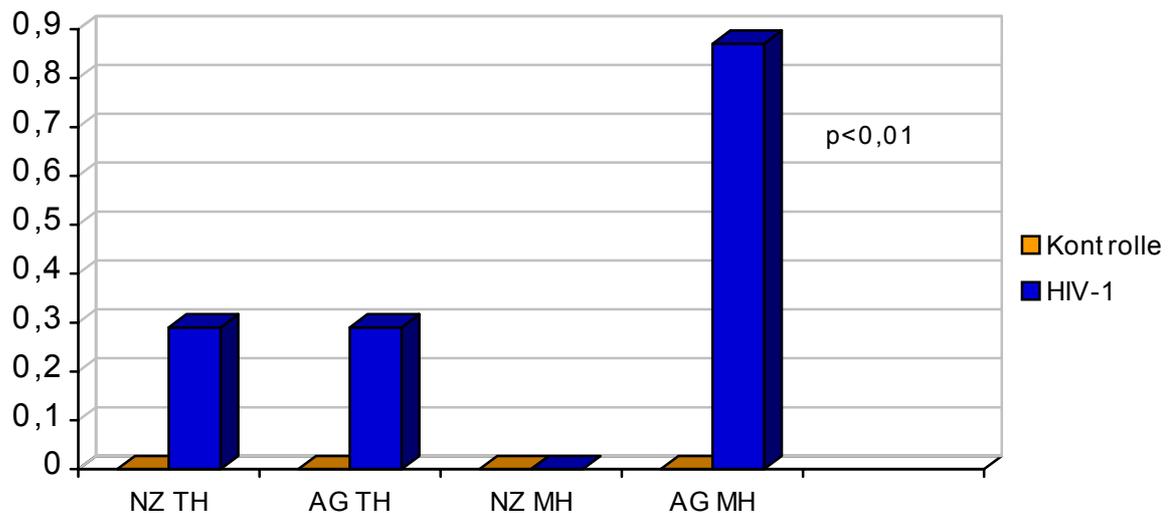


Abbildung 8: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises im Thalamus und Mittelhirn. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, TH: Thalamus, MH: Mittelhirn.

3.7. Pons und Medulla oblongata inkl. Nc.olivarius

In der Astroglia (AG) der Pons (P), der Medulla oblongata (MO) und dem Nucleus olivaris (NO) zeigte sich in der Gruppe der HIV-1 Gehirne ein hoch signifikanter Unterschied bei der Anzahl von IL-1 β -positiven Astrocyten im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Abb. 10).

In den Nervenzellen der Pons fand sich ein diskreter Nachweis von IL-1 β , jedoch ohne signifikanten Unterschied (Abb. 10).

Im Bereich der Medulla oblongata fand sich bei drei Präparaten eine Nekrose, der Pons bei einem Präparat, mit positivem Nachweis einer IL-1 β Expression.

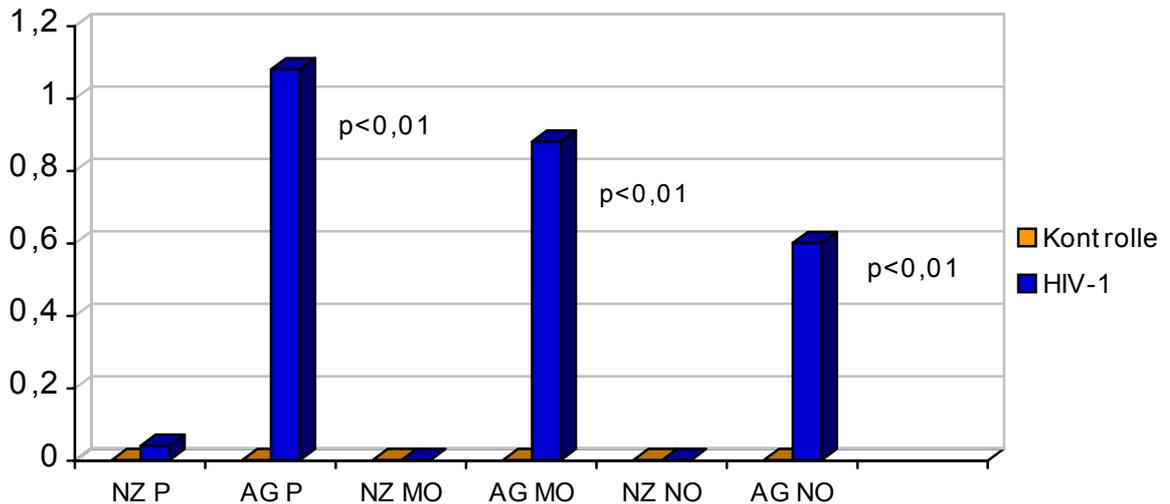


Abbildung 10: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises im Pons, in der Medulla oblongata und im Nc. olivarius. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, P: MO: NO:.

3.8. Kleinhirn und Nucleus dentatus

Die immunhistochemische Färbung der Neuronen des Kleinhirns zeigte keinen Nachweis von IL-1 β . In der Astroglia des Kleinhirns (KH) und des Nucleus dentatus (ND) zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied in der Anzahl von immunpositiven Astrocyten in der Gruppe der HIV-1 Gehirne im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abbildung 11).

In der Körnerzellschicht des Kleinhirns zeigte sich in zwei Präparaten eine Nekrose, in vier weiteren Präparaten zeigten sich ebenfalls Nekrosen.

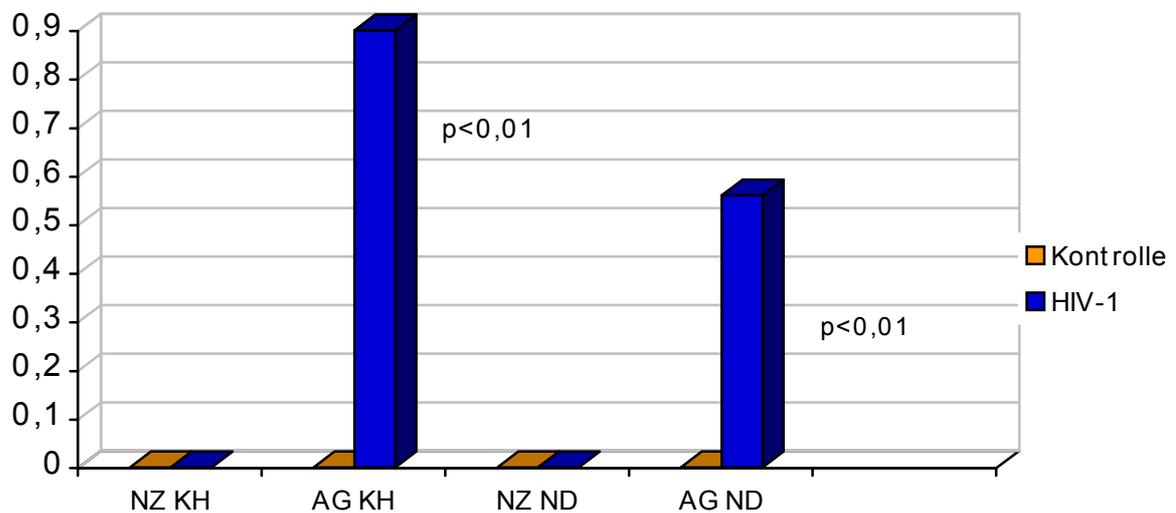


Abbildung 11: Darstellung der Mittelwerte der Rating-Skalen des IL-1 β Nachweises im Kleinhirn und Nc. dentatus. NZ: Nervenzellen, AG: Astroglia, KH: , ND: .

4. Diskussion

Bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen bezüglich des Nachweises von Interleukin-1 β zeigten sich im Bereich des Großhirnes folgende Auffälligkeiten.

In den Nervenzellen konnte Interleukin-1 β nur im Bereich des Frontallappens signifikant erhöht nachgewiesen werden.

Bei der Auswertung des Nachweises von Interleukin-1 β in der Astroglia wurden drei Bereiche unterschieden:

- die Lamina I der grauen Substanz
- die Laminae II- VI der grauen Substanz
- die weisse Substanz

Bei der Astroglia der Lamina I in der grauen Substanz ließ sich Interleukin-1 β in allen 5 untersuchten Großhirnarealen signifikant vermehrt nachweisen. Im Bereich des Parietallappens, des Temporallappens und des Fronto-orbital-Bereiches besteht ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

In den Laminae II-VI der grauen Substanz war lediglich im Bereich des Parietallappens ein signifikant höherer Nachweis von Interleukin-1 β feststellbar.

In der weißen Substanz konnte Interleukin-1 β in der Astroglia im Bereich des Frontallappens, des Temporallappens und des Occipitallappens mit einem signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Im Bereich des Parietallappens bestand ein hoch signifikanter Unterschied. Im fronto-orbitalen Areal bestand kein Unterschied im Nachweis von Interleukin-1 β .

In den weiteren untersuchten Arealen, dem Mittelhirn, der Pons, der Medulla oblongata sowie des Nucleus olivaris, dem Kleinhirn, des Nucleus dentatus und der Capsula interna ließ sich in den HIV-1 Gehirnen jeweils ein hoch signifikanter Unterschied im Nachweis von Interleukin-1 β bei der Astroglia im Vergleich zur Kontrollgruppe darstellen. Nur im Bereich der Basalganglien und des Thalamus bestand kein Unterschied im Nachweis von Interleukin-1 β zur Kontrollgruppe.

Anhand dieser Daten, d.h. durch den direkten Nachweis von Interleukin-1 β und dem signifikant erhöhtem Nachweis von Interleukin-1 β intracerebral bei Patienten mit einer HIV-1 Infektion verstärkt sich die Hypothese von der Interaktion von Interleukin-1 β in der Pathogenese der HIV Enzephalitis. Insbesondere bei dem Zelluntergang von Neuronen scheint Interleukin-1 β ein Mediator des Zelltodes zu sein.

In einem Zellkulturmodell mit einer humanen Neuroblastomzelllinie führte die Zugabe von HIV-1 Hüllproteinen, gp 120 zum Untergang der Zellen. Ebenso führte die Zugabe von Interleukin-1 β zum Zelluntergang. Der Zelluntergang ließ sich durch die Zugabe eines Interleukin-1 β -Rezeptor Antagonisten oder eines Interleukin 1 Rezeptor Typ I Antikörpers deutlich reduzieren (Corasaniti et al., 2001).

Die Arbeitsgruppe um Zhao konnte immunhistochemisch in mehrkernigen Riesenzellen die Co-lokalisierung von Interleukin-1 β und Capase-1 (Interleukin-1 converting enzyme) nachweisen. Immunhistochemisch zeigte sich hierbei eine intensive Anfärbung beider Substanzen. In aktivierten Astrocyten gelang der Nachweis von iNOS (inducible nitric oxide synthase) bei einer regionalen Co-existent von Interleukin 1 und Capase-1 (Zhao et al., 2001).

Einen weiteren Hinweis auf die Funktion des Cytokines Interleukin-1 β bei dem Mechanismus der Apoptose induziert durch virale Proteine zeigte Corasaniti in einem Tiermodell. Die intracerebroventrikuläre Injektion von gp 120 führte zu einer Schädigung des Neocortex bei Ratten. Die Injektion eines nicht neurotoxischen Cytokine Rezeptor-ligandes (SDF-1 alpha) 1 Woche vor Beginn der Injektion mit gp 120 verhindert signifikant die Apoptose der Nervenzellen im Neocortex der Ratten. Dies weist auf die protective Wirkung von SDF-1 alpha durch Hemmung der gp 120 induzierten Expression von Interleukin-1 β hin (Corasaniti et al., 2001).

In einer weiteren Neuroblastom Zellkultur-Studie erfolgte nach Gabe von HIV-1 gp 120 in die Zellkultur die Hochregulierung der Expression von Cyclooxygenase (COX-2), welche eine cytotoxische Wirkung besitzt. Durch die Gabe eines Interleukin-1 converting enzyme Inhibitors konnte die gesteigerte Expression der COX-2 verhindert werden und somit auch der durch die Zugabe von HIV-1 gp120 verursachte Zelluntergang. Dies deutet auf die

Funktion von Interleukin-1 β als Mediator für die durch gp120 verursachte Hochregulierung der COX-2 Expression hin. (Corasaniti et al., 2003).

Bei der Pathophysiologie der HIV1- Enzephalitis und dem Mechanismus der Schädigung bzw. des Zelltodes von Neuronen spielen erwartungsgemäß einige andere Mediatoren und Cytokine eine wichtige Rolle.

Ein Kandidat hierbei ist das HIV-1 Protein Tat, ein Trans-aktivator Protein der viralen Genexpression, welches essentiell für die Virusreplikation ist (Dayton et al., 1986). Die Expression von Tat in transfizierten Zellen oder die Exposition von infizierten Zellen mit dem Tat-Protein bewirkt eine Hochregulierung der HIV-1-Genexpression. (Kolson et al., 1994). Des weiteren bewirkt die Expression von Tat eine Zunahme der Expression von TGF- β 1 (transforming growth factor beta 1), ein Cytokin mit einer potenten immunsuppressiven und chemotaktischen Wirkung (Wahl et al., 1991).

Der Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α) ist ein weiterer löslicher Faktor der die Apoptose von Nervenzellen bewirkt (Achim et al., 1993). In einer Studie erfolgte die kombinierte Exposition von humanen Nervenzellen mit HIV-1 Tat und TNF- α . Untersucht wurde ob die kombinierte Exposition die Induktion der neuronalen Apoptose potenziert, im Vergleich zur getrennten Exposition der Faktoren. Es zeigte sich, dass TNF- α die neuronale Apoptose, ausgelöst durch HIV-1 Tat mittels eines Wirkmechanismus des oxidativen Stresses potenziert (Shi et al., 1998).

Die Aktivierung der Caspase Protein Kaskade stellt eine zusätzliche Erklärungsmöglichkeit der HIV-1 assoziierten Neurodegeneration dar. Caspase gehört zu der Gruppe der Proteasen, die via einer Signaltransduktion eine Apoptose induzieren oder eine Zellschädigung hervorrufen können. Caspasen werden als inaktive Proenzyme synthetisiert und mittels einer proteolytischen Spaltung aktiviert. Mehrere Caspasen können sich über eine Kaskade wechselseitig aktivieren. Ein Hauptendglied in dieser Kaskade ist Caspase-3 (Stennicke et al., 2000).

Nach Zugabe von gp 120 in eine Zellkultur (Cerebrocortikale Zellen) fand sich eine signifikant erhöhte Aktivität der Caspase-3. Durch Zugabe eines kompetitiven Caspase Inhibitors, zVAD-fmk (ein genereller Caspase-Inhibitor) oder DEVD-fmk (ein Caspase-3 Inhibitor), schützte dieser die Neuronen vor der gp 120 induzierten Apoptose. Mittels einer immunhistochemischen Färbung mit einem Antikörper gegen aktivierter Caspase-3 zeigte sich, dass die Zugabe von gp 120 zu einem signifikanten Anstieg der Aktivität von Caspase-3 führte. Es färbten sich signifikant erhöht Neurone an, wo sich aktivierte Caspase-3 intrazellulär nachweisen ließ (Garden et al., 2002).

Garden (2002) beschreibt einen weiteren Weg der Aktivierung von Caspase-3. Nach Bindung von gp 120 an Mikroglia, reagieren diese Zellen mit einer Freilassung von exitotoxischen Molekülen. Die Expressierung von TNF- α und deren Bindung an einen TNF-Rezeptor(TNFR) führt über die Aktivierung von Caspase-8 zur Aktivierung von Caspase-3 (Garden et al., 2002). Ähnlich erfolgt die Aktivierung von Caspase-3 durch die Aktivierung von Caspase-9. Diese erfolgt über die Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} Konzentration, ausgelöst durch eine Überstimulierung des NMDA-Rezeptors (N-Methyl-D-Aspartat) mittels excitotoxischer Substanzen wie z. B. Glutamin oder Quinolinsäure (Guilian et al., 1996).

HIV-1 infizierte oder aktivierte mononukleäre Zellen können eine Vielzahl von löslichen Mediatoren freisetzen. Oncostatin-M ist eine weitere Substanz die für die Lebensfähigkeit von Nervenzellen eine Rolle spielen kann. Die Arbeitsgruppe um Ensoli isolierte aus dem peripheren Blut von HIV-1 infizierten Personen Monocyten und Makrophagen. Diese Zellen produzierten unter Zellkulturbedingungen vermehrt Oncostatin-M, im Vergleich zu Monocyten/Makrophagen von Kontrollpersonen (Ensoli et al., 1999). Die Inkubation von primären sensorischen Nerven-Zellkulturen mit rekombinantem Oncostatin-M führte zu einer deutlichen Hemmung der Zellproliferationsrate der Nervenzellen. Die Hemmung der Proliferationsrate war proportional zur Konzentration von Oncostatin-M. In dieser Zellkulturreihe bewirkte die alleinige Zugabe von TGF- β 1 keine Veränderung der Zellteilung der Nervenzellen, in Kombination mit Oncostatin-M potenzierte sich die proliferationshemmende Wirkung (Ensoli et al., 1999).

Neuere Arbeiten beschreiben eine weitere Funktion der Cytokine. Cytokine besitzen neben der cytotoxischen Wirkung auch eine neuroprotektive Funktion.

Fraktalkine ist ein Chemokin ausgehend von nicht hämatopoetischen Zellen. Fraktalkine existiert in einer löslichen Form mit einer potenten chemotaktischen Aktivität für T-Zellen und Monocyten. In der membrangebundenen Form bewirkt Fraktalkine eine Leukocyten Adhäsion im Bereich von aktivierten Endothelzellen (Bazanet al., 1997). Immunhistochemisch ist Fraktalkine, im Zentralnervensystem überwiegend in Neuronen nachweisbar. Der Fraktalkine Rezeptor, CX₃CR1, wird überwiegend auf der Mikroglia exprimiert (Harrison et al., 1998; Tong et al., 2000).

Das Vorhandensein von Fraktalkine in einer Zellkultursuspension von Nervenzellen aus dem Hippocampus von Ratten, vermindert weitgehend eine gp 120 induzierte Apoptose der Nervenzellen (Meucci et al., 1998). Auf die neuroprotektive Wirkung weisen auch Versuche hin, bei der die Ko-inkubation von Fraktalkine mit Tat oder PAF (platelet-activating factor) die neuronale Apoptose signifikant reduziert.

Fraktalkine könnte CX₃CR1 Rezeptoren, welche auf der Mikroglia und auf Nervenzellen lokalisiert sind, aktivieren und somit die Ausschüttung von Glutamat in die Synapsen regulieren und in der Folge die excitotoxische Stimulation von Nervenzellen beeinflussen. (Tong et al., 2000).

Andere Substanzen wie die neurotrophen Faktoren, Neurotrophine, sind auch bei der Apoptose von Nervenzellen mitbeteiligt. In einer Studie von Ramirez (2001) erfolgte die Untersuchung von den Neurotrophinen: NGF (nerve growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), und ADNF9 (activity-dependent neurotrophic factor derived nanomer peptid).

In einer Versuchsreihe mit einer humanen Neuroblastom Zellkultur (SK-N-MC) und einer Zellkultur von Körnerzellen wurde die Wirkung des HIV-1 Proteins Tat untersucht. Wie weitläufig beschrieben bewirkt Tat eine dosisabhängige Induktion der Apoptose (New et al., 1998; Maggiwar et al., 1999). Die Tat-induzierte Apoptose der Neuroblastom- und Körnerzellen wurde signifikant durch die Zugabe von NGF, BDNF und ADNF9 inhibiert.

Die anti-apoptotische Wirkung der Neurotrophine zeigten sich als dosisabhängig (Ramirez et al., 2001). Weiter zeigte sich, dass die Zugabe von Neurotrophinen zu den Zellkulturen eine Aktivierung von NF- κ B, nuclear factor-kappa B, der Nerven- und Körnerzellen bewirkte.

Obwohl der Mechanismus, über den NF- κ B Zellen vor der Apoptose schützt, nur bedingt verstanden ist, wird generell angenommen, dass NF- κ B das Überleben der Zellen durch die Induktion der Transkription von anti-apoptotischen Genen vermittelt (Glasgow et al., 2000). Bcl-2 ist eines dieser Gene. Bcl-2 ist ein mitochondriales Protein, das viele Zelltypen vor der Apoptose schützt (Chao, Korsmeyer, 1998). Die Inaktivierung von Bcl-2 durch Abbau oder Phosphorylierung ermöglicht mitochondrialen Proteasen und Cytochrome C in das Cytoplasma überzutreten und eine Apoptose zu bewirken (Yang et al., 1997).

Diese Daten und unsere Daten verstärken die Theorie in welcher Cytokine und insbesondere Interleukin-1 β eine Schlüsselrolle bei der Pathogenese der HIV-1 Enzephalitis besitzt. Als Mechanismus der Cytotoxizität der cerebralen HIV-1 Infektion könnte Interleukin-1 β über Interaktionen und die Aktivierung verschiedener Enzyme, z.B. iNOS, Caspase oder COX-2, ausgelöst durch virale Komponenten und virale Proteine, die Zellschädigung und die Apoptose von Nervenzellen induzieren.

Diese Untersuchungen könnten therapeutische Optionen eröffnen. Diese könnten beispielsweise in Form einer Blockierung oder Aktivierung von Cytokinen und anderen neurotoxischen/neuroprotektiven Mediatoren und dem damit verbundenen Effekt auf die Apoptose von Neuronen bei der HIV-1 Enzephalitis einen Einfluss nehmen.

Bei der Auswertung unserer Daten fällt die deutliche Diskrepanz bei dem Nachweis von Interleukin-1 β innerhalb der grauen Substanz in den Neocortex-Arealen auf: In der Lamina I besteht ein signifikanter, teilweise ein hoch signifikanter Unterschied in der immunhistochemischen Anfärbung und Nachweis von Interleukin-1 β in der Astroglia. In den Laminae II-VI ist eine deutlich geringere Anfärbung zu beobachten.

Dies ist ein bisher noch nicht in der Literatur beschriebenes Phänomen. Als eine mögliche Erklärung könnte die Lamina glia limitans dienen, welche sich aus Astrogliafasern zusammensetzt und die Grenzschicht zwischen dem Hirngewebe und dem Liquorraum bildet. Zur Abklärung und Erklärung dieses Befundes bedarf es sicherlich noch weiterer ausführlicher Untersuchungen.

Zusammenfassend zeigen die Daten der vorliegenden Arbeit eine signifikant erhöhte Darstellung von IL-1 β in Astrocyten sowie in Nervenzellen in unterschiedlichen Regionen des Gehirns. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese der indirekten Schädigung des Nervensystems durch HIV-1, bei der Cytokine, wie Interleukin-1 β , eine entscheidende Rolle spielen.

5. Zusammenfassung

Eine Mehrzahl der HIV-1 infizierten Patienten entwickeln im Laufe ihrer Erkrankung neurologische Symptome. Die Pathophysiologie der HIV-1 Enzephalopathie, verursacht durch eine HIV-1 assoziierte Neurodegeneration, ist nicht vollständig geklärt, da Nervenzellen gegen eine HIV-1 Infektion resistent sind. In Abwesenheit einer HIV-1 Infektion der Nervenzellen ist es wahrscheinlich, dass die Neurodegeneration bei der HIV-1 Enzephalitis verursacht wird durch einen indirekten Mechanismus, ausgehend von Faktoren, die von virusinfizierten Monozyten/Makrophagen freigesetzt werden. Das Cytokin Interleukin-1 β wird als einer dieser Faktoren in Betracht gezogen. Einige Studien zeigten den vermehrten Nachweis von Interleukin-1 β in HIV-1 infizierten Zellkulturen sowie in Hirngewebe von HIV-1 infizierten Personen.

Das Ziel dieser Studie ist es, das Vorhandensein von Interleukin-1 β in Hirngewebe von HIV-1 infizierten Patienten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe direkt nachzuweisen. Immunhistochemische Untersuchungen mittels eines Interleukin-1 β -Antikörpers erfolgten an 27 Gehirnen von HIV-1 infizierten Patienten und an 11 Gehirnen einer Kontrollgruppe. Untersucht wurden fünf Areale der Großhirnrinde (frontal, fronto-orbital, parietal, temporal, occipital) und die Bereiche der Basalganglien, des Thalamus, des Mittelhirns, der Pons, der Medulla oblongata und des Kleinhirns.

Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch in den Laminae I bis VI des Cortex cerebri und in den entsprechenden Bereichen der weißen Substanz. Auch in den übrigen oben genannten Hirnarealen erfolgte die Auswertung getrennt nach grauer und weißer Substanz.

Bei der statistischen Auswertung der Daten hinsichtlich der Unterschiede im Nachweis von Interleukin-1 β in HIV-1-Gehirnen im Vergleich zu Gehirnen der Kontrollgruppe zeigten sich folgende Befunde:

Interleukin-1 β ließ sich immunhistochemisch in Astrocyten und Nervenzellen nachweisen. Im Großhirn zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied im Nachweis der Anzahl von immunpositiven Astrocyten in Lamina I des Parietallappens, des Temporallappens und der fronto-orbitalen Region sowie in der weißen Substanz des Parietallappens. Signifikante Unterschiede bestanden auch in Lamina I des Occipital- und Frontallappens und in den Laminae II- VI des Parietallappens sowie in der weißen Substanz des Temporal-, Occipital- und Frontallappens. Im Mittelhirn, in der Brücke, in der Medulla oblongata, im Nucleus

olivaris, im Kleinhirn, im Nucleus dentatus und in der Capsula interna ließ sich in den HIV-1-Gehirnen jeweils ein hoch signifikanter Unterschied beim Nachweis von IL-1 β -positiven Astrocyten im Vergleich zur Kontrollgruppe darstellen. Im Frontallappen war die Anzahl IL-1 β -positiver Nervenzellen in HIV-1-Gehirnen signifikant höher als in jenen der Kontrollgruppe.

Zusammenfassend zeigen die Daten der vorliegenden Arbeit eine signifikant erhöhte Darstellung von IL-1 β in Astrocyten sowie in Nervenzellen in unterschiedlichen Regionen des Gehirns. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese der indirekten Schädigung des Nervensystems durch HIV-1, bei der Cytokine, wie Interleukin-1 β , eine entscheidende Rolle spielen.

6. Literaturverzeichnis:

Achim CL, Masliah E, Ge N, et al.: Immune activation and neurologic damage in HIV encephalitis. *J. Neurothol. Exp. Neurol.* 1993; 52: 315

Achim C, Wang R, Miners D, et al.: Brain viral burden in HIV infection. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1994; 53: 284

AIDS medical glossary. *GMHC Treat Issues.* 1997; 11(6): 1-36.

Arai K, Lee F, Miyajima A, et al.: Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu. Rev. Biochem.* 1990; 59: 783-836

Artigas J, Grosse G, et al.: Vacuolar myelopathy in AIDS. A morphological analysis. *Pathological Research Pract.* 1990; 186: 228-237

Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, et al.: A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* 1997; 385:640

Baggiolini M, Dewald B, Moser B.: Human chemokines : An update. *Annual Review Immunology* 1997; 15: 675-705

Barré-Sinoussi F, Chermann J, Rey F, Nugeyre M, et al.: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus for a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome(AIDS). *Science* 1983; 220: 868-70.

Bell J, Busuttil A, Ironside J, et al.: Human immunodeficiency virus and the brain: investigation of virus load and neuropathologic changes in pre-AIDS subjects. *J. Inf. Dis.* 1993; 168: 818

Benveniste ET.: Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am. J. Physio.* 1992; 263: C1-C16

Beneviste EN, Huneycutt BS, Shrikant P, et al.: Second messenger systems in the regulation of cytokines and adhesion molecules in the central nervous system. *Brain, Behaviour, and Immunity* 1995; 9: 304-314

Budka H, Costanzi G et al.: Brain pathology induced by infection with the human immunodeficiency virus (HIV). *Acta neuropathol.* 1987; 75: 185-198

Budka H, Wiley CA, et al.: HIV-associated disease of the nervous system. Review of nomenclature and proposal for the neuropathology-based terminology. *Brain pathology* 1991; 1: 143-152

Castro K, Ward J, Slutsker L, et al.: 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults. *MMWR* 1992; 41: RR-17

Chao D. and Korsmeyer S.: BCL-2 family; regulators of cell death. *Annu. Rev. Immunol.* 1988; 16: 395-419

Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinat F, et al.: Isolation of a new human retrovirus for West African patients with AIDS. *Science* 1986; 233: 343-6

Corasaniti MT, Melino G, Narvarra M, et al.: Death of cultured human neuroblastoma cells induced by HIV-1 gp 120 is prevented by NMDA receptor antagonists and inhibitors of nitric oxide and cyclooxygenase. *Neurodegeneration* 1995; 4: 315-321

Corasaniti MT, Bagetta G, Rotiroli D, et al.: The HIV Envelope Protein gp120 in the nervous system. *Biochemical Pharmacology* 1998; 56: 153-156

Corasaniti MT, Bilotta A, Strongoli MC, et al.: HIV-1 coat protein gp 120 stimulates Interleukin-1beta secretion from human neuroblastoma cells: evidence for a role in the mechanism of cell death. *Br J Pharmacology* 2001; 134(6): 1344-50

Corasaniti MT, Piccirilli S, Paoletti A, et al.: Evidence that the HIV-1 coat protein gp 120 causes neuronal apoptosis in the neocortex of rat via a mechanism involving CXCR4 chemokine receptor. *Neuroscience Letters* 2001; 312(2): 67-70

Corasaniti MT, Bellizzi C, Russo C, et al.: Caspase-1 inhibitors abolish deleterious enhancement of COX-2 expression induced by HIV-1 gp120 in human neuroblastoma cells. *Toxicology Letters* 2003; 129(2-3): 213-9

Cunha A, Jefferson JJ, Tyor WR, et al.: Transforming growth factor β 1 in adult human microglia and its stimulated production by interleukin 1. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 1997; 17: 655-664

Dayton AI, Sodroski JG, Rosen CA, et al.: The trans-activator gene of the human T cell lymphotropic virus type III is required for replication. *Cell* 1986; 44:941-947

Dickson DW, Llena JF, Nelson SJ, et al.: Central nervous system pathology in pediatric AIDS. *Annals New York Academy of Sciences* 1993; 693: 93-106

Dinarello CA.: The interleukin-1-family: 10 years of discovery. *FASEB J.* 1994; 8: 1314-1325

Ensoli F, Fiorelli V, DeCristofaro M, et al.: Inflammatory Cytokines and HIV-1-associated neurodegeneration: Oncostatin-M produced by mononuclear cells from HIV-1 infected individuals induces apoptosis to primary neurons. *Journal of Immunology* 1999; 162: 6268-6277

Epstein LG, Sharer LR, Joshi VV, et al.: Progressive encephalopathy in children with acquired immune deficiency syndrome. *Ann Neurol* 1985; 17: 488-496

Epstein FH, Luster AD.: Chemokines- Chemotactic Cytokines that mediate inflammation. *The New England Journal of Medicine* 1998; 338(7): 436-445

Gallo R, Salahuddin S, Popovic M, Shearer G, et al.: Frequent detection and isolation of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from Patients with AIDS and at risk of AIDS. *Science* 1984; 224: 500-3

Garden G, Budd S, Tsai E, et al.: Caspase Cascades in Human Immunodeficiency Virus-associated Neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*. 2002; 22: 4015- 4024

Gehrmann J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW.: Microglia: intrinsic immune effector cell of the brain. *Brain Research Reviews* 1995; 20: 269-287

Glasgow J, Wood T, Perez-Polo J.: Identification and characterization of nuclear factor kappaB binding sites in the murine bcl-x promoter. *J. Neurochem.* 2000; 75: 1377-1389

Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM.: Pneumocystitis carinii pneumonia and mucosal candidosis in previously healthy homosexuell men: evidence of a new acquired cellular immune deficiency. N. Engl. J. Med. 1989; 305(24): 1425-31

Gray F, Hurtrel M, Hurtrel B.: Early central nervous system changes in human immunodefiancy virus infection. Neuropathol. Appl. Neurobiology 1993; 19: 3

Giulian D, Yu J, Li X.: Study of receptor-mediated neurotoxins relaesed by HIV-1-infected mononuclear phagocytes found in human brain. Journal of Neuroscience 1996; 16: 3129-3153

Hurwitz AA, Berman JW, Lyman WD.: The role of the blood brain barrier in HIV infection of the central nervous system. Adv. In Neuroimmunology 1994; 4: 249-256

Janeway CA, Travers P,: Immunologie. 2. Auflage . Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg

Janssen RS, Cornblath DR., Epstein LG et al.: Nomenclature and research case definations for neurologic manifestation of human immunodefiancy virus typ 1 infection. Neurology 1991; 41: 773-785

Jirillo E, Covelli V, Maffioni AB, et al.: Endotoxins, Cytokines, and Neuroimmune Networks with Special Reference to HIV Infection. Annals New York Academy of sciences 1994, 741: 175-184

Kanki P, McLane M, King N, Letvin N, et al.: Serological identification and characterisation of a macaque T-lymphotropic retrovirus closely related to HTLV-III. Science 1985; 228: 199-201

Kim H, Kim S, Lee K, et al.: Neurologic Complications of Human Immunodeficiency Virus-type 1 Infection. J Korean Med Sci. 2003;18(2):149-57

Koka P, He K, Camerini D, et al.: The mapping of HIV-1 gp 160 epitopes required for interleukin-1 and tumor necrosis factor α production in glial cells. Journal of Neuroimmunology 1995; 57: 179-191

Koka P, He K, Zack JA, et al.: HIV-1 envelope proteins induces IL-1, TNF and NO in human glial cultures. *J. Exp. Med.* 1995; 182: 941-952

Kolson DL, Collman R, Hrin R et al.: Human immunodeficiency virus typ 1 Tat activity in human neuronal cells: uptake and trans-activation. *J. Gen. Virology.* 1994; 75:1927

Kure K, Lyman WD, Weidenheim KM et al.: Cellular localization of an HIV-1 antigen in subacute AIDS encephalitis using a improved double-labeling immunohistochemical method. *Am. J. Pathol.* 1990; 136: 1085

Lee SC, Dickson DW, Liu W, et al.: Induction of nitric oxide synthase activity in human astrocytes by interleukin-1 β and interferony. *J. Neuroimmunology* 1993; 46: 19-24

Leonhardt H.: *Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen.* Georg Thieme Verlag, 4. Auflage

Lipton SA.: Aids-related dementia and calcium homeostasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994; 747: 205-24

Lipton SA.: Neuropathogenesis of aquired immunodefiancy syndrome dementia. *Current opinion in Neurology* 1997; 10: 247-253

Lipton SA and Gendelmann HE, Dementia associated with the aquired immunodefiancy syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 934-940

Locanti M, Murphy PM.: Chemokines and chemokine receptors biology and clinical relevance in inflammation and AIDS. *Annu. Rev. Med.* 1999; 50: 425-40

Macke L, Masliah E and Campbell IL.: Transgenic models to assess the neuropathogenic potential of HIV 1 proteins and cytokines. *Curr. Top. Microbiol. Immunol* 1995; 202: 187-205

Masliah E, Ge N, Mucke L.: Pathogenesis of HIV-1 Associated Neurodegeneration. *Critical Reviews in Neurobiology* 1996; 10(1):57-67

Masliah E, Ge N, Achim CL, et al.: Cytokine receptor alteration during HIV infection in the human central nervous system. *Brain research* 1994; 663: 1-6

- Maggiwar S, Tong N, Ramirez S, et al.: HIV-1 Tat-mediated activation of glycogen synthase kinase-3 β contributes Tat-induced neurotoxicity. *J. of Neurochemistry* 1999; 73:578-586
- McManus CM, Brosnan C, Berman JW.: Cytokine induction of MIP-1 α and MIP-1 β in human fetal microglia. *The Journal of immunology* 1998; 160(3): 1499-55
- Merill JE, and Martinez-Maza O.: Cytokines in AIDS-associated neurons and immune system dysfunction. *Neurobiology of Cytokines Part B: Methods in Neuroscience* 1995; 243-266
- Meucci O, Fatalis A, Simen A, et al.: Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 14500
- Murphy S, Simmons ML, Aquillo L, et al.: Synthesis of nitric oxide in CNS glial cells. *Trends Neuroscience*. 1993; 46: 19-24
- New D, Maggiwar S, Epstein L, et al.: Hiv-1 Tat induces neuronal death via tumor necrosis factor and activation of non-N-methyl-D-aspartat receptors by a NFkappaB-independent mechanism. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 17852-17858
- Perrella O, Carrieri PB, Guarnaccia D, et al.: Cerebrospinal fluid in Aids demetia complex. *Journal of Neurology* 1992; 239: 387-388
- Persidsky Y, Buttini M, Limoges J, et al.: An analysis of HIV-1 associated inflammatory products in brain tissue of humans and SCID mice with HIV-1 encephalitis. *Journal of Neurovirology* 1997; 3: 401-416
- Persidsky Y, Stins M, Way D, et al.: A model for monocyte migration through the blood-brain barrier during HIV-1 encephalitis. *The Journal of Immunology* 1997; 158(7): 3499-510
- Poli G, Bressler A, Kinter E, et al.: Interleukin 6 induces human immunodefiancy virus expression in infected monocytic cells and in synergy with tumor necrosis factor α by transcriptional and posttranscriptional mechanism. *J. Exp. Med.* 1990; 172: 151-158
- Poluektova L, Moran T, Zelivvyanskaya M, et al.: The regulation of alpha chemokines during HIV-1 infections and leukocyte activation: relevance for HIV-1 associated dementia J. *Neuroimmu.* 2001; 120: 112-128

Pousset F.: Cytokines and the brain. *Eur. Cytokine Netw.* 1993; 4(1): 57-61

Power C, Kong PA, Crawford TO et al.: Cerebral white matter changes in acquired immunodeficiency syndrome dementia: alterations of the blood brain barrier. *Ann. Neurol.* 1993; 34: 339

Price RW, Brew B.: Infection of the Central Nervous System by Human Immunodeficiency Virus. *Annals New York Academy of Sciences* 1988; 540: 162-175

Price RW, Perry SW.: HIV, AIDS and the brain. Raven Press 1994;

Raber J, Sorg O, Horn TFW, et al.: Inflammatory cytokines: putative regulators of neuronal and neuro-endocrine function. *Brain Research Reviews* 1998; 26: 320-326

Ramirez S, Sanchez F, Dimitri C, et al.: Neurotrophins prevent HIV Tat induced neuronal apoptosis via a nuclear factor- κ B (NF- κ B) dependent mechanism. *Journal of Neurochemistry* 2001, 78: 874-889

Rienzo AM, Aloisi F, Santarcangelo AC, et al.: Virological and molecular parameters of HIV-1 infection of human embryonic astrocytes. *Arch. Virology* 1998; 143: 1599-1615

Sanders VJ, Pittman CA, White MG, et al.: Chemokines and receptors in HIV encephalitis. *AIDS* 1998; 12: 1021-1026

Sasseville VG, Newmann WA, Lackner AA, et al.: Elevated vascular cell adhesion molecule-1 in AIDS encephalitis induced by simian immunodeficiency virus. *Am. J. Pathol.* 1992; 141(5): 1021

Saavio T and Levi G.: Neurotoxicity of HIV coat protein gp 120, NMDA receptors, and protein kinase C: A study with rat cerebellar granule cell cultures. *J. Neurosci. Res.* 1993; 34: 265-272

Schöbitz B, De Kloet ER, Holsboer F.: Gene expression and function of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in the brain. *Progress in Neurobiology* 1994; 44: 397-432

Sharer LR, Baskin GB, Cho ES et al.: Comparison of simian immunodeficiency virus and human immunodeficiency virus encephalitides in the immature host. *Ann. Neurol.* 1988; 23: 108-12

Shi B, Raina J, Lorenzo A, et al.: Neuronal apoptosis induced by HIV-1 Tat protein and TNF- α : potentiation of neurotoxicity mediated by oxidative stress and implications for HIV-1 dementia. *J. Neurovirol.* 1998; 4: 281-90

Sopper S, Demuth M, Stahl-Hennig C, et al.: The effect of simian immunodeficiency virus infection in vitro and vivo on the cytokine production of isolated microglia and peripheral macrophages from rhesus monkeys. *Virology* 1996; 220: 320-29

Stennicke HR, Salesen GS. Caspases-controlling intracellular signals by protease zymogen activation. *Biochem Biophys Acta* 2000; 1477: 299-306

Stephens EB, Galbreath D, Liu ZQ, et al.: Significance of macrophage tropism in the macaque model of HIV disease. *Journal of Leukocyte Biology* 1997; 62: 12-19

Tyor WR, Glas JD, Griffin JW, et al.: Cytokine expression in the brain during acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Neurol.* 1992; 31: 349-360

UNAIDS/WHO: Aids-epidemic update Dec 2002

Vitkovic L.: Cytokines in the brain. Neuropathogenesis of HIV-1 infection: interactions between interleukin-1 and transforming growth factor- β 1. *Molecular Psychiatry* 1997; 2:112-112

Vitkovic L, Chatman J, Cunha A.: Distinct Expressions of Three Cytokines by IL-1-stimulated Astrocytes in Vitro and in Aids Brain. *Brain, Behaviour, and immunity* 1995; 9: 378-388

Wahl S, Allen JB, McCartney-Francis N, et al.: Macrophage- and astrocyte -derived transforming growth factor β as a mediator of central nervous system dysfunction in acquired immune deficiency syndrome. *J. Exp. Med.* 1991; 173: 981

Weber J.: The biology and epidemiology of HIV infections. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 1989; 23: Suppl. A 1-7

Weis S, Bise K, Llenos IC, Mehra P.: Neuropathological features of the brain in HIV-1 infections. in: Weis S, Hippius H (eds): HIV-1 Infection of the Central Nervous System. Clinical, Pathologic and Molecular Aspects. Hogrefe & Huber Publishers, 1992, 159-190

Wesselingh SL, Glass J, McArthur JC, et al.: Cytokine dysregulation in HIV-associated neurological disease. *Advances in Neuroimmunology* 1994; 4: 199-206

Yang J, Liu X, Bhalla K, et al.: Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997; 275: 1129-1132

Yoshioka M, Bradley WG, Shapshak P, et al.: Role of immune activation and cytokine expression in HIV-1 associated neurological diseases. *Advances in Neuroimmunology* 1995; 5: 335-358

Zidovetzki R, Wang JL, Chen P, et al.: Human immunodeficiency virus tat protein induces interleukin 6 mRNA expression in human brain endothelial cells via protein kinase-C and cAMP-dependent protein kinase pathway. *Aids Research and Human Retroviruses* 1998; 14(10): 825-833

Zhoa ML, Kim MO, Morgello S, Lee SC: Expression of inducible nitric oxide synthase, interleukin-1 and caspase-1 in HIV-1 encephalitis. *Journal Neuroimmunology* 2001; 115(1-2): 182-91

7. Anhang

Klinische Daten

- 1 38 J, Aids, z.n. zerebraler Toxoplasmose, Herde intracerebral, *Psychosyndrom, Amnesie , motorische Störungen* , HG 1430g
- 2 34 J, Aids, v.a. Toxoplasmose, *Tetraplegie, dementielles Syndrom*, HG 1210g
- 3 32 J, Aids, Pneumocystitis carinii Pneumonie, ZNS klinisch oB., HG 1270g
- 4 44 J, *Konzentrations- und Koordinationsstörung*, TU Pneumonie, HG 1290g
- 5 43 J, P.c. Pneumonie, atyp. Mycobakteriose, Panzytopenie bei V.a. malignem Lymphom, HG 1320g
- 6 34 J, Aids, *zuletzt somnolent, Nackensteife, Verlangsamung*, HG 1230g
- 7 36 J, seit 2 J. HIV positiv, *Apathie, extrapyramidale Störungen*, HG 1370g
- 8 33 J, seit 2 J HIV positiv, Pc. Pneumonie, *zunehmende Verwirrtheit*, HG 1400g
- 9 30 J, HIV positiv, Tot in Wohnung aufgefunden, HG 1430g
- 10 33 J, seit 3 J HIV positiv, Kaposi Sarkom, HG 1250g
- 11 30 J, seit 1 J HIV positiv, *cerebrale Toxoplasmose*, HG 1490g
- 12 42 J, seit 5 J HIV+, Z.n. Candidaösophagitis, Kaposi Sarkom, Kaposi-Befall beider Lungenhili, HG 1340g
- 13 37 J, Aids, Lymphom bei Aids, Toxoplasmose, HG 1460g
- 14 35 J, seit 3 J Hiv positiv, Kaaposi Sarkom der Haut, Pc. Pneumonie, HG 1295g
- 15 56 J, Hiv positiv, *cerebrale Toxoplasmose*, Pneumonie, HG 1300g
- 16 30 J, Aids, Pc. Pneumonie, HG 1610g
- 17 48 J, HIV positiv, Multiple Kaposi Sarkome, Sepsis, Hg 1300g
- 18 50 J, HIV positiv, Pc. Pneumonie, Sepsis, Hg 1430g
- 19 43 J, seit 3 J, HIV positiv, Kaposi Sarkom mit Lungenbefall, HG 1580g
- 20 26 J, HIV positiv, Schädel-Hirn-Trauma
- 21 33 J, Aids, Suizid, Hg 1530g
- 22 30 J, HIV positiv , Tot in Wohnung aufgefunden, HG 1650g
- 23 25 J, HIVpositiv, Suizid,
- 24 37 J, Aids, Hämophilie A, *Hiv-Enzephalitis(schlaffe Hemiparese li, zent. Facialispause)* Pc. Pneumonie,
- 25 50 J, HIV positiv, Toxoplasmose, Suizid,
- 26 42 J, seit 9 J HIV positiv, *Wesensveränderung*, Kaposi Sarkom der Haut, Herpes Infektion, Wastingsyndrom, HG 1380g
- 27 53 J, HIV positiv, Mykobakteriose, *Hirnatrophie*, CMV, Toxoplasmose, *Va. Zerebrale Regulationsstörung bei Dysphagie*, HG 1390g

Kontrollgruppe

- 28 55 J, Z.n Herztransplantation, Va. Abstoßungsreaktion, HG 1150g
- 29 51 J, Epipharynx Ca, Tumorkachexie, HG 1340g
- 30 52 J, Mamma Ca, multiple Lungenmetastasen, HG 1300g
- 31 45 J, Chronische myeloische Leukämie HG 1490g
- 32 60 J, Bronchial Ca, Pneumonie HG 1250g
- 33 39 J, Mamma Ca, Knochenmetastasen, HG 1410g
- 34 35 J, Plasmozytom, Knochenfiliae, Cardiomyopathie, HG 1220g
- 35 44 J, TBC, rez, Pankreatididen, sept. Schock HG 1350
- 36 48 J, Ovarial Ca. HG 1290g
- 37 51 J, bek. Hypertonie, gedeckt rupturiertes Aortendissektion, HG 1470g
- 38 51 J, Asthmaanfall, Va. Dilat. Kardiomyopathie, HG 1370g

Tabelle 3: Statistische Auswertung

INTERLEUKIN-1 β

	normal		AIDS		p
	mean	sd	mean	sd	
Frontal-GM-Neuron	.00	.000	.33	.482	.03
Frontal-GM1-Astroglia	.18	.405	.67	.565	.02
Frontal-GM26-Astroglia	.00	.000	.04	.204	.49
Frontal-WM-Astroglia	.00	.000	.63	1.056	.03
Frontal-WM-Vessels	.00	.000	.17	.637	.33
Fronto-orbital-GM-Neuron	.00	.000	.08	.277	.38
Fronto-orbital-GM1-Astroglia	.10	.316	1.00	.000	.000
Fronto-orbital-GM26-Astroglia	.00	.000	.00	.000	1.00
Fronto-orbital-WM-Astroglia	.00	.000	.23	.599	.20
Fronto-orbital-WM-Vessels	.00	.000	.00	.000	1.00
Parietal-GM-Neuron	.09	.302	.36	.581	.15
Parietal-GM-1Astroglia	.45	.522	1.05	.653	.02
Parietal-GM-26Astroglia	.00	.000	.27	.456	.05
Parietal-WM-Astroglia	.00	.000	.59	.734	.009
Parietal-WM-Vessel	.00	.000	.18	.664	.31
Temporal-GM-Neuron	.00	.000	.13	.344	.29
Temporal-GM-1Astroglia	.00	.000	.91	.515	.000
Temporal-GM-26Astroglia	.00	.000	.04	.209	.55
Temporal-WM-Astroglia	.00	.000	.61	.783	.03
Temporal-WM-Vessel	.00	.000	.09	.288	.39
Occipital-GM-Neuron	.00	.000	.25	.442	.10
Occipital-GM-1Astroglia	.00	.000	.83	.381	.000
Occipital-GM-26Astroglia	.00	.000	.08	.282	.37
Occipital-WM-Astroglia	.00	.000	.58	.776	.02
Occipital-WM-Vessel	.00	.000	.25	.676	.27
Cingulate-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Cingulate-Astroglia	.00	.000	.79	.802	.003
Cingulate-Vessel	.00	.000	.00	.000	1.00

INTERLEUKIN-1 β

	normal		AIDS		p
	mean	sd	mean	sd	
Caudate-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Caudate-Astroglia	.00	.000	.00	.000	1.00
Caudate-Vessel	.00	.000	.00	.000	1.00
Putamen-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Putamen-Astroglia	.00	.000	.15	.376	.20
Putamen-Vessel	.00	.000	.00	.000	1.00
Pallidus-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Pallidus-Astroglia	.00	.000	.29	.469	.07
Pallidus-Vessel	.00	.000	.07	.267	.39
Thalamus-Neuron	.00	.000	.29	.470	.05
Thalamus-Astroglia	.00	.000	.29	.470	.05
Thalamus-Vessel	.00	.000	.00	.000	1.00
Mesencephalon-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Mesencephalon-Astroglia	.00	.000	.87	.626	.01
Mesencephalon-Vessel	.00	.000	.09	.288	.54
Pons-Neuron	.00	.000	.04	.204	.49
Pons-Astroglia	.00	.000	1.08	.717	.000
Pons-Vessel	.09	.302	.04	.204	.56
Medulla-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Medulla-Astroglia	.00	.000	.88	.666	.000
Medulla-Vessel	.00	.000	.08	.277	.38
Olivary nc-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Olivary nc-Astroglia	.00	.000	.60	.707	.01
Olivary nc-Vessel	.00	.000	.00	.000	1.00
Cerebellum-Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Cerebellum-Astroglia	.00	.000	.90	.700	.000
Cerebellum-Vessel	.09	.302	.14	.359	.67
Dentate nc- Neuron	.00	.000	.00	.000	1.00
Dentate nc-Astroglia	.00	.000	.56	.512	.003
Dentate nc-Vessel	.00	.000	.06	.250	.40

8. Danksagung

Mein Dank gilt

Herrn Prof. emeritus Dr. med P. Mehrain, Institut für Neuropathologie, LMU München, für die Betreuung und der Unterstützung während der Untersuchung und der kritischen Durchsicht der Dissertation, sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Institutsgeräte.

Herrn Prof. Dr. med. Weis, Direktor der Neuropathologie, Stanley Medical Research Institute, Washington, für die Bereitstellung des Themas dieser Dissertation, für die gute Betreuung und Unterstützung vor Ort und auch von den Vereinigten Staaten und für die zügige Durchsicht und Korrektur der Dissertation.

Meinen lieben Eltern Siglinde und Habib Tafazzoli, dass Sie mir mein Studium der Humanmedizin und diese Doktorarbeit ermöglichten und mir stets in allen Lebenslagen unterstützten und mir zur Seite standen. Und meinem Bruder, Anusch Tafazzoli für die Unterstützung bei dieser Arbeit.

Frau Henn für die Anleitung bei den immunhistochemischen Färbungen und der Unterstützung im Labor.

Meiner Mutter, Herrn Dr. M. Weber und Herrn Prof. Dr. Kühnel für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Strogoff und meinen Freunden für die notwendige Ablenkung.

LEBENS LAUF

Name	Tafazzoli Lari
Vorname	Kianusch
Geburtsdatum/-ort	9. März 1972 in Esfahan/Iran
Staatsangehörigkeit	Deutsch und Iranisch
Konfession	Katholisch
Eltern	Habib Tafazzoli-Lari (Dipl. Chemiker) Siglinde Tafazzoli-Lari (Grundschullehrerin)

Schule

September 1978- Juli 1980	Grundschule in Esfahan und Teheran
September 1980- Juli 1982	Grundschule in München
September 1982 - Juli 1991	Gymnasium Pullach-Marienstern in München
Juli 1991	Abitur Gymnasium Pullach

Zivildienst

August 1991 - Oktober 1992	Zivildienst im Operationsbereich der HNO-Klinik Arabellaklinik (Prof. Dr. Behbehani)
----------------------------	--

Studium

November 1992 - Mai 1999	Ludwig Maximilians- Universität München
--------------------------	---

Praktika

April - August 1998	I. Abschnitt des Praktischen Jahres: Innere Medizin KKH Starnberg Prof. Dr. Lythin
Juli - November 1998	II. Abschnitt des Praktischen Jahres: Chirurgische Klinik, Städtisches KH Harlaching Prof. Dr. Horn Chirurgische Abteilung St. Anne´s Hospital Liuli Lehrkrankenhaus Muhimbili University/Tanzania
November 1998 - März 1999	III. Abschnitt des Praktischen Jahres: Dr. von Haunersches Kinderspital Universitätsklinikum München

Beruf

Januar 2000 - August 2000	Arzt im Praktikum Chirurgische Abteilung KH Agatharied PD Dr. Schardey
September 2000 – Juni 2001	Klinik für Chirurgie der Med. Universität Lübeck Prof. Dr. H.-P. Bruch
Seit Juli 2001	Assistenzarzt Klinik für Kinderchirurgie Medizinische Universität Lübeck

Fachkunde

Oktober 2002	Fachkunde Rettungsdienst
--------------	--------------------------